

SYMBIOME - Étude du microbiome associé au plancton particulaire (>3µm) des couches de surface de l'océan.

Contexte et ambition. Le projet SYMBIOME vise à révéler et commencer à comprendre les fonctions d'un pan de biodiversité du plancton marin global encore peu connu bien que fondamental, et ce dans une approche de *biologie planétaire* rendue possible grâce aux explorations 'seatoynnes' globales réalisées entre des chercheurs SU/CNRS et la Fondation *Tara* Océans et la marine Nationale. Si la biodiversité et les fonctions des bactéries et archées en phase libre (fraction 0.2–2µm) sont relativement bien connues dans le plancton planétaire¹, celles des procaryotes peuplant les fractions organismiques de taille supérieures (micro-, méso-, macro- plancton) l'est beaucoup moins. Nous appellerons ce compartiment du vivant le 'microbiome particulaire' ou MP. Dans SYMBIOME, nous proposons de (i) révéler le MP dans les eaux de surface de l'océan planétaire, avec un focus sur les océans Indien et Pacifique, et (ii) comprendre quelle part (quels groupes taxonomiques) a pour fonction principale de dégrader la matière particulaire organique, et quelle part établit des relations symbiotiques, *sensu lato*, avec les organismes eucaryotes uni- ou pluri-cellulaires. Cette exploration globale du MP est basée sur des jeux de données inédits couvrant des échelles spatio-temporelles et organismiques exceptionnelles, issus des expéditions *Tara* (2009 – 2022) et de la mission Bougainville, la nouvelle collaboration entre SU et la Marine nationale permettant un échantillonnage pérenne du microbiome de surface à l'échelle des bassins indo-pacifique.

Objectifs scientifiques. SYMBIOME a 3 objectifs principaux.

Axe 1. Preuve de concept. Automne 2024 - été 2025 (i) Représentativité des échantillons 'Bougainville'. Les données issues des échantillons récoltés de 2023 à 2025 dans la mission *Bougainville* seront comparées à celles des missions *Tara*. La méthode de filtration mise en œuvre sur Bougainville applique des principes de simplicité d'utilisation et de transportabilité, et diffère donc du protocole '*Tara*' bien plus complexe. Les données de diversité issues des deux approches seront comparées. (ii) **Universalité du marqueur rRNA.** Les amorces universelles utilisées dans le projet amplifient un fragment du gène codant pour la petite sous-unité du ribosome, permettant en théorie d'explorer de manière homogène et semi-quantitative la *totalité* du vivant à la fois procaryotique (y compris les chloroplastes) et eucaryotique. Or l'efficacité de ces amorces pour mesurer la biodiversité des eucaryotes reste à démontrer, notamment sur différentes fractions de taille organismique plus ou moins chargée en biomasse bactérienne. Nous comparerons la diversité eucaryotique ainsi obtenue avec celle générée par les amorces ciblant spécifiquement le 18S rDNA utilisées classiquement en écologie moléculaire du plancton².

Axe 2. Eco-biogéographie du MP sur les gradients îles-large à l'échelle du bassin indo-pacifique. Été 2025 - été 2026. Grâce aux jeux de données *Tara* Océans (mondial, 5 fractions de taille organismiques, 646 échantillons de surface³), *Tara* Pacific (couvrant 99 systèmes insulaires à travers l'océan Pacifique et 3 fractions de tailles, 1195 échantillons de surface⁴), et mission *Bougainville* (>7 millions de Km² et des dizaines d'îles autour de la Réunion, Nouméa, et Tahiti, à l'échelle du bassin Indo-Pacifique, 2 fractions de taille, >500 échantillons prévus en 2025), nous pourrions mesurer les patrons de biodiversité procaryotique dans les différentes fractions de taille du plancton, et le long des gradients écologiques depuis les eaux riches en nutriments autour des îles jusqu'aux masses d'eau hyper-oligotrophes du large. Nous analyserons la composition taxonomique et taxo-fonctionnelle, l'écologie et la biogéographie du MP sur ces échelles inédites, et tenterons de la corrélérer à la composition des communautés eucaryotes, notamment par des analyses de réseaux de co-occurrence et les données de microscopie quantitative (Flowcam, Planktoscope, Zooscan) issues des mêmes échantillons.

Axe 3. Validation et caractérisation de microbiomes symbiotiques clef associés à des holobiontes eucaryotes. Printemps 2025 - Printemps 2027. Les résultats de l'Axe 2 nous orienteront sur des symbioses procaryotes/eucaryotes (holobiontes) particulièrement importantes en termes d'écologie et/ou d'évolution. Dans l'axe 3, nous retournerons sur les échantillons '*Tara*' préservés pour les analyses microscopiques, et/ou récolterons des échantillons frais, pour réaliser des analyses 'phénogénomiques' permettant d'imager en flux les holobiontes eucaryotiques clef du plancton et de les trier pour du séquençage '*single-cell*' (ou '*single-organism*'). Ainsi, nous pourrions valider les résultats obtenus sur l'échelle des communautés et des bassins océaniques à l'échelle des individus, et mieux comprendre la nature (du parasitisme au mutualisme) et les fonctions potentielles des interactions procaryotes-eucaryotes dans un cadre éco-systémique.

