

P1. « Myco-fluidique » pour la remédiation des sols: étude microfluidique de la désorption et de l'incorporation des HAPs par un champignon filamenteux.

Claire Baranger 1*, Xue Sun 1, Isabelle Pezron 1, Anne Le Goff 2*, Antoine Fayeulle 1*

1 : Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable (TIMR - EA 4297), Université de Technologie de Compiègne. Rue du docteur Schweitzer CS 60319,60203 Compiègne Cedex - France

2 : Biomécanique et Bioingénierie, Université de Technologie de Compiègne, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR7338, Département Génie Biologique UMR6600 Biomécanique Biomédical - BP 20529 60205 Compiègne cedex - France

*: Auteur correspondant

La bioremédiation apparaît comme une solution peu coûteuse pour la réhabilitation de sols contaminés par des polluants organiques persistants. Parmi ces polluants, les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) de haute masse moléculaire sont particulièrement résistants à la dégradation et peu biodisponibles. De par leur capacité à métaboliser des molécules complexes, certains champignons filamenteux telluriques, dont *Talaromyces helicus*, ont montré des résultats prometteurs pour la biodégradation des HAPs. Cependant les mécanismes d'incorporation de ces polluants demeurent mal connus. L'accès aux molécules hydrophobes adsorbées à la phase solide du sol pourrait principalement impliquer deux facteurs: d'une part la capacité du champignon à coloniser le substrat, et d'autre part la sécrétion de molécules tensioactives favorisant le passage en phase aqueuse des composés organiques. En ce sens, on se propose ici de mettre au point un modèle microfluidique du système sol/polluant/champignon afin d'étudier ces mécanismes in vitro, dans une perspective d'optimisation des conditions de remédiation en sol réel.

P2. Impact de la température sur les Thaumarchaeota des sols: suivi du profil lipidique et de la diversité en cultures enrichies et en mésocosmes

Sylvie Collin 1, Arnaud Huguet 1

1 : Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, CNRS : UMR7138, 7 Quai Saint-Bernard 75252 Paris Cedex 05 - France

Au cours de ce projet, nous chercherons à mettre en évidence l'effet de la température sur les lipides membranaires (tetraéthers de glycérol) des *Ta* des sols. Pour ce faire, nous utiliserons une triple approche.

1) Nous établirons la variation sur deux années du profil lipidique complet d'une souche pure de *Ta* en culture, *Nitrososphaera viennensis*, à trois températures différentes: 30, 37 et 42 °C. Ceci constitue un système simplifié puissant dans lequel la seule variable est la température, à génome et conditions nutritives identiques. Il permet d'évaluer en détail l'effet de la température sur la synthèse lipidique d'une *Ta* du sol, ce qui n'a jamais été réalisé jusqu'à présent.

2) A partir d'échantillons de sols contrastés (sols organo-minéraux et compost), jusque-là inexplorés, nous établirons des cultures liquides enrichies, contenant un mélange de plusieurs espèces de *Ta*, en utilisant un milieu très sélectif des AOA. Les cultures seront effectuées en parallèle à des températures s'échelonnant entre 30 et 65 °C, en fonction du sol. Un suivi régulier de la diversité lipidique et génétique associée sera réalisé sur ces enrichissements pendant deux ans. Notre objectif est de pouvoir corrélérer l'enrichissement réalisé à une température donnée à un profil lipidique et de comparer les données à celles obtenues en 1). Chaque enrichissement pourra par ailleurs permettre d'isoler de nouvelles souches.

3) Enfin, nous suivrons l'évolution de la composition en tetraéthers dans deux échantillons (compost et un sol organo-minéral) incubés en mésocosme, aux mêmes températures que celles utilisées pour les cultures d'enrichissement. Dans ce cas les microorganismes ne seront pas en culture hors sol mais resteront dans leur environnement initial. Ces incubations, réalisées pendant 12 mois, nous permettront de suivre l'adaptation lipidique globale de la population archéenne en fonction de la température, à partir du même environnement initial.

Cette approche originale nous permettra, grâce aux résultats obtenus, de préciser l'impact de la température sur la diversité lipidique et phylogénétique des *Ta* des sols et, *in fine*, de fournir des données sur la corrélation température/degré de cyclisation permettant d'évaluer l'applicabilité des tetraéthers comme marqueurs de température en milieu continental.

P3. Dissémination de l'Antibiorésistance dans les Hydrosystèmes de Surface: un observatoire pour l'étude de l'impact sur le résistome environnemental

Fabienne Petit 1, 2

1 : CNRS UMR M2C (Morphodynamique Continentale et Cotière), CNRS : UMR6143, Université Normandie Rouen - France

2 : UMR CNRS 7619 METIS, CNRS : UMR7619, EPHE, Sorbonne Universités, UPMC, CNRS, UPMC - France

Un des enjeux majeurs des prochaines décennies sera l'évaluation de la vulnérabilité et la résilience des eaux à la contamination par des bactéries d'origine fécale qui, dans les pays industrialisés, s'accompagne d'une contamination par des molécules médicamenteuses prescrites en médecine humaine ou vétérinaire (Millenium Ecosystem Assessment, <http://milleniumassessment.org>, OMS 2015). Parmi ces molécules, les antibiotiques ont un caractère unique: contaminants émergents des environnements aquatiques, leur usage intensif en médecine humaine et animale est aussi responsable de l'accroissement de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Un des défis des scientifiques sera donc d'évaluer la contamination et le devenir des bactéries antibiorésistantes en fonction des prescriptions/consommations en antibiotiques sur les bassins versants, en identifiant les sources et zones où ces bactéries peuvent se maintenir ou disparaître (vasières biofilms). Les résultats des études menées dans le cadre de la zone atelier Seine, sur l'occurrence et le devenir des bactéries antibiorésistantes, et les supports génétiques correspondants, à différentes échelles de temps (archives sédimentaires) ou d'espace (deux continuum (hôpital rivière/ agricoles) illustreront l'intérêt des approches multidisciplinaires pour l'élaboration d'outil d'aide à la décision, conformément aux propositions d'action du rapport Carlet. Un intérêt plus particulier est porté sur l'occurrence des intégrons cliniques, considérés comme des contaminants xénogénétiques. Des projets d'observatoires de l'antibiorésistance, intégrés au sein des services nationaux d'observation (SNO), des Zones ateliers du CNRS, ou complémentaires à ceux existants (ex: sipibel) sont actuellement à l'étude.

