



**HAL**  
open science

# Exploration de la diversité des virus d'archées méthanogènes dans les procédés de digestion anaérobie, par des approches isotopiques et métagénomiques

Ariane Bize

► **To cite this version:**

Ariane Bize. Exploration de la diversité des virus d'archées méthanogènes dans les procédés de digestion anaérobie, par des approches isotopiques et métagénomiques. 10ème Colloque de l'Association Francophone d'Ecologie Microbienne, AFEM (Association Francophone d'Ecologie Microbienne), Nov 2021, Marseille, France. hal-04359744

**HAL Id: hal-04359744**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04359744>**

Submitted on 21 Dec 2023

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

INRAE

➤ Exploration de la diversité des virus d'archées  
méthanogènes dans les procédés de digestion  
anaérobie, par des approches isotopiques et  
métagénomiques

Ariane Bize - [ariane.bize@inrae.fr](mailto:ariane.bize@inrae.fr)



Association francophone d'écologie microbienne

10<sup>ème</sup> Colloque de l'Association  
Francophone d'Écologie Microbienne

15-19 Novembre 2021



Aix-Marseille  
Université  
Société engagée



Centre National de la Recherche Scientifique  
Institut de Recherche pour la Transition  
Environnementale  
Aix-Marseille Université



Centre National de la Recherche Scientifique  
Institut de Recherche pour la Transition  
Environnementale  
Aix-Marseille Université



Centre National de la Recherche Scientifique  
Institut de Recherche pour la Transition  
Environnementale  
Aix-Marseille Université

