

Exploration des « hot spots » microbiologiques dans les interfaces de mélange de fluides par imagerie microfluidique

Mots clés : dynamique des fluides, microbiologie, imagerie microfluidique, transport réactif, biogéochimie

Stage de recherche et développement de 6 mois (Janvier - Juin 2019) à l'Observatoire des Sciences de l'Univers de Rennes (Bretagne, France) dans le cadre du projet européen ERC ReactiveFronts (<https://reactivefronts-erc.univ-rennes1.fr/>)

Supervision : Julien Farasin (IR), Antoine Hubert (doctorant), Hervé Tabuteau (CR CNRS), Yves Méheust (MC), Alexis Dufresne (CR CNRS) et Tanguy Le Borgne (CNAP).

Niveau : M2

Candidature et informations : julien.farasin@univ-rennes1.fr

Contexte

Les micro-organismes jouent un rôle essentiel dans les cycles biogéochimiques naturels dans les sols, les roches, les rivières et les océans (Taylor and Stocker, 2012, Menez et al., 2012, Battin et al. 2016, Borer et al. 2018). Par leur métabolisme, ils contrôlent la transformation, ainsi que le transport et la fixation des éléments chimiques – nutriments, gaz dissous, minéraux constituant les sols et les roches, contaminants – dans les différents compartiments de la terre (Chapelle 2001, Melton et al. 2014). L'activité des micro-organismes a donc des conséquences importantes sur l'évolution de la qualité de l'eau, l'érosion chimique des roches ou encore la remédiation des sols contaminés. Cependant, la compréhension de la dynamique des micro-organismes dans les fluides marins et terrestres, et de leur effet sur les cycles biogéochimiques, est à la frontière des connaissances actuelles (Edwards et al. 2012, Menez et al. 2012, Melton et al. 2014, Kallmeyer and Wagner, 2014).

Un nombre croissant d'observations ont montré que les micro-organismes se localisent dans des fronts réactifs, représentant des « hot spots » où ils prolifèrent du fait de conditions particulièrement favorables (Brune et al. 2000, McClain et al., 2003, Azam and Malfatti, 2007). La connaissance et la compréhension de la localisation et de la dynamique de ces fronts réactifs est un défi scientifique particulièrement important car ils peuvent déterminer les processus biogéochimiques de grande échelle, tels que le transport et la dégradation des contaminants, la consommation et la production des gaz à effet de serre comme le CO₂, ou l'altération des roches. Les interfaces de mélange entre des eaux oxiques (ex : eaux de rivières/océans) et anoxiques (ex : eaux souterraines), ont été identifiées comme des « hot spots » d'activité microbienne (McClain et al., 2003, Stegen et al. 2015). Cependant nos capacités d'observation de ces fronts réactifs sur le terrain sont limitées (Bochet et al., soumis) et la compréhension des processus microbiologiques dans les interfaces de mélange de fluides nécessite le développement de nouvelles approches interdisciplinaires.

L'émergence des techniques microfluidiques offre une opportunité pour explorer et mieux comprendre les interactions entre les processus microbiens et la dynamique des fluides à l'échelle micrométrique, qui est l'échelle à laquelle les micro-organismes perçoivent leur environnement et réagissent à ses fluctuations (Son et al. 2015, Yawata et al. 2016). Ces techniques permettent notamment d'étudier l'influence des écoulements et des gradients chimiques sur la dynamique des micro-organismes: distribution, déplacement, développement, activité métabolique (Coyte et al. 2017). Un nouveau laboratoire microfluidique a été créé dans cet objectif à l'Observatoire des Sciences de l'Univers (projet européen ERC ReactiveFronts <https://reactivefronts-erc.univ-rennes1.fr/>). Les premiers travaux ont montré l'influence des gradients de concentration sur la croissance de la bactérie modèle *Escherichia coli* (thèse en cours A. Hubert). Les recherches actuelles visent à reproduire les conditions de

développement de bactéries ferro-oxydantes présentes dans les interfaces de mélange entre des eaux anoxiques riches en fer réduit (eaux souterraines) et des eaux oxiques (eaux de surface). Ces bactéries jouent un rôle majeur dans les réactions biogéochimiques dans les milieux naturels (Melton et al. 2014, Bochet et al., soumis).