1 Carlet J., LeCoz P.2016, http://social-sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_antibiotiques.pdf

2: « Quelles sont les solutions efficaces pour lutter contre la contamination des milieux naturels en antibiotiques, résidus et bactéries résistantes? (Fondation pour la recherche sur la biodiversité, Ministère de l'environnement, de l'énergie et de la mer).

Zone atelier Seine Projet GIPSA DYNAPAT/ FLASH <http://www.seine-aval.fr>

P4. Probiotiques et parasitoses intestinales: rôle des Bile-salt-hydrolases de lactobacilles dans le contrôle de la Giardiose

Isabelle Florent **1**, Thibault Allain **1,2,3,**, Soraya Chaouch **1**, Myriam Thomas **4**, Marie-Agnès Travers **1**, Cissé Sow **1**, Isabelle Vallée **4**, André Buret **3**, Philippe Langella **2**, Luis Bermudez-Humaran **2**, Bruno Polack **5**, Philippe Grellier **1**

1 : UMR7245 CNRS, Sorbonne-Universités, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France (MCAM).

2 : Micalis Institute, Institut National de la Recherche Agronomique, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy en Josas, France

3 : Department of Biological Sciences, University of Calgary, Calgary, AB T2N 1N4, Canada

4 : Anses, Laboratoire de Santé Animale, UMR BIPAR, Anses, ENVA, INRA, F-94701 Maisons-Alfort, France

5 : Université Paris-Est, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR BIPAR, ENVA, Anses, INRA, F-94704, Maisons-Alfort, France

La Giardiose, causée par le protozoaire parasite *Giardia duodenalis* (syn. *G. lamblia*, *G. intestinalis*) est une pathologie intestinale dont la distribution est mondiale. La forme trophozoïte du parasite se développe dans les intestins des hôtes où elle cohabite avec le microbiote intestinal. Des bactéries probiotiques à l'exemple de *Lactobacillus johnsonii* LA1 (LjLA1) peuvent jouer un rôle protecteur contre *Giardia in vitro et in vivo* (Travers et al., 2011). Au laboratoire, nous avons décrypté un mécanisme moléculaire de l'action anti-*Giardia* présente dans les surnageants de LjLA1, par une combinaison d'approches biologiques et biochimiques: il s'agit d'une activité enzymatique de type bile-salt-hydrolase (BSH), dont l'action sur le parasite est indirecte et dépendante de la bile (Travers et al., 2016). Afin de valider le rôle des BSH de LjLA1 dans l'activité anti-*Giardia*, nous avons cloné et exprimé chacun des trois gènes *bsh* codés dans son génome (*bsh12*, *bsh47* et *bsh56*) pour étudier leurs propriétés enzymatiques et biologiques. Les tests ont pour le moment indiqué que: 1) les spécificités de substrat de BSH47 et de BSH56 sont distinctes; 2) les deux enzymes recombinantes sont capables de bloquer la prolifération des parasites *in vitro*; 3) BSH47 est également active *in vivo* dans un modèle souriceau nouveau-né de la giardiose. En parallèle, nous avons recherché si d'autres lactobacilles pouvaient également contrôler la croissance de *G. duodenalis in vitro et in vivo*. Le criblage d'une collection de ~30 souches de lactobacilles provenant d'environnements très variés a permis d'établir qu'elles ne sont pas toutes actives sur *Giardia* mais qu'il est possible de corrélérer positivement leurs activités anti-*Giardia* et leurs activités BSH. En outre, une nouvelle souche a été identifiée, *L. gasseri* CNCM I-488, dont les activités *in vitro* sont similaires à celles de LjLA1 et les activités *in vivo* sont supérieures, avec une réduction de la charge parasitaire dans l'intestin grêle de plus de 90%. Ces résultats ouvrent des perspectives tant fondamentales qu'appliquées dans le traitement de cette parasitose intestinale négligée, basées sur l'utilisation de probiotiques en lien avec leurs activités bile salt hydrolases. Ce travail est le fruit d'une collaboration de trois laboratoires d'Ile de France, récemment étendue à un laboratoire canadien.

Travers MA, Florent I, Kohl L, Grellier P. Probiotics for the control of parasites: an overview. *J Parasitol Res.* (2011); 2011:610769.

Travers MA, Sow C, Zirah S, Deregnaucourt C, Chaouch S, Queiroz RM, Charneau S, Allain T, Florent I, Grellier P. 2016. Deconjugated bile salts produced by extracellular bile-salt hydrolase-like activities from the probiotic *Lactobacillus johnsonii* La1 inhibit *Giardia duodenalis in vitro* growth, *Frontiers in Microbiology*; 7:1453.

Thibault Allain : Thèse ED ABIES AgroParisTech, soutenue le 22 mars 2016; intitulée « Rôle des Bile Salt Hydrolases (BSH) des lactobacilles dans le contrôle de la Giardiose ». Co-directeurs de Thèse : I. Florent / L. Bermudez.