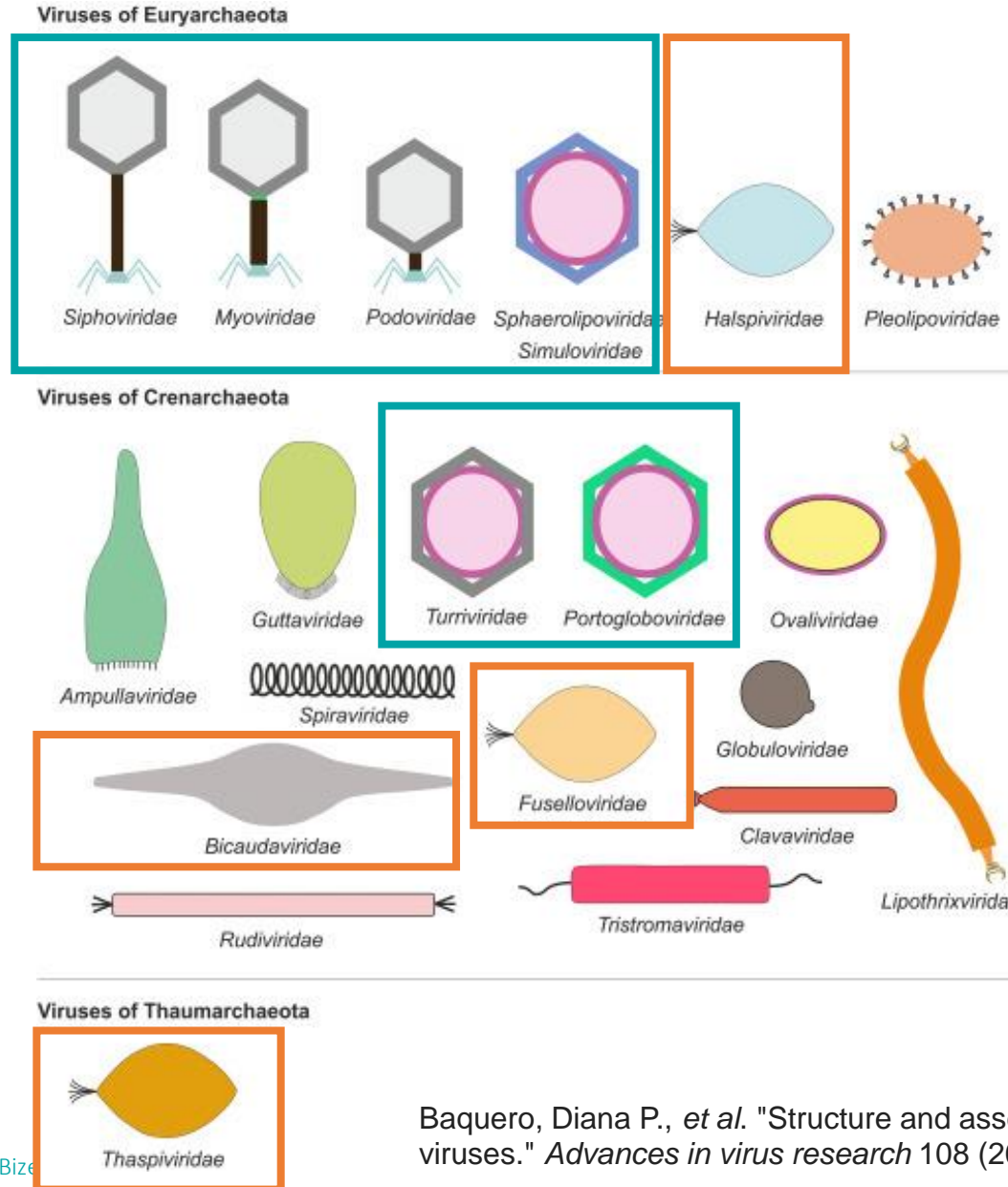


Centre National de la Recherche Scientifique  
Institut de Recherche pour la Transition  
Environnementale  
Aix-Marseille Université



Centre National de la Recherche Scientifique  
Institut de Recherche pour la Transition  
Environnementale  
Aix-Marseille Université