Approche méthodologique. L'ADN des échantillons de la *mission Bougainville* sera extrait et séquencé avec des amorces ciblant les régions hypervariables V4 et V5 de la petite sous-unité du ribosome (SSU rDNA 16S - procaryotes + chloroplastes - et 18S - eucaryotes^{5,6}). Des tables d'ASVs 16S and 18S seront construites à l'aide des *workflows* développés pour les données de *metabarcoding* des expéditions *Tara*. Les ASVs 'Bougainville' seront intégrés à ceux de *Tara Oceans* et *Tara Pacific*, au sein d'une table d'abondance d'ASVs et metadata totalisant plus de 2300 échantillons. Grâce aux ressources de calcul et de stockage (2500 CPUs et 2,5 PB) disponibles sur la plateforme bioinformatique ABiMS à Roscoff, le candidat comparera les échantillons des expéditions *Tara* à ceux de la *mission Bougainville* par des approches de statistiques multivariées (β -diversité). Il/elle estimera ensuite la part de variabilité expliquée par des différences de protocole entre expéditions et évaluera si elle est négligeable ou non au regard de la variabilité naturelle des communautés échantillonnées. La diversité taxonomique et phylogénétique des procaryotes du MP (>3 μ m) sera comparée à celle des procaryotes libres du picoplankton (Pico; <3 μ m). Seront ensuite identifiés, par statistiques multivariées, les principaux facteurs environnementaux responsables de la dynamique des communautés MP et Pico. On s'attend à ce que les MP, en interaction avec des particules ou des organismes, répondent différemment à des changements de l'environnement par rapport aux Pico, notamment sur les gradients environnementaux liés aux effets d'îles dans l'indo-pacifique. Des réseaux de cooccurrences seront inférés à partir des abondances des MPs (16S) et des eucaryotes (18S), pour identifier des hôtes potentiels de certains groupes MP symbiotiques. La présence et l'abondance des hôtes seront vérifiées par des analyses d'imagerie quantitative réalisées sur les *outputs* de la plateforme EcoTaxa qui contient les jeux de données issus de plusieurs 'imageurs' embarqués sur les expéditions *Tara* ou Bougainville (FlowCam, Planktoscope) ou au laboratoire (Zooscan). Pour les échantillons d'intérêt (abondance importante de couples euk-proks putatifs) une analyse 'phénogénomique' sera réalisée. En collaboration avec Rainer Pepperkok (directeur de l'*Advanced Light Microscopy Facility*' de l'EMBL) et Flora Vincent (EMBL, Heidelberg), les holobiontes cibles préservés dans des tampons EtOH ou gluta/paraF seront automatiquement imagés et triés individuellement sur une plateforme COPAS, pour être ensuite lysés et amplifiés par PCR avec les amorces universelles. Les séquences obtenues représentent tous les organismes (pro- et eu-caryotiques) et les organelles (chloroplastes et mitochondries), formant l'holobionte cible; elle permettront d'étudier les degrés de spécificité taxonomique des interactions, de valider les interactomes issus des analyses de co-occurrence à l'échelle des communautés, et d'émettre des hypothèses sur les fonctions complémentaires de ces 'super-organismes'.

Adéquation avec les objectifs de l'Institut et encadrement. Le projet SYMBIOME s'inscrit dans l'approche écosystémique 'One Ocean' de la biologie planétaire, par essence transdisciplinaire, portée par l'Institut de l'Océan de l'Alliance SU. Il combine des forces académiques, *seatoyenne* (*Tara*) et régaliennne (bâtiments de la Marine nationale), avec des approches innovantes en génomique et phénogénomique environnementales permettant d'étudier un pan du vivant fondamental et méconnu sur des échelles spatiales et temporelles correspondant aux changements globaux et aux dynamiques d'adaptations du plancton. SYMBIOME est aussi une collaboration entre deux équipes de l'ASU - Roscoff et Banyuls -, unissant leur expertise respective en bactériologie (Banyuls) et eucaryologie (Roscoff) marines, pour établir une connaissance de base de la diversité/complexité des symbioses procaryote/eucaryote, qui servira de référence pour leur suivi à long terme. Enfin, le projet SYMBIOME serait la première thèse issue du programme émergent '*mission Bougainville*', et de ce fait impliquera aussi la Marine Nationale. Les méthodes, "workflows" informatiques, et analyses issus de SYMBIOME permettront non seulement de valider la méthodologie 'Bougainville', mais aussi d'assurer la plateforme analytique nécessaire pour absorber, analyser, et visualiser la mesure du microbiome aquatique marin planétaire et pérenne réalisée grâce à la création des postes d'Officiers Biodiversité par la marine Nationale.

Le candidat sera encadré à Banyuls par Pierre Galand, Directeur de Recherche CNRS et expert en procaryologie et microbiologie marine, à Roscoff par Nicolas Henry, Ingénieur de Recherche CNRS expert en biostatistique/bioinformatique, et Colombar de Vargas, Directeur de Recherche CNRS expert en eucaryologie et écologie du plancton. Elle sera réalisée sur publications, avec la réalisation d'au minimum 3 articles scientifiques de complexité croissante, correspondant aux Axes 1, 2, et 3.

Références. 1. Sunagawa et al, 2015 Science; 2. de Vargas et al. Science, 2015; 3. Sunagawa et al, 2020, Nature Reviews Microbiology; 4. Galand et al, 2023, Nature Communication; 5. Parada et al 2016, Env. Microbiology; 6. McNichol et al., mSystems, 2021.