P5. Etudes de virus de rivières par interférométrie

Céline Roose-Amsaleg **1**, Claude Boccara **2**, Yasmina Fedala **2**, Josette Garnier, Catherine Vénien-Bryan **3**, Laurence Millot-Cornette, Boccara Martine **4**

1 : Milieux Environnementaux, Transferts et Interactions dans les hydrosystèmes et les Sols (METIS). Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Ecole Pratique des Hautes Etudes, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR7619, UPMC, Case courrier 105, 4 place Jussieu, 75005 Paris - France

2 : Institut Langevin - Ondes et Images - ESPCI ParisTech, CNRS UMR 7587, INSERM U979 (Institut Langevin - Ondes et Images), ESPCI ParisTech, Inserm, Université Paris Diderot - Paris 7, CNRS : UMR7587, 1 rue Jussieu, 75238 Paris Cedex 05, France - France

3 : Institut de minéralogie, de physique des matériaux et de cosmochimie (IMPMC), Museum National d'Histoire Naturelle, Université Pierre et Marie Curie - Paris 6: UM120, Institut de recherche pour le développement : UR206, Centre National de la Recherche Scientifique: UMR7590, Tour 23 - Barre 22-23 - 4e étage - BC 115 4 place Jussieu 75252 PARIS - France

4 : Institut de biologie de l'école normale supérieure (ENS), École normale supérieure - Paris, Inserm, CNRS : UMR8197, 45, rue d'Ulm F-75230 Paris cedex 05 - France

Un nouveau microscope optique utilisant l'interférométrie (1) permet de détecter et caractériser rapidement des nanoparticules dans tout environnement aquatique. Nous l'avons utilisé pour la première fois en rivière (2). Ici nous présentons quelques applications de cette méthode à des échantillons prélevés dans le bassin de la Seine. Cette méthode différenciant les virus des autres particules telles que les vésicules membranaires a été appliquée au suivi temporel du virioplancton de la Marne. Les virus qui représentaient entre 42 et 72 % des particules, montraient une augmentation de leurs effectifs durant le mois d'observation ($2,1 \cdot 10^7$ - $2,1 \cdot 10^8$ mL⁻¹). Parallèlement, une augmentation de la biomasse algale et de la diversité du plancton bactérien a été notée. L'interférométrie délivre également des prédictions de taille des particules qui se révélèrent concordantes avec celles de microscopie électronique à savoir une dominance, dans les prélèvements, de virus de grande taille (≥ 60 nm).

Par ailleurs, cette méthode facile à mettre en œuvre est en bonne adéquation avec des méthodes "plus lourdes" à mettre en œuvre comme le séquençage ou la microscopie électronique.

P6. Conception, synthèse et caractérisation d'une bioanode pour bio-pile à combustible.

Jérémie-Luc Sanchez **1**, Christel Laberty-Robert **1**

1 : Laboratoire de Chimie de la Matière Condensée de Paris (LCMCP), CNRS : UMR7574, Université Pierre et Marie Curie – Paris 6, 4 place Jussieu 75005 Paris Cedex 5 - France

À l'heure où la nécessité de développer des technologies propres se fait de plus en plus pressante, l'idée de tirer profit de l'activité métabolique de microorganismes pour produire de l'énergie devient envisageable. Les piles à combustible microbiennes mettent en œuvre ce concept en utilisant des bactéries afin de convertir l'énergie chimique tirée de la matière organique en électricité. De telles piles à combustible peuvent être utilisées comme source d'énergie renouvelable, mais de nombreux défis restent à relever avant de disposer d'une technologie efficace, stable et rentable. Plusieurs approches à ces problématiques peuvent être envisagées. Par exemple, le transfert électronique entre la bactérie et l'électrode peut être amélioré en travaillant sur l'organisme ou le consortium utilisé pour dégrader la matière organique. Ici, on cherche plutôt à optimiser le matériau et l'architecture du système utilisé et en particulier celle de l'anode colonisée par les bactéries.

Cette thèse se concentre sur la conception de la bioanode d'une bio-pile à combustible par électrospinning, procédé permettant la mise en forme de fibres de polymère de taille nano à micrométrique. Un feutre de fibres non tissées que l'on rend conductrices par l'addition de matériaux carbonés est obtenu. La colonisation de ce feutre par les bactéries électroactives *Shewanella oneidensis* se fera via plusieurs approches: encapsulation cœur-gaine, développement naturel du biofilm. Ce dernier est ensuite intégré dans une pile fonctionnelle permettant d'évaluer les caractéristiques électrochimiques de l'anode obtenue.

P7. Etude cinétique de la dégradation de l'alginate par la bactérie marine *Zobellia galactanivorans*

Anissa Dieudonné **1**, Diane Jouanneau **2**, Benoit Sarels **1, 3**, François Thomas **1**

1 : Laboratoire de Biologie Intégrative des Modèles Marins (LBI2M), Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR8227, Station Biologique de Roscoff Place Georges Teissier 29680 Roscoff - France

2 : Station biologique de Roscoff (SBR), Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Centre National de la Recherche Scientifique : FR2424, Place Georges Teissier - BP 74 29682 ROSCOFF CEDEX - France

3 : Laboratoire Jacques-Louis Lions (LJLL), Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Université Paris Diderot - Paris 7, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR7598, Université Pierre et Marie Curie, Boîte courrier 187 - 75252 Paris Cedex 05 - France

Z. galactanivorans est une flavobactérie marine isolée de l'algue rouge *Delesseria sanguinea* en raison de son activité de dégradation des carraghénanes. Depuis, elle est devenue un modèle d'étude de la dégradation des polysaccharides algaux dont notamment l'alginate, un composé majeur de la paroi des algues brunes d'intérêt industriel. La voie de dégradation de l'alginate est connue chez *Z. galactanivorans*. Elle est induite par la présence du substrat, et comprend au moins 7 alginate lyases et 4 enzymes agissant sur leurs produits de dégradation. Cependant, les cinétiques d'expression des différents gènes impliqués, ainsi que l'effet sur le polysaccharide ne sont pas connus.

Ainsi, un suivi de croissance de *Z. galactanivorans* a été réalisé sur deux jours dans deux milieux différents contenant soit de l'alginate soit du maltose comme seule source de carbone. La taille moyenne des molécules d'alginate présentes dans le milieu a été étudiée par chromatographie d'exclusion de taille couplée à un détecteur MALS (*Multiangle Light Scattering*), ce qui a permis d'établir un profil de dégradation au cours du temps. Ces résultats ont été corroborés par des mesures en extrémités réductrices et insaturées des sucres, témoignant de l'activité alginate lyase de la bactérie.