# ➤ La grande diversité des virus d'archées ...

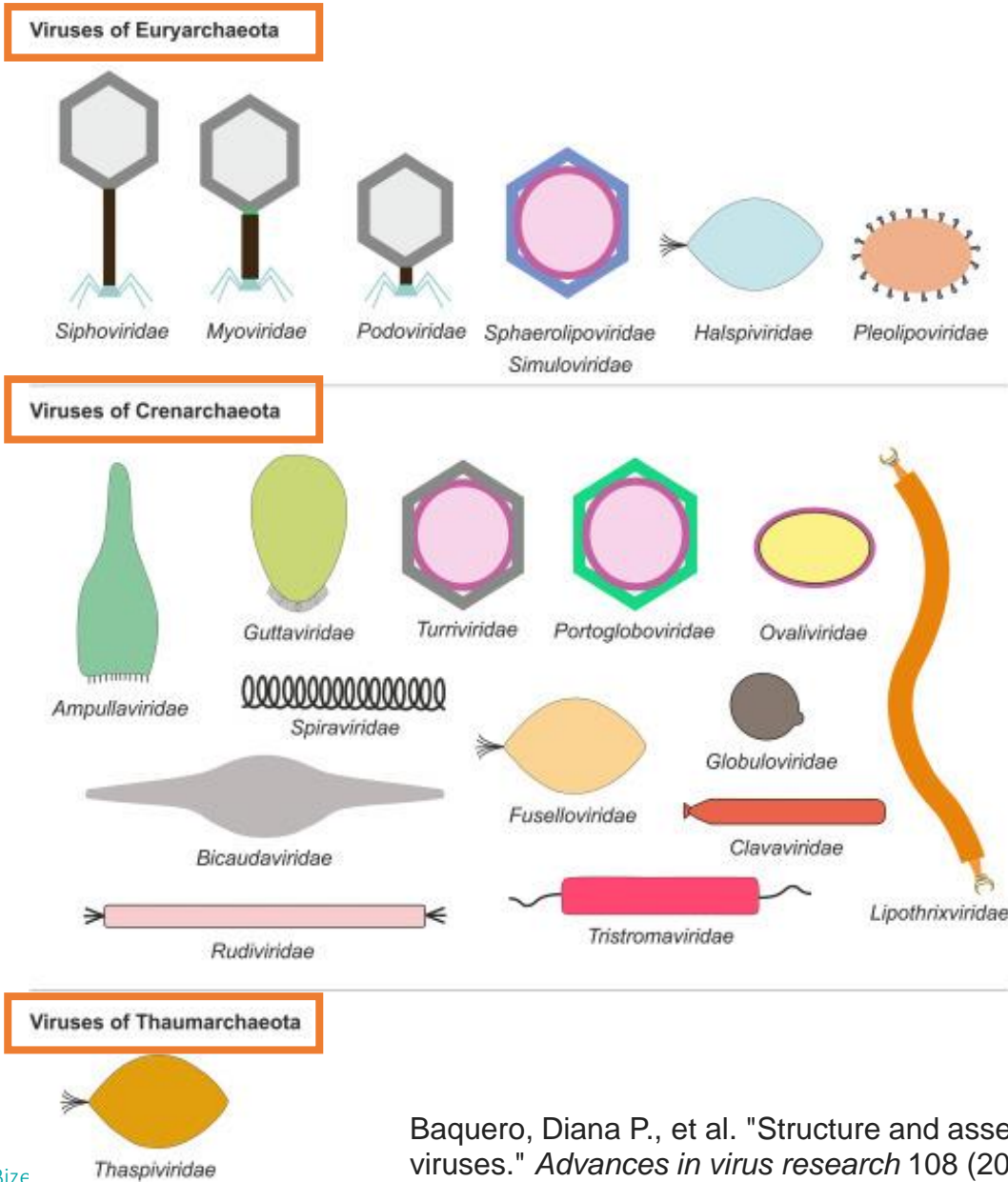


INRAE

AFEM 2021  
15/11/2021 - Ariane Bize

Baquero, Diana P., et al. "Structure and assembly of archaeal viruses." *Advances in virus research* 108 (2020): 127-164.

