



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **19 mars 2018**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **SCHWOB Guillaume**

Titre de la thèse : « Rôle écologique de la sporulation *in planta* dans les symbioses actinorhiziennes : Cas de la symbiose *Alnus /Frankia* »



Résumé

Aujourd'hui encore, l'existence de patrons de distribution chez les micro-organismes est largement débattue. Ils reposeraient sur la capacité des micro-organismes à disperser dans le temps (survie) et dans l'espace (dissémination spatiale), en lien avec des facteurs abiotiques comme les propriétés du sol, le climat, et des interactions biotiques, notamment avec l'hôte dans le cas des symbiontes, mais aussi sur les traits d'histoire de vie propres aux micro-organismes, telle que la capacité à sporuler.

Notre modèle biologique *Frankia* sp. est une actinobactérie sporulante et fixatrice d'azote à la biogéographie complexe, car présentant à la fois la capacité de vivre de façon saprophytique dans le sol, et celle d'établir une symbiose racinaire (nodosité) avec les plantes actinorhiziennes dont les aulnes (*Alnus*, Betulaceae). Deux types de souches de *Frankia* génétiquement différentes ont été décrites dont la distinction phénotypique majeure réside dans la capacité à maintenir (Sp+) ou non (Sp-) leur sporulation *in planta*. Toutes deux forment dans les nodosités des cellules filamenteuses à croissance hyphale et des cellules spécialisées dans la fixation de l'azote atmosphérique (diazovésicules), seule la lignée Sp+ forme des sporanges multiloculaires contenant de très nombreux descendants dormants (spores). Cette sporulation endophytique est à notre connaissance unique dans un contexte symbiotique et son implication dans la biogéographie de *Frankia*, reste peu connue. De précédents travaux ont montré une répartition différente des *Frankia* Sp+ et Sp-, avec d'une part les souches Sp+ retrouvées majoritairement dans les milieux froids associées aux complexes d'espèces *Alnus incana* et *Alnus alnobetula*, et d'autre part les souches Sp- prédominantes en plaine sur l'espèce *Alnus glutinosa*. Cependant, les espèces d'aulne appartenant à des ceintures bioclimatiques différentes, les effets des facteurs hôtes et du climat sont confondants dans la biogéographie des Sp+.

Ces travaux de thèse intègrent à la fois des approches descriptives et expérimentales, sur le terrain et au laboratoire, à travers des analyses de séquences multi-loci (MLSA) et de séquençage haut débit, des mesures d'activités potentielles liées au cycle de l'azote et de l'isotopie ($\delta^{15}\text{N}$), afin d'accroître la compréhension du rôle écologique de la sporulation *in planta* de *Frankia*.

Dans un premier temps, nous avons étendu la description de la phylobiogéographie des souches de *Frankia* Sp+ afin de tester la validité du patron de distribution centré sur les milieux froids des zones de haute altitude et de haute latitude. Une phylogénie a été reconstruite à partir des séquences d'un grand nombre de souches de nodosités racinaires provenant des 3 continents de l'hémisphère nord et de 10 espèces d'aulnes différentes. Un intérêt tout particulier a été porté sur les aires géographiques où une plus forte diversité de *Frankia* était attendue, dans la zone d'origine de l'aulne (Asie) et ses refuges glaciaires (Corse, Europe Centrale).

Dans un second temps, nous avons étudié l'influence du partenaire végétal dans la distribution observée des *Frankia* Sp+ et l'implication du trait Sp+ dans la capacité d'association à l'hôte. Des croisements expérimentaux ont été réalisés au laboratoire afin de découpler les effets de l'espèce-hôte et du climat, et tester les implications du trait Sp+ en termes d'infectivité, compétitivité et spectre d'hôte.

Enfin, nous avons étudié les conséquences écosystémiques du complexe symbiotique *Alnus/Frankia*, au niveau de la diversité microbienne et du fonctionnement du cycle de l'azote, en fonction du phénotype de sporulation des souches associées, et au fur et à mesure de son expansion dans les milieux sub-/alpins. Des analyses pédologiques, en association avec des mesures de nitrification, dénitrification et fixation d'azote, ainsi que des analyses de diversité microbienne (globale et fonctionnelle), ont été réalisées dans différentes aulnaies Sp+, Sp- ou mixte, à différents stades de colonisation de l'aulne.

Dans chacune de ces parties, les ectomycorhizes de l'aulne ont été considérées afin de comparer les patrons de distribution entre les deux symbiontes et d'évaluer les interactions potentielles avec le génotype Sp+ de *Frankia*.

Les résultats obtenus démontrent une prédominance des souches Sp+ associées aux espèces d'aulne des milieux froids sur les 3 continents de la zone Holarctique, avec une diversité nouvelle dans l'aire d'origine et les zones refuges de l'aulne. L'homogénéité génétique de ces souches est très forte, mais des regroupements espèce-hôte spécifique émergent de la phylogénie. Les croisements effectués révèlent une infectivité et compétitivité plus forte des Sp+ par rapport aux Sp-. De plus, contrairement aux Sp- à spectre d'hôte très large, les Sp+ présentent un spectre limité entraînant des incompatibilités d'association et suggérant une dépendance forte à une espèce-hôte donnée. Pour la première fois les modifications des communautés microbiennes du sol en réponse à l'expansion du complexe symbiotique *Alnus/Frankia* ont été démontré, en lien avec la stimulation du cycle de l'azote dans les milieux sub-/alpins. Les premiers résultats sur l'efficacité comparée de la fixation d'azote *in natura* des souches Sp- par rapport aux Sp+ sont présentés. Ils suggèrent une efficacité maximale, avec près de 100% de l'azote de l'aulne obtenu par le biais de la fixation, mais aucun patron n'est mis en évidence entre souches Sp+ et Sp- contrairement aux attendus de la littérature, suggérant un effet plus complexe de la saisonnalité, de l'âge de l'arbre et de celui de la nodosité. L'ensemble des résultats obtenus nous permet de mieux appréhender les facteurs guidant la biogéographie de *Frankia* et de discuter de l'évolution de ces patrons de distribution en réponse au réchauffement climatique.