En parallèle, le taux d'expression de 17 gènes impliqués dans le métabolisme de l'alginate a été mesuré par RT-PCR quantitative. Leur expression différentielle dans les deux conditions, milieu alginate et milieu maltose, démontre de leur implication spécifique dans la dégradation du polysaccharide. De plus, les cinétiques d'induction variables d'un gène à l'autre permettent une meilleure compréhension du processus de dégradation de l'alginate chez *Z. galactanivorans*.

P8. La kinésine KIN8 est requise pour la gamétogenèse mâle de *Plasmodium berghei*

Delphine Depoix **1**, Sara Rute Marques **2**, David Ferguson **3**, Soraya Chaouch **1**, Robert Sinden **2**, Philippe Grellier **1**, Linda Kohl **1***

1 : Molécules de Communication et Adaptation des Micro-Organismes (MCAM), Sorbonne Universités, Museum National d'Histoire Naturelle (MNHN), CNRS : UMR7245, 61, rue Buffon, 75005 Paris - France

2 : Department of Life Sciences, Imperial College London - Royaume-Uni

3 : Nuffield, Department of Clinical Laboratory Science, University of Oxford, Oxford - Royaume-Uni

* : Auteur correspondant

L'une des étapes les plus cruciales et les moins étudiées du cycle parasitaire de *Plasmodium* est la gamétogenèse, qui se déroule chez l'hôte moustique. Au cours de cette étape, les gamètes mâles et femelles sont formés. Même si les étapes de cette différenciation ont été décrites, les acteurs moléculaires impliqués sont largement inconnus.

Comment se fait l'assemblage intracytoplasmique des 8 axonèmes des gamètes mâles? Par quel mécanisme les gamètes mâles sont-ils expulsés de la cellule mère?

La construction et la libération des gamètes pourraient impliquer des moteurs moléculaires, comme les dynéines et les kinésines. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux kinésines, impliquées dans de nombreuses fonctions chez les eucaryotes (transport d'organelles, mitose, construction de cils et de flagelles, ...). Deux kinésines ont été identifiées dans le protéome du gamétocyte mâle (Khan et al., Cell. 2005, 121: 675-687.). Elles pourraient être impliquées dans les mitoses (3 endomitoses successives), dans la construction ou le fonctionnement des flagelles, ou dans la libération des gamètes.

Nous avons choisi d'étudier la protéine KIN8, appartenant à la famille des kinésines 8, dans le modèle murin *Plasmodium berghei*. Dans d'autres organismes, les kinésines 8 sont impliquées dans la ségrégation des chromosomes.

Nous avons tout d'abord déterminé la localisation de la KIN8 en utilisant une protéine hybride GFP::KIN8. La protéine est exprimée uniquement dans les stades sexués mâles et se trouve au niveau des flagelles.

En utilisant le système PlasmogEM, nous avons produit des mutants de délétion de PbKIN8 (PbKIN8-KO) et analysé leur capacité de former des gamètes mâles, de fertiliser les gamètes femelles *in vivo* et de compléter le cycle parasitaire.

Les lignées mutantes PbKIN8-KO produisent des gamètes mâle et femelle, de façon similaire aux parasites sauvages. Les endomitoses ont lieu, indiquant que le rôle de PbKIN8 ne se trouve pas au niveau de la ségrégation des chromosomes. Par contre, la gamétogenèse mâle est fortement perturbée : les gamétocytes ne sont pas capables de libérer les gamètes mâles (pas d'exflagellation). L'analyse en microscopie électronique révèle des défauts importants dans la structure des axonèmes: les microtubules sont polymérisés, mais ne sont jamais assemblés en axonèmes de structure classique '9+2'. Ces défauts structurels sont probablement la cause de l'incapacité des mutants à produire des gamètes. Les essais *in vivo* montrent que les parasites PbKIN8-KO ne peuvent pas être transmis par le moustique à un nouvel hôte.

PbKIN8 est donc une protéine essentielle à la gamétogenèse mâle et à la complétion du cycle parasitaire. Elle pourrait intervenir dans l'assemblage des doublets de microtubules en structure cylindrique '9+2' et dans le maintien de la structure.

P9. On the role of human group IIA phospholipase A2 in malaria: from *in vitro* to *in vivo* mouse studiesMélanie Dacheux 1

1 :MNHN, Muséum National d'Histoire Naturelle

Introduction: Malaria is a disease caused by Plasmodium parasites among which *P. falciparum* is the most virulent species. Most malaria cases are uncomplicated, but severe deadly cases can occur. Human group IIA phospholipase A2 (hGIIA sPLA2) is increased in the serum of malaria patients, especially in severe cases. Its role is unknown. We recently demonstrated that hGIIF, hGIII, hGV and hGX but not hGIIA sPLA2s inhibit the *in vitro* growth of *P. falciparum* by generating toxic PUFAs from hydrolysis of lipoproteins in the culture medium. We used *in vitro* and *in vivo* approaches to further elucidate the role of sPLA2s in malaria.

Methods: *In vitro* assays were repeated with oxidized lipoproteins because lipoproteins are oxidized in malaria and are better substrates for sPLA2s. By TR-FIA, hGIIA, hGIIF, hGV and hGX sPLA2s were searched for in plasma from uncomplicated malaria. The impact of circulating hGIIA on *P. falciparum* was evaluated using malaria plasmas inhibited for hGIIA activity (inhibitor LY311727) or spiked with recombinant hGIIA. The *in vivo* role of hGIIA was evaluated using hGIIA-transgenic mice infected with *P. chabaudi*.

Results: Oxidized lipoproteins hydrolyzed with ≥ 100 nM hGIIA were toxic to *P. falciparum*. hGIIA, but not hGIIF, hGV or hGX sPLA2s, was ≥ 7.5 -fold increased in malaria plasmas ($P < 0.0001$, up to 9 nM). Parasite growth in malaria plasmas was not affected by LY311727, but inhibited by addition of 100 nM hGIIA. Infected transgenic mice exhibited lower parasitaemia than WT littermates with an hGIIA plasma concentration of 62.1 ± 48.2 nM (mean \pm SD).