# > ... n'est que partiellement caractérisée

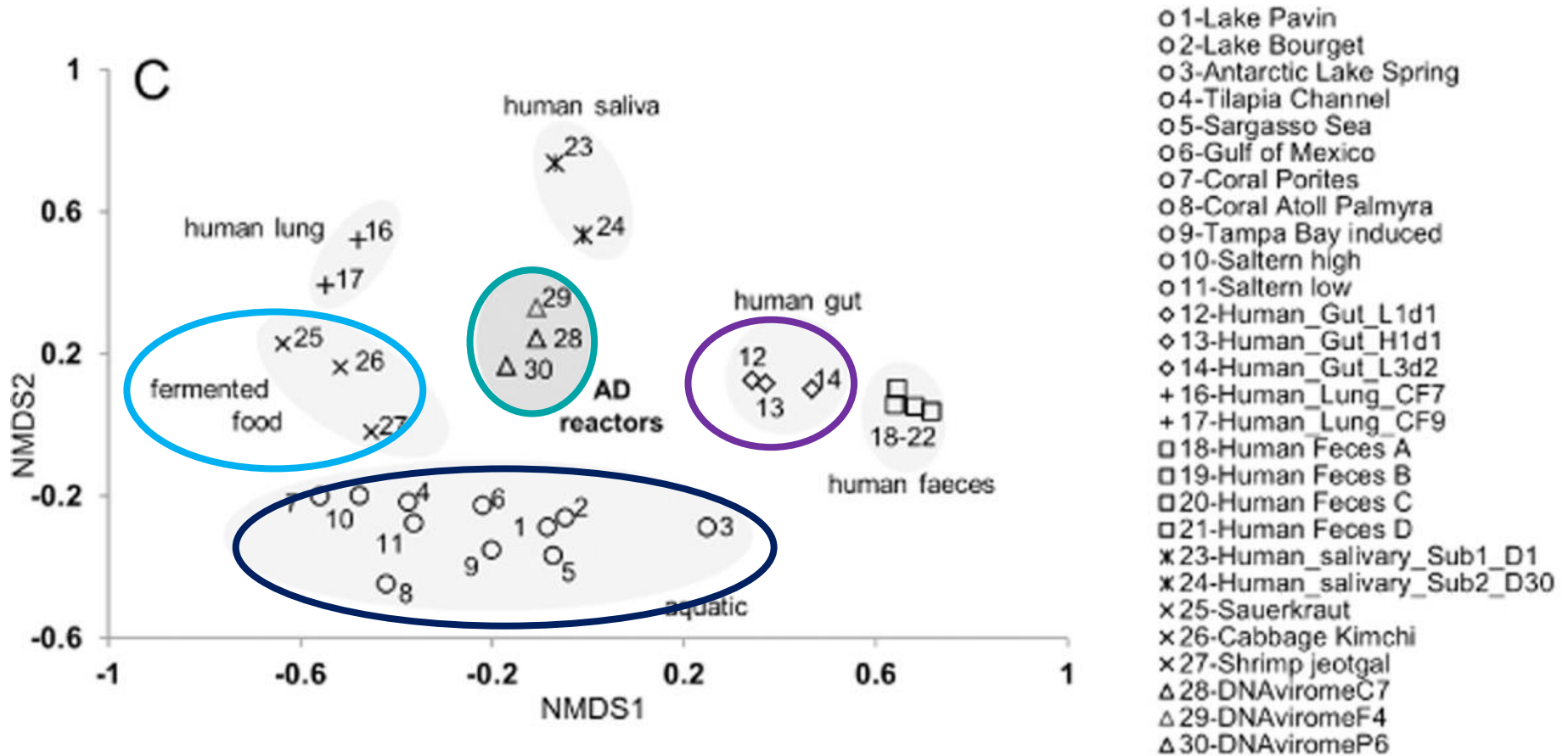


INRAE

AFEM 2021  
15/11/2021 - Ariane Bize

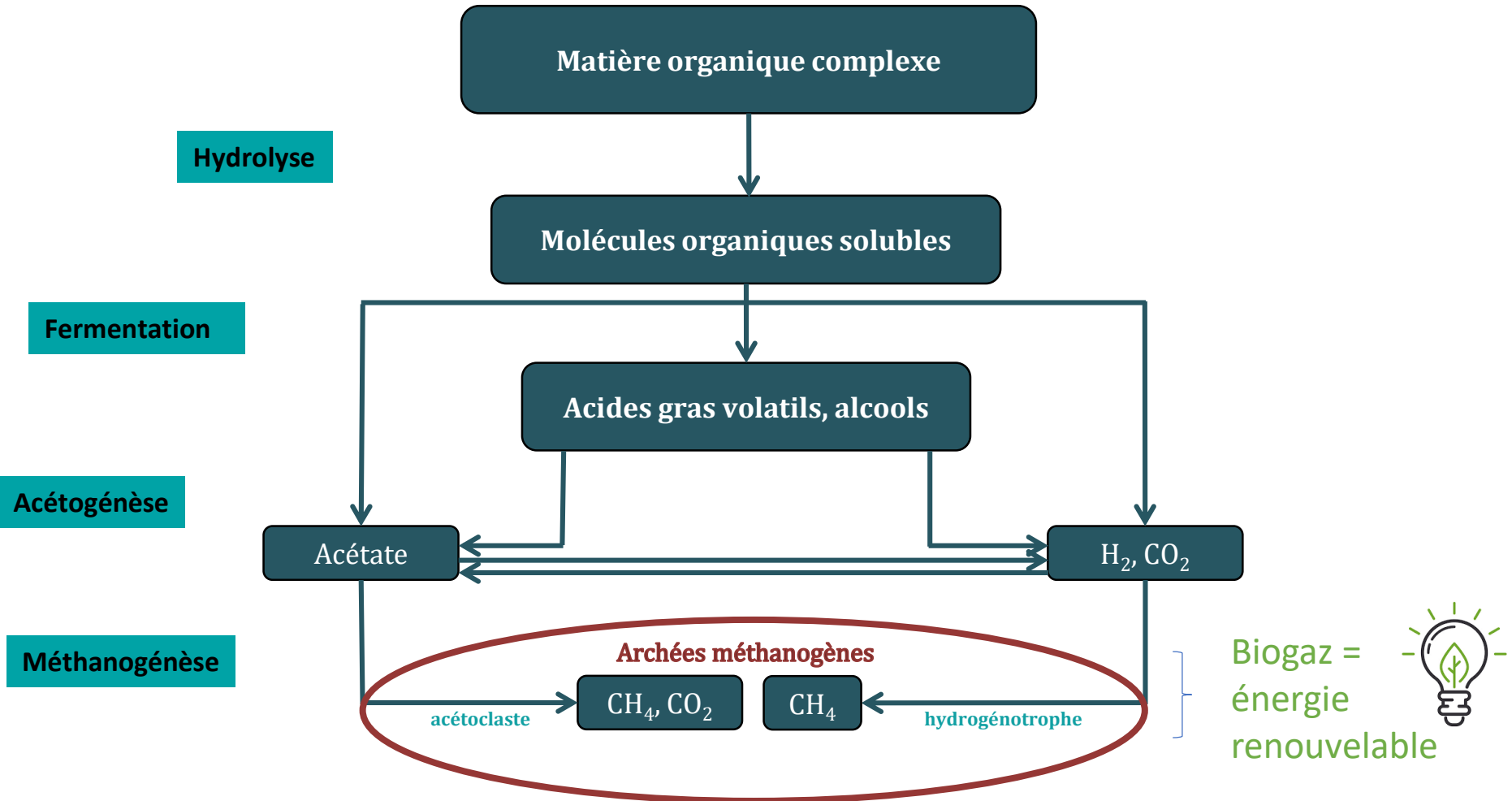
Baquero, Diana P., et al. "Structure and assembly of archaeal viruses." *Advances in virus research* 108 (2020): 127-164.

# ➤ Un fort potentiel de découverte de nouveaux virus dans les procédés de digestion anaérobie ...



Calusinska, Magdalena, et al *Environmental microbiology* 18.4 (2016): 1162-1175.