Un dispositif permettant de créer et visualiser un gradient d'oxygène a déjà été mis en place et son optimisation est en cours. L'objectif de ce stage sera d'étudier le développement de bactéries ferro-oxydantes dans le dispositif microfluidique en recréant des conditions de gradients d'oxygène et de fer dissous représentatives des milieux naturels. Des tests préliminaires seront réalisés en utilisant la bactérie *E. coli*, ce qui permettra à l'étudiant(e) de se familiariser avec les méthodes de traitement d'image et de statistiques destinées à la caractérisation de la dynamique microbienne. Les résultats attendus sont particulièrement novateurs car ils représenteront les premières données expérimentales permettant de quantifier les dynamiques de croissance bactérienne dans les interfaces de mélange de fluides.

Objectifs

Les objectifs du stage sont les suivants :

1. Maîtrise des méthodes de microfluidique en laboratoire, de la conception d'une cellule à sa fabrication puis à son utilisation.
2. Maîtrise des outils d'acquisition et de programmation pour le traitement d'image.
3. Mise en place d'un dispositif expérimental permettant la croissance de bactéries ferro-oxydantes dans des conditions d'écoulement et de gradient chimique contrôlés.
4. Caractérisation des interactions entre dynamique des fluides et croissance bactérienne .
5. Interprétation des données et comparaison avec les modèles développés par le doctorant

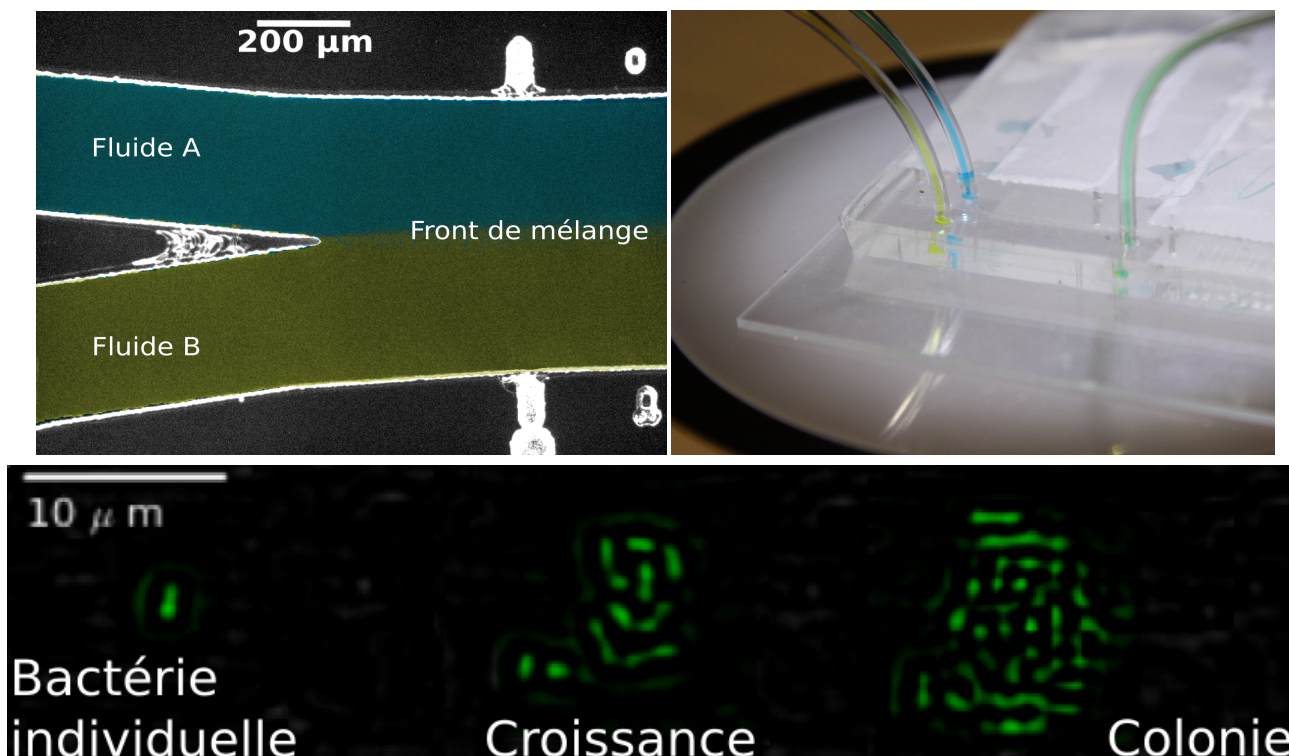


Figure 1: Au dessus, canal microfluidique de type 'coflow' créant un mélange réactif et des gradients de concentrations, images superposées en fluorescence à gauche et photo du dispositif microfluidique à droite. En dessous, croissance d'une micro-colonie de bactérie modèle *Escherichia Coli* sous écoulement microfluidique ($t = 0-4-6$ h), dans un milieu riche en glucose et homogène, images en champ clair après traitement.