Conclusion: hGIIA sPLA2 lowers the growth of Plasmodium *in vitro* and *in vivo*. The oxidized lipoprotein-mediated inhibitory mechanism is observed at relatively high hGIIA concentrations, suggesting that it might be relevant in parasite download in transgenic mice or in severe but not uncomplicated human malaria.

P10. L'archée halophile *Halobacterium salinarum* isolée de la saline de Sfax en Tunisie produit deux peptides antimicrobiens, les halocines S8 et S15

Fadoua Ghanmi **1, 2**, Alyssa Carré-Mlouka **1**, Zied Zarai **2**, Jean Peduzzi **1**, Hafedh Majdoub **2**, Sami Maalej **2**, Sylvie Rebuffat **1**

1 : Muséum National d'Histoire Naturelle, Sorbonne Universités, Centre national de la Recherche scientifique, Unité Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes (MCAM, UMR 7245 CNRS-MNHN), Paris, FRANCE

2 : Faculté des Sciences de Sfax; Laboratoire de Microbiologie – Unité Biodiversité et Ecosystèmes Aquatiques Environnementaux (UR11ES/72), Sfax, Tunisie

Les microorganismes extrêmophiles présentent un intérêt croissant en raison des mécanismes adaptatifs qu'ils développent et de leur potentiel biotechnologique. Les milieux hypersalins, très répandus dans la biosphère, hébergent des communautés microbiennes adaptées à ces conditions *a priori* impropres à la vie. Ces communautés sont dominées par les archées. Certaines archées halophiles produisent des peptides antimicrobiens (halocines) jouant un rôle dans les compétitions microbiennes. A partir de prélèvements réalisés dans deux bassins de la saline de Sfax en Tunisie (TS18, 390 g.L⁻¹ NaCl et M1, 200 g.L⁻¹ NaCl), trente-cinq souches de procaryotes halophiles ont été isolées et sélectionnées pour leur capacité à produire des halocines. Les tests d'antagonisme ont permis de sélectionner 11 souches ayant une activité antimicrobienne, parmi lesquelles 3 produisent des substances antimicrobiennes de nature protéique. Par PCR et RT-PCR nous avons montré que les souches *Halobacterium salinarum* ETD5 et ETD8 exprimaient le gène de l'halocine S8, un peptide préalablement purifié à partir d'une souche d'archée S8a non identifiée, et décrit comme ayant une masse moléculaire de 3,6 kDa. Dans cette étude, le peptide a été purifié à partir de cultures de la souche *Hbt. salinarum* ETD5. Après purification bioguidée, les fractions actives ont révélé la présence de deux bandes de 8 et 15 kDa présentant une activité antimicrobienne. L'analyse par séquençage N-terminal et spectrométrie de masse a permis d'identifier ces deux halocines. La bande de 8 kDa correspond à une forme de l'halocine S8 de 81 acides aminés qui résulterait d'une maturation post-traductionnelle protéolytique différente de celle initialement décrite dans la littérature. Le clonage et le séquençage du gène codant le précurseur de l'halocine S8 démontrent que la séquence est identique chez les deux souches ETD5 et S8a. La bande de 15 kDa correspond à une nouvelle halocine, que nous avons nommée halocine S15. L'halocine S15 correspond à une forme tronquée en partie N-terminale de la Mn-superoxyde dismutase (SOD) d'*Hbt. salinarum*. Nous avons ainsi constaté ici pour la première fois qu'une halocine fonctionnelle peut provenir du clivage d'une protéine ayant une autre fonction chez l'archée. Il pourrait s'agir de l'évolution divergente d'un gène codant deux protéines distinctes, ou d'une maturation différente de la SOD. Ce travail permet de mieux connaître les molécules intervenant dans les interactions microbiennes dans les milieux hypersalins.

P11. Etude du mécanisme d'action de nouveaux antituberculeux

Elodie Sadowski **1**, Guillaume Anquetin **2**, Wladimir Sougakoff **3**, Alexandra Aubry **3**

1 : Equipe « Emergence et propagation des multi-résistances aux antibiotiques », Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses, INSERM U1135, Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, 91 Boulevard de l'hôpital 75013 Paris - France

2 : ITODYS, Université Paris Diderot - Paris 7, CNRS : UMR7086, 15 rue J-A de Baïf, 75205 Paris Cedex 13 - France

3 : Equipe « Emergence et propagation des multi-résistances aux antibiotiques », Centre d'Immunologie et des Maladies Infectieuses, INSERM U1135, Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Hôpital Pitié-Salpêtrière, 91 Boulevard de l'hôpital 75013 Paris - France

La tuberculose (TB) reste un problème de santé publique majeur. L'émergence de TB dues à des bacilles résistants aux antibiotiques met en péril les politiques de lutte contre la TB. Dans ce contexte la découverte de nouveaux antituberculeux est un enjeu majeur. Nous avons récemment synthétisé des dérivés lipophiles de fluoroquinolones (FQ), appelés QUIN, possédant un groupement pipérazine substitué par une longue chaîne alkyle (brevet PCT / EP15 / 063752). Parmi ces QUIN, 2 candidats ont montré une bonne activité inhibitrice vis à vis de *Mycobacterium tuberculosis* (agent de la tuberculose), in vitro, ex vivo et dans un modèle murin de TB. Nos résultats suggèrent que la cible de ces hits n'est pas l'ADN gyrase (pourtant cible unique des FQ). En effet, (i) les Quin n'inhibent pas le fonctionnement de l'ADN gyrase et (ii) 85% des mutants de *M. tuberculosis* sélectionnés sur des milieux contenant les Quin ont des mutations dans un gène nommé *cypX*. Le fait que les mutations soient très dispersées et réparties tout le long du gène suggère que CypX, qui appartient à la famille des monooxygénases, serait un activateur des Quin capable de les métaboliser en molécules actives qui interagiraient ensuite avec une cible encore non déterminée. Nos travaux visent à étudier le mécanisme d'action des Quin et à développer une nouvelle classe d'agents antibactériens.