# > ... en particulier de virus d'archées méthanogènes



# ➤ Comment étudier les virus d'archées méthanogènes des méthaniseurs ?

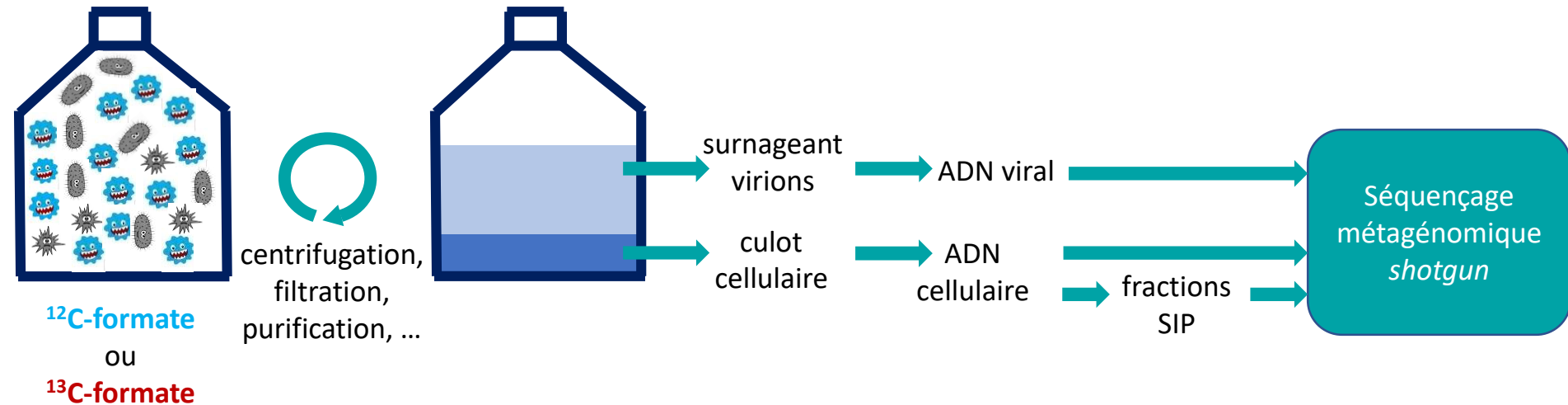
Verrous et solutions



- Archées minoritaires (typiquement 10%)
  - ➔ **Enrichissement en microcosmes avec un substrat de méthanogène**
- Nécessité de pouvoir différencier les virus des populations actives – non actives
  - ➔ **Marquage à l'aide d'isotopes stables (Stable Isotope Probing)**
- Lien hôte – virus difficile à établir au sein d'une communauté complexe
  - ➔ **Approches bioinformatiques ciblées**



# ➤ Analyse des ADN cellulaires et viraux

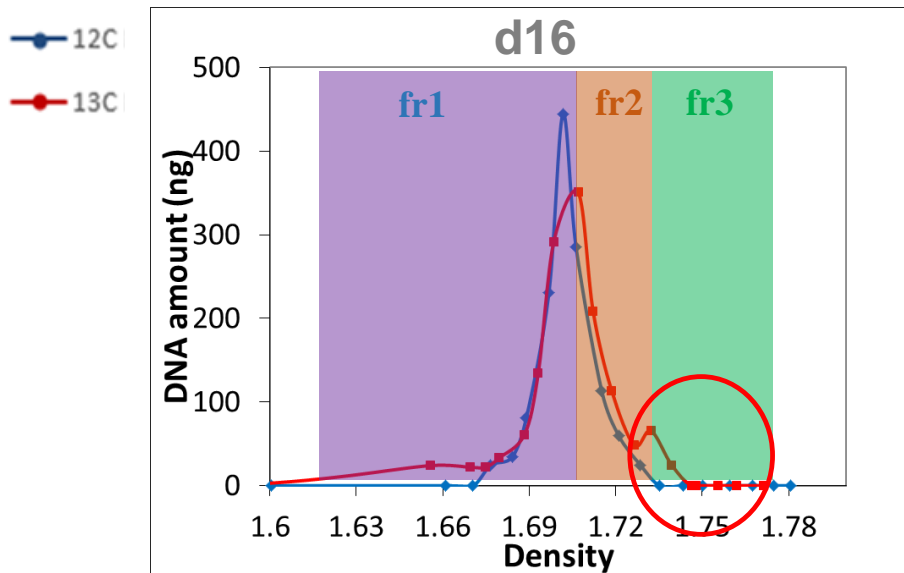


Résultat : une production importante de méthane est observée,  
comme attendu → archées méthanogènes actives



