

## **Proposition de stage Microbiologie/Biochimie/Biologie Végétale Février/Juillet 2020**

**Public ciblé :** Master 2 en Microbiologie, Biologie Végétale, Biochimie

**Titre du sujet :** Etude des mécanismes d'adaptation des plantes hyper-accumulatrices de métaux néo-calédoniennes : focus sur les adaptations racinaires et rhizosphériques.

**Mots clés :** Hyper-accumulateurs, Microorganismes, Métaux, racines, Phytostabilisation

**Laboratoires d'accueil et lieux de stage :** Institut des sciences exactes et appliquées (ISEA), EA 7484. Université de la Nouvelle-Calédonie.

**Profil de formation initiale souhaitée pour le candidat :** Master 2 avec de bonnes connaissances en Physiologie et biologie végétale, Biochimie et Microbiologie.

**Responsables du stage :** BURTET-SARRAMEGNA Valérie (MCF) ;

**Encadrantes :** AMIR Hamid (Pr ; ISEA-UNC) ; CAVALOC Yvon (MCF), ISEA-UNC, GUENTAS Linda (MCF) ISEA-UNC

**Equipe d'accueil :** Biologie Végétale terrestre, ISEA, UNC

**Organisme de rattachement :** Université de la Nouvelle-Calédonie

### **Descriptif du sujet de stage**

#### Contexte :

La Nouvelle-Calédonie est caractérisée par la présence sur environ 40% de sa surface de sols ultramafiques (riches en métaux lourds, mais pauvres en éléments nutritifs essentiels). Ces sols, *a priori* toxiques et/ou peu propices à la vie, ont favorisé l'émergence d'une flore fortement endémique, car adaptée de manière spécifique à la forte pression de sélection qu'ils représentent ([1], [2]). Les adaptations des végétaux à ces sols peuvent être répertoriées selon trois types de comportement principaux développées vis-à-vis des métaux: la résistance (le végétal exclut les métaux qui ne rentrent pas dans ses tissus, ni racinaires, ni foliaires), la tolérance (la concentration en métaux dans les tissus est directement proportionnelle à celle rencontrée dans les sols jusqu'à une certaine concentration létale) ou l'hyper-accumulation (la plante stocke dans ses parties aériennes des concentrations extrêmement élevées de métal). Par ailleurs, ces sols renferment une grande diversité de micro-organismes symbiotiques, également adaptés à cette contrainte serpentine [3].

L'étude des adaptations développées par ces plantes et les microorganismes associés présente un intérêt majeur, notamment en raison de leur forte potentialité à être utilisées en phytoextraction, phytoremédiation, revégétalisation ou encore écocatalyse. Notre laboratoire a étudié plusieurs de ces adaptations depuis de nombreuses années, en développant des approches intégrées et pluridisciplinaires. Notre objectif : comprendre les mécanismes moléculaires d'adaptations de ces végétaux et des micro-organismes symbiotiques associés à la contrainte serpentine ([4], [5], [6], [7], [8]).