P12. Suivi du calcium dans les cyanobactéries formant des inclusions de carbonate de calcium

Mélanie Poinso **1**, Alexis Dewever **1**, Nith Cam **1**, Margot Couraud **1**, Fériel Skouri-Panet **1**, Karim Benzerara **1**

1 : Institut de minéralogie, de physique des matériaux et de cosmochimie (IMPMC) - Museum National d'Histoire Naturelle, Université Pierre et Marie Curie - Paris 6 : UM120, Institut de recherche pour le développement : UR206, Centre National de la Recherche Scientifique : UMR7590, Tour 23 - Barre 22-23 - 4e étage - BC 115 4 place Jussieu 75252 PARIS - France

En étudiant la formation de roches carbonatées, dans un lac du Mexique (Alchichica), des cyanobactéries faisant des inclusions intra cellulaire de carbonate de calcium ont été découvertes. En 2014, il a été montré que d'autres espèces de cyanobactéries sont capables de faire des inclusions intracellulaires de carbonate calcium. Au total, ces différentes espèces de cyanobactéries ont été trouvées dans différents environnements, y compris des lacs, des sols, des milieux karstiques ou des sources d'eau chaude à travers le monde.

Pour mieux comprendre la formation des carbonates de calcium intra cellulaires et les mécanismes associé, nous avons réalisé un suivis de croissances cellulaire, mesuré la concentration de calcium restant en solution au cours de la culture, et nous avons observé systématiquement les cellules au en microscopie électronique couplée à de l'EDX

C'est suivis ont mis en évidence que les souches qui forment des inclusions intracellulaires de carbonates de calcium (*Gloeomargarita lithophora* C7, *Cyanothece* sp. PCC 7425, *Synechococcus* sp. PCC 6312) consomment plus de calcium dans la phase exponentielle comparé à la souche qui ne fait pas de carbonates de calcium (*Synechococcus elongatus* PCC7942). PCC7942 fait diminuer la concentration de calcium dissous en phase stationnaire par précipitation extracellulaire suivant une augmentation du pH au cours de la croissance

En erlen fermé auquel on ajoute 2,8mM de NaHCO₃ par jour, les inclusions intracellulaires continuent de se former mais la croissance est ralentie. Ces résultats ouvrent des perspectives pour mieux comprendre les mécanismes de formation de carbonate de calcium et permettent d'envisager des expériences de marquage isotopique au carbone 13

P13. Functional study of host - microborer interactions in the scleractinian coral holobiont.

Anaïs Massé **1, 2***, Aline Tribollet **2***, Marie-Lise Bourguet-Kondracki **1**, Claude Yepremian **3**, Alain Paris **1**, Arlette Longeon **1**, Isabelle Domart-Coulon **1***

1 : Unité MCAM, Equipe MDCEM/UMR 7245, 57 rue Cuvier (CP 54), 75005 Paris, CNRS : UMR7245, Muséum National d'Histoire Naturelle

2 : IPSL-LOCEAN, CNRS : UMR7159, Institut de recherche pour le développement: UR182, Muséum National d'Histoire Naturelle, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI

3 : Unité MCAM, Equipe CCE/UMR 7245, 57 rue Cuvier (CP 54), 75005 Paris, CNRS : UMR7245, Muséum National d'Histoire Naturelle

* : Auteur correspondant

The coral holobiont contains diverse communities of microbial partners that are located both in the living tissues (endosymbiotic dinoflagellates, bacteria) and in the skeleton (microborer filamentous cyanobacteria, algae, and fungi). Little is known about the functional roles in living scleractinian corals of microborers actively colonizing skeletons via carbonate dissolution processes, with a few recent studies suggesting a potential ectosymbiotic role. Phototrophic microborers may indeed represent an alternative source of photoassimilates to the coral host during bleaching events (disruption of symbiosis with dinoflagellates, triggered mainly by thermal stress), improving the chances of coral survival during these increasingly frequent episodes. But, the type of transfer of photoassimilates (active vs passive) has not been determined. Moreover, the fluxes of carbon and nitrogen between microborers and the coral host have not been visualized and quantified at the individual cell level.

In the present study, we aim at highlighting:

(i) potential trophic roles of microborer phototrophs, especially of the Siphonales Ulvophyceae of the genus *Ostreobium* which is very abundant in living corals. In order to investigate the transfer of photoassimilates from phototrophic microborers to the coral tissue, we use pulse-chase isotopic labelling experiments in light (with ¹³C-bicarbonate and ¹⁵N-nitrate) of microborers colonizing healthy or bleached branches of *Pocillopora damicornis*. Tissue and skeletal fractions are prepared to quantify bulk isotopic enrichment using GC-IRMS and developing LC-IRMS methods. In addition, thin sections of coral branches are prepared to map isotopic enrichment with nanoscale secondary ion mass spectrometry (NanoSIMs) and quantitatively image photoassimilation and potential translocation of labeled compounds between microborers and host.

(ii) molecules of the chemical communication between microborers and coral host. In order to identify small, specialized metabolites involved in this dialogue, we establish and compare the chemical profiles of microborers *in situ* in tissue-covered skeleton of coral branches, in cultures of microborers (*Ostreobium* strains propagated *in vitro*) and in primary co-cultures of the strains with coral tissues. Chemical fingerprints of organic extracts are obtained by HPLC-DAD-ELSD, MS and NMR analyses, followed by statistical analysis of overexpressed metabolites in each compartment of the holobiont.

Such approaches should allow better understanding of microborer roles in living Scleractinian corals and thus their resilience capacity in the context of global change.