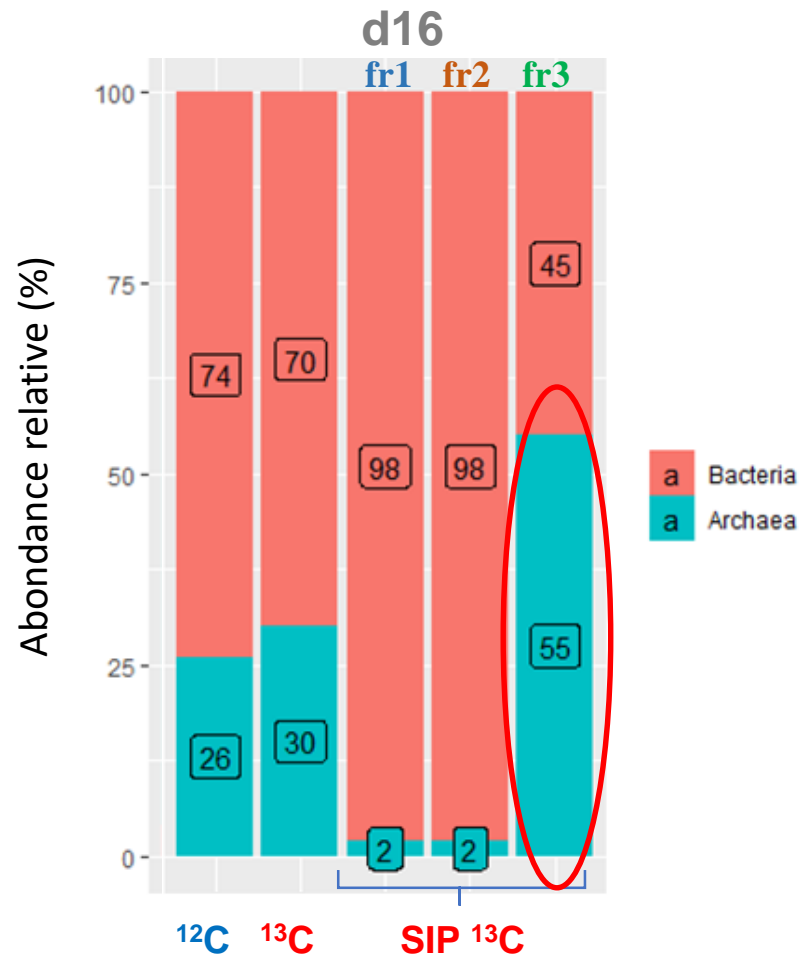
# ➤ Les archées sont bien enrichies en $^{13}\text{C}$

Profils de densité des ADN cellulaires



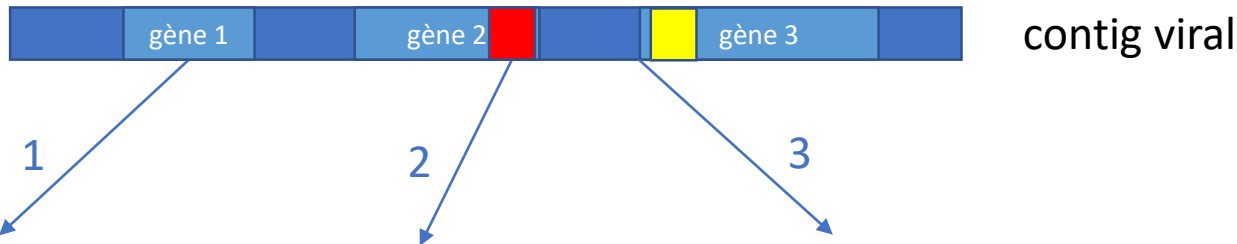
fr1:  $^{12}\text{C}$  DNA  
 fr2: Overlap  $^{12}\text{C}$  -  $^{13}\text{C}$  DNA  
 fr3:  $^{13}\text{C}$  DNA

Métabarcoding ADNr 16S des ADN cellulaires



Résultat : 55% d'archées dans la fraction lourde  
 Archée dominante = *Methanobacterium*

# ➤ Prédiction *in silico* des hôtes pour les contigs viraux



**Annotation**  
taxonomique  
Annotation  
fonctionnelle  
des gènes



**Systèmes CRISPR**  
Présence de  
protospacers :  
base de données  
constituée de spacers  
détectés dans les contigs  
cellulaires + bases de  
données publiques



**Composition en k-mers (WiSH)** du  
contig similaire à celle de l'hôte :  
utilisation des *metagenome-assembled  
genomes* (MAGs) reconstitués à partir  
des contigs cellulaires