Dans le cadre de précédents projets de recherche (financés notamment par l'ANR : programmes « EVOMETONICKS » et « ADASPIR »), nous avons montré que les plantes néo-calédoniennes hyper-accumulatrices de nickel avaient développé un comportement adaptatif similaire à celui d'autres plantes hyper-accumulatrices de nickel d'autres régions du monde (notamment européennes et cubaines). Ce comportement commun se caractérise notamment par une sur-expression au niveau foliaire d'un transporteur de Fer, le transporteur IREG (Garcia de la Torres et al., soumis). Les résultats du colloque de restitution des travaux de l'ANR Evometonicks (Octobre 2016, UNC), nous ont ainsi conduit à conclure que les mécanismes les plus importants d'adaptation des plantes au nickel étaient probablement localisés au niveau des racines et de la rhizosphère des plantes poussant sur sols ultramafiques. Par ailleurs, des travaux préliminaires menés sur les espèces *Phyllanthus favierii* (hyper-accumulatrice) et *Phyllanthus luciliae* (résistante) ainsi que sur *Psychotria gabriellae* (hyper-accumulatrice) et *Psychotria semperflorens* (tolérante), ont montré que dans ces deux couples d'espèces poussant sur sol ultramafique (mais dont l'une seulement hyper-accumule le nickel), des cortèges différents de micro-organismes associés sont présents (Cavaloc Y, communication personnelle et [4]). Par ailleurs ces micro-organismes jouent des rôles adaptatifs majeurs dans les adaptations de ces plantes à la contrainte serpentinière. Ainsi, aujourd'hui, nous sommes convaincus (et avons montré pour certaines d'entre elles dans le cadre d'un travail préliminaire) que ces plantes sont fortement « aidées » au niveau racinaire et rhizosphérique par des micro-organismes symbiotiques associés originaux, ayant eux-mêmes développé des mécanismes adaptatifs aux métaux, leur conférant des propriétés uniques et valorisables. L'objectif du présent projet est d'identifier puis de caractériser, par comparaison inter-espèces et inter-sites, des micro-organismes symbiotiques (bactéries et/ou champignons) indispensables au développement des espèces sur sols serpentinières. Pour cela, nous proposons un projet pluridisciplinaire et intégré avec les approches décrites ci-dessous.

#### Objectif du stage :

Ces objectifs sont susceptibles d'évoluer en fonction du profil du candidat.

L'objectif du sujet de stage est d'étudier :

- **1/ La composition des feuilles, des racines et des sols autour des espèces étudiées.**  
Les sols sur lesquels les espèces récoltées sont prélevées seront caractérisés de manière complète : quantité de métaux présents, pH. Les données pédologiques sont essentielles à la caractérisation des différences de comportements des plantes et à l'analyse des résultats ultérieurs. Egalement, les quantités de métaux lourds présents dans les différents compartiments de l'espèce récoltée seront déterminés (feuilles et racines).
- **2/ Les cortèges de microorganismes symbiotiques associés.**  
Des isollements des micro-organismes seront effectués. Pour cela, le sol autour des racines de ces plantes seront prélevés en milieu naturel et des isollements bactériens seront réalisés. Par ailleurs, des racines de ces espèces seront également prélevées et des espèces bactériennes et de champignons mychoriziens à arbuscules seront recherchés et caractérisés. Pour les bactéries, des isollements peuvent être entrepris, pour toutes celles qui ne seraient pas des symbiotes obligatoires(sols). Pour les champignons mychoriziens, des isollements risquent d'être longs et difficiles ; ces symbiotes seront donc dans un premier étudiés par métagénomique.

Cette étape permettra de mettre en évidence :

- les différences ou similitudes entre les cortèges bactériens du sol et des racines des plantes étudiées. Elle permettra ainsi de déterminer si effectivement des bactéries spécifiques sont associées à la résistance, à la tolérance ou à l'hyperaccumulation des métaux.
- les différences ou similitudes entre les cortèges de champignons mychoriziens des plantes étudiées. Elle permettra de déterminer si effectivement des champignons mychoriziens spécifiques sont associés à la résistance, à la tolérance ou à l'hyperaccumulation des métaux.

Cette étape permettra de déterminer si chaque plante a des symbiotes propres (ou chaque type de sol) et/ou si des spécificités existent dans les cortèges symbiotiques mis en évidence.

### - 3/ Caractérisation des espèces isolées.

Les espèces de bactéries et de champignons mises en évidence seront cultivées selon des modalités propres et leur résistance aux métaux sera testée. Leur capacité à conférer la résistance aux métaux, à produire des molécules impliquées dans la tolérance aux métaux sera mesurée par :

- Biochimie (HPLC-MS): recherche de ligands impliqués dans la chélation du nickel dans ces bactéries et/ou champignons (ou racines de plantes inoculées avec ces champignons) ;
- Biochimie : capacité des bactéries les plus intéressantes à produire des exopolysaccharides ;
- Biologie moléculaire : des techniques de biologie moléculaire seront utilisées dans ce projet pour d'une part effectuer toutes les caractérisations d'espèces par des approches de type méta-génomique et d'autre part pour rechercher des transporteurs de métaux les plantes, bactéries et/ou champignons (ou racines de plantes inoculées avec ces champignons) ;
- Microscopie électronique : caractérisation de la localisation racinaire de l'hyperaccumulation métallique.