P14. Oxylipins at the core of a phytopathogen-endophyte interaction

Margot Barenstrauch 1, Caroline Kunz 2, 3 *, Stéphane Mann 2, Soizic Prado 4

1 : Molécules de Communication et Adaptation des Micro-Organismes (MCAM), Museum National d'Histoire Naturelle, Centre National de la Recherche Scientifique: FRE3206, 57 rue Cuvier 75005 Paris, - France

2 : Molécules de Communication et Adaptation des Micro-Organismes (MCAM), CNRS: FRE3206, 57 rue Cuvier 75005 Paris - France

3 : Université Pierre et Marie Curie - Paris 6 (UPMC), 4 place Jussieu - 75005 Paris - France

4 : Molécules de Communication et Adaptation des Micro-Organismes (MCAM), CNRS: UMR7245, 57 rue Cuvier 75005 Paris - France

* : Auteur correspondant

Most plants are harbouring a wide diversity of microorganisms, called endophytes. The study of the cultivable **microbial community** of the Asian conifer *Cephalotaxus harringtonia*, led our team to the discovery of the Ascomycete *Paraconiothyrium variable* (Dothideomycetes, Pleosporales). **Endophytic fungi**, involved in mutualistic associations with plants, can have profound impact on plant ecology as they provide fitness benefits to their host, such as protection against phytopathogens (Rodriguez *et al*, 2009). Indeed, they produce many metabolites displaying fungicidal or antibacterial activity (Kusari *et al*, 2012). The endophyte *P.variable*, inhabiting the conifer needles, exhibited a strong antagonistic activity towards the ubiquitous soil-borne **phytopathogen** *Fusarium oxysporum*. Interestingly, this pathogen is responsible for seedling-blight in some conifers.

During the **metabolic interaction** between both microorganisms, two **oxylipins** identified as 13-keto-9,11-octadecadienoic acid (13-KODE) and 13-hydroperoxy-9,11-octadecadienoic acid (13-HpODE) are overproduced. Such oxidized fatty acids are widely studied as signalling molecules in the context of host-pathogen interactions (Tsitsigiannis, 2007). However, few is known about their role in the chemical communication within the microbiote itself. Besides, this oxylipin production is accompanied by a decrease in beauvericin secretion, one of the most potent **mycotoxins** of *Fusarium* species and a virulence factor on infected plants (López-Berges, 2013). Previous results showed that exogenous application of 13-KODE lowers beauvericin production, synthesized by a nonribosomal peptide synthetase encoded by the *beas* gene. This points out a probable role of endophytic oxylipins in beauvericin downregulation (Combès, A. *et al*. 2012).

The goal of our work is to elucidate the origin, endophytic or pathogenic, of the two oxylipins 13-KODE and 13-HpODE during the antagonistic interaction. In this perspective, we started to construct *P. variable* endophyte mutants lacking these oxylipins. We identified and cloned two lipoxygenase genes (*Pvlox1* and *Pvlox2*) of *P. variable* and started establishing a genetic transformation system to obtain *Pvlox1* and *Pvlox2* mutants. A q-PCR approach will give insight about the expression patterns of the two endophyte *Pvlox* genes as well as the two *lox* genes and the *beas* gene of *F. oxysporum* during the antagonistic interaction. Furthermore, we currently express the two *Pvlox* genes in *Escherichia coli*, to elucidate their biochemical activity and to test their implication in 13-KODE and 13-HpODE biosynthesis.

P15. *In vitro* and *in silico* evidence of phosphatase diversity in the biomineralizing bacterium *Ramlibacter tataouinensis*

Feriel Skouri-Panet **1**, Julie Cosmidis **2**, Karim Benzerara **1**, Céline Ferard **1**, Gilles De Luca **3**, Thierry Heulin **3**, Elodie Duprat **1**

1 : Institut de minéralogie, de physique des matériaux et de cosmochimie (IMPMC), Museum National d'Histoire Naturelle, Université Pierre et Marie Curie - Paris 6 : UM120, Institut de recherche pour le développement: UR206, Centre National de la Recherche Scientifique: UMR7590, Tour 23 - Barre 22-23 - 4e étage - BC 115 4 place Jussieu 75252 PARIS - France

2 : University of Colorado - Boulder • Department of Geological Sciences • Templeton Geomicrobiology Laboratory

3 : CEA Tech PACA, CEA Tech Saclay, CEA Cadarache 13108 Saint Paul lez Durance - France

Microbial phosphatase activity can trigger the precipitation of metal-phosphate minerals, a process called phosphatogenesis, with global geochemical and environmental implications. An increasing diversity of phosphatases expressed by diverse microorganisms has been evidenced in various environments. However, it is challenging to link this diversity of enzymes and microorganisms with phosphatogenesis capabilities. Here, we studied the phosphatases of a model bacterium, *Ramlibacter tataouinensis* (Rta), known to biomineralize Ca-phosphates in the environment and the laboratory. Based on a mineralization assay, we showed that Rta hydrolyses the phosphoester bonds of a wide range of organic P molecules. Accordingly, its genome has a unique and unexpected diversity of phosphatases: five genes belonging to two non-homologous families, *phoD* and *phoX*, were detected. These genes showed diverse genomic organization, regulatory elements and protein structural specificities. Heterologous expression in *Escherichia coli* confirmed that *PhoD* and one *PhoX* had different profiles of substrate hydrolysis. The high diversity of phosphatases in Rta may favor phosphatogenesis in a range of environments broader than for other species. Moreover, our combined *in silico* and *in vitro* approaches provide a reference framework opening new perspectives for deciphering the potential of a diverse ecosystem to induce the precipitation of Ca-phosphate mineral phases.

P16. Les biotransformations microbiologiques comme source de diversité chimique

Cécile Anne **1**, Didier Buisson **2**

1 : Molécules de Communication et Adaptation des Micro-Organismes (MCAM), Museum National d'Histoire Naturelle: UMR7245, Centre National de la Recherche Scientifique: FRE3206, 57 rue Cuvier 75005 Paris - France

2 : Unité Molécules de Communication et Adaptation des Microorganismes (UMR 7245 CNRS/MNHN) - Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN), 57, rue Cuvier - 75231 Paris Cedex 05 - France

L'étude des voies de biosynthèse de métabolites secondaires fongiques est menée à travers une approche de biotransformation de leurs précurseurs et d'analogues, conduisant à l'obtention de nouveaux métabolites.