Organisation

Le stage proposé s'inscrit dans le projet européen ERC "ReactiveFronts" porté par Tanguy Le Borgne (<https://reactivefronts-erc.univ-rennes1.fr/>). Le ou la stagiaire s'insérera dans une équipe interdisciplinaire composée de 4 chercheurs, 2 post-doctorants, 4 doctorants, sur le campus Beaulieu de l'Université Rennes 1. Le stagiaire travaillera en proche collaboration avec d'autres chercheurs et stagiaires du laboratoire et des laboratoires partenaires (Ecobio et Institut de Physique de Rennes), lui permettant notamment de mettre en perspective les résultats expérimentaux obtenus. Le stage pourra être poursuivi par une thèse de doctorat à Rennes financée par l'ERC ReactiveFronts.

Caractéristiques du stage

- Niveau : M2
- Durée : 6 mois
- Possibilité de poursuite en thèse : oui

Profil recherché

- Intérêts pour la pluridisciplinarité (écologie microbienne, mécanique des fluides, géochimie, informatique ...)
- Intérêt pour l'expérimentation en laboratoire
- Facilité à interagir avec les membres d'une équipe
- Aptitudes au travail de laboratoire et à la programmation informatique

Compétences requises

- Notions en mécanique des fluides
- Programmation Python ou Matlab appliquée au traitement d'image
- Bonne pratique de l'anglais

Dossier de Candidature

- Lettre de Motivation et CV
- Notes de M1 et/ou de M2 premier semestre
- Contact d'un professeur référent

Candidature à faire parvenir à : julien.farasin@univ-rennes1.fr

Extraits de bibliographie relative au sujet :

- Azam, F. & Malfatti, F. (2007). Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Reviews Microbiology* 5, 782-791.
- Battin, T. J., Besemer, K., Bengtsson, M. M., Romani, A. M. & Packmann, A. I. The ecology and biogeochemistry of stream biofilms. *Nature Reviews Microbiology* 14, 251-263 (2016).
- Bochet, O., Bethencourt, L., Dufresne, A., Farasin, J., Pedrot, M., Labasque, T., Chatton, E., Lavenant, N., Petton, C., Abbott, B. W., Aquilina, L. and Le Borgne, T. (under review) Fractures sustain dynamic microbial hotspots in the subsurface, under review in *Nature Geoscience*
- Borer, B., Tecon, R. & Or, D. (2018). Spatial organization of bacterial populations in response to oxygen and carbon counter-gradients in pore networks. *Nature Communications* 9(1), 769.
- Brune, A., Frenzel, P. & Cypionka, H. Life at the oxic anoxic interface: microbial activities and adaptations. *FEMS Microbiology Reviews* 24, 691-710 (2000).
- Chapelle, F. *Ground-Water Microbiology and Geochemistry* (John Wiley and Sons, 2001).
- Coyte, K. Z., Tabuteau, H., Gaffney, E. A., Foster, K. R. & Durham, W. M. (2017). Microbial competition in porous environments can select against rapid biofilm growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114(2), E161-E170.
- Edwards, K. J., Becker, K. & Colwell, F. The deep, dark energy biosphere: intraterrestrial life on earth. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 40, 551-568 (2012).
- Kallmeyer, J. & Wagner, D. *Microbial Life of the Deep Biosphere* (De Gruyter, 2014).
- McClain, M. et al. (2003). Biogeochemical hot spots and hot moments at the interface of terrestrial and aquatic ecosystems. *Ecosystems* 6, 301-312.
- Melton, E. D., Swanner, E., Behrens, S., Schmidt, C. & Kappler, A. The interplay of microbially mediated reactions in the biogeochemical Fe cycle. *Nature Reviews Microbiology* 12, 797-808 (2014).
- Menez, B., Pasini, V. & Brunelli, D. Life in the hydrated suboceanic mantle. *Nature Geoscience* 5, 133-137 (2012).
- Son K., Brumley D.R. and Stocker R., 2015, "Live from under the lens: exploring microbial motility with dynamic imaging and microfluidics", *Nature Reviews Microbiology*, 13, 761-775.
- Stegen, J. C. et al. Groundwater-surface water mixing shifts ecological assembly processes and stimulates organic carbon turnover. *Nature Communications* 7, 11237 (2015).
- Taylor, J. R. & Stocker, R. (2012). Trade-offs of chemotactic foraging in turbulent water. *Science* 338, 675.
- Yawata, Y., Nguyen, J., Stocker, R., & Rusconi, R. (2016). Microfluidic studies of biofilm formation in dynamic environments. *Journal of bacteriology*, 198(19), 2589-2595.