Ce stage servira de préliminaire à un nouveau projet et sera la premier à entreprendre une étude systématique et complète des micro-organismes impliqués dans les adaptations aux métaux lourds.

Ce stage est ainsi un stage pluridisciplinaire qui impliquera du terrain (échantillonnage), des expériences en conditions contrôlées (serre). Il formera le stagiaire choisi à de nombreuses techniques telles que préparation des échantillons, dosages des métaux par ICP, extraction d'ARN et d'ADN, Biologie moléculaire (PCR, RT-qPCR).

**Date et durée:** 5-6 mois

**Contacts** : hamid.amir@unc.nc ; [valerie.sarramegna@unc.nc](mailto:valerie.sarramegna@unc.nc); linda.guentas@unc.nc; yvon.cavaloc@unc.nc

**Rémunération** : Gratification de stage.

**NB : Le billet d'avion est à la charge de l'étudiant**

### **Référence Bibliographique :**

- [1] L. L'Huillier and T. Jaffre, "L'exploitation des minerais de Nickel en Nouvelle-Calédonie," in *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration*, IAC., vol. 5, no. 2, L. L'huillier, T. Jaffré, and A. Wulff, Eds. Nouméa, 2010, pp. 129–145.
- [2] T. Jaffré and L. L'Huillier, "La végétation des roches ultramafiques ou terrains miniers," in *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration*, IAC., L. L'huillier, T. Jaffré, and A. Wulff, Eds. Nouméa, 2010, pp. 45–103.
- [3] H. Amir and M. Ducouso, "Les bactéries et les champignons du sol su roches ultramafiques," in *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration.*, IAC., L. L'huillier, T. Jaffré, and A. Wulff, Eds. Nouméa, 2010, pp. 129–145.
- [4] Arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils improve tolerance to nickel of endemic plant species, Hamid Amir, Alexandre Lagrange, Nadine Hassaine and Yvon Cavaloc; *Mycorrhiza* (2013) 23:585–595; DOI 10.1007/s00572-013-0499-6
- [5] Amir H, Jourand P, Cavaloc Y & Ducouso M (2014) Role of Mycorrhizal fungi in the alleviation of heavy metal toxicity in plants. In *Mycorrhizal Fungi: Use in Sustainable Agriculture and Land Restoration* pp 241–258.
- [6] Crossay T, Cila A, Cavaloc Y, Amir H et Redecker D (2018) Four new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) associated with endemic plants from ultramafic soils of New Caledonia. *Mycological Progress*, 17 (6), 729-744
- [7] Crossay T, Antheaume C, Redecker D, Bon L, Chedri N, Richert C, Guentas L, Cavaloc Y & Amir H (2017) New method for the identification of arbuscular mycorrhizal fungi by proteomic-based biotyping of spores using MALDI-TOF-MS. *Sci. Rep.*, 7, 1–16.
- [8] Bordez L, Jourand P, Ducouso M, Carriconde F, Cavaloc Y, Santini S, Claverie JM, Wantiez L, Leveau A & Amir H (2016) Distribution patterns of microbial communities in ultramafic landscape: a metagenetic

approach highlights the strong relationships between diversity and environmental traits. *Mol. Ecol.*, 25, 2258–2272

- [9] Guentas L, Gensous S, Cavaloc Y, Ducouso M, Amir H, de Ledenon BDG, Moulin L & Jourand P (2016) Burkholderia novacaledonica sp. nov. and B. ultramafica sp. nov. isolated from roots of Costularia spp. pioneer plants of ultramafic soils in New Caledonia. *Syst. Appl. Microbiol.*, 39, 151–159.