Les corymbiféranes lactones **1** et composés similaires **2** sont produits par plusieurs genres fongiques (*Penicillium sp.*, *Talaromyces sp.*, *Gremmeniella*, *Coniothyrium*) et un certain nombre d'entre eux possèdent des activités biologiques intéressantes **3**. Les réactions mises en jeu dans leurs voies de biosynthèse sont étudiées en incubant des intermédiaires possibles avec des champignons producteurs.

Cette étude permet également d'accéder à une grande chimiodiversité en incubant des analogues avec ces champignons ou en utilisant d'autres souches non-productrices.

1 *J. Nat. Prod.* **2004**, 67, 1850-1853

2 *Nat. Prod. Rep.* **2014**, 31, 628

3 *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 14, 2691

P17. Molecular interactions between endophytic fungi and bacteria from brown algae in the context of quorum sensing.

Anne Tourneroche, Raphaël Lami **1**, Soizic Prado **2**

1 : Laboratoire de Biodiversité et Biotechnologies Microbiennes (LBBM), Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, Banyuls marine station, Avenue du Fontaulé 66650 Banyuls/Mer - France

2 : Molécules de Communication et Adaptation des Micro-organismes (MCAM), CNRS: UMR7245, MNHN UMR 7245 MNHN/CNRS, 57 rue Cuvier (CP 54) 75005 Paris - France

Marine brown algae are key primary producers and form a specific habitat strongly impacting coastal marine life [1]. In addition, the aquaculture of those algae represents a fast-growing economic sector [2]. Worryingly, this algoculture expansion is associated with an increase of infectious diseases which may have strong economic and ecological impacts [3].

Besides of the phycopathogens, macroalgae also harbor microorganisms which may especially be involved in development and defense of the host-algae [1].

In this context, our project aims at exploring the chemical interactions within the endomicrobiota of brown algae and its impact on the algal fitness. To study these interactions, we mostly focused on quorum sensing (QS), an intercellular signaling system controlling virulence factors and secondary metabolites production in many bacterial species. Indeed, our previous results highlighted that metabolites produced by endophytic fungi inhibit the bacterial QS, and thus may prevent the emergence of some bacterial phenotypes deleterious for the host-algae.

First, fungal and bacterial strains were isolated from the internal tissues of four brown algae and identified. Then the strains were screened for i) their QS capability for bacterial strain, ii) their capacity to modulate bacterial QS systems for fungal strains.

The relevant fungal and bacterial strains were co-cultured and a LC-MS-based untargeted metabolomics approach is in progress to assess the consequences of the fungus-bacterial interactions on secondary metabolites production. We especially intend to identify the metabolites which may i) act as QS chemical mediators and ii) have an impact on algal fitness.

[1] S. Egan *et al.* (2013) *FEMS Microbiol. Rev.* **37**:462–476.

[2] G. Kerlero de Rosbo *et al.* (2014) Technical Report ADEME., pp.164.

[3] C. Gachon *et al.* (2010) *Trends in Plant Sci.*, **15**:633–640.

P18. Des réseaux planctoniques corrélés à l'export de carbone dans l'océan révélés par des analyses de cooccurrence génomique

Anne-Sophie Benoiston 1,2, Lucie Bittner 1, Lionel Guidi 2,3, Samuel Chaffron 4, Damien Eveillard 4, Sakina-Dorothee Ayata 2, Eric Karsenti 5,6, Chris Bowler 5, Gabriel Gorsky 2 and the *Tara* Consortium

1 : Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, Institut de Biologie Paris-Seine (IBPS), Evolution Paris Seine, F-75005, Paris, France

2 : Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 06, CNRS, Laboratoire d'Océanographie de Villefranche (LOV), Observatoire Océanologique, Villefranche-sur-Mer, France

3 : Department of Oceanography, University of Hawaii, Honolulu, Hawaii, USA

4 : LINA UMR 6241, Université de Nantes, EMN, CNRS, 44322 Nantes, France

5 : Ecole Normale Supérieure, PSL Research University, Institut de Biologie de l'Ecole Normale Supérieure (IBENS), CNRS UMR 8197, INSERM U1024, 46 rue d'Ulm, Paris, France

6 : Directors' Research European Molecular Biology Laboratory Meyerhofstr. 1, 69117 Heidelberg, Germany

La pompe à carbone correspond à l'ensemble des processus biologiques permettant de piéger du carbone atmosphérique dans l'océan sur des temps géologiques. Des organismes planctoniques (e.g. copépodes, diatomées) ont été identifiés comme ayant un rôle clé dans ce phénomène et il a été montré que la composition des communautés planctoniques est corrélée à l'intensité de la pompe biologique. Cependant, les interactions et le fonctionnement de ces communautés impliquées dans la pompe à carbone sont moins connus. Pour mieux comprendre les mécanismes qui influencent la pompe à carbone et prendre en compte ces interactions, une analyse à plus grande échelle des communautés planctoniques est maintenant nécessaire. Les techniques de séquençage à haut débit offrent maintenant la possibilité d'étudier les communautés microbiennes à un niveau de détail très fin et à large échelle. En appliquant des analyses de cooccurrence sur les données génomiques du projet *Tara* Oceans et en les mettant en relation avec des données environnementales, des modules de séquences (séquences ayant un même profil d'abondance dans les stations échantillonnées) de plancton eucaryote corrélés à l'export de carbone dans les régions océaniques polaires et non polaires ont été délimités. La composition de ces modules a été comparée entre les zones polaires et tempérées et le pouvoir prédictif des modules pour l'export de carbone a été évalué par une méthode de régression, révélant ainsi des espèces clés qui pourraient être utilisées comme biomarqueurs de la pompe à carbone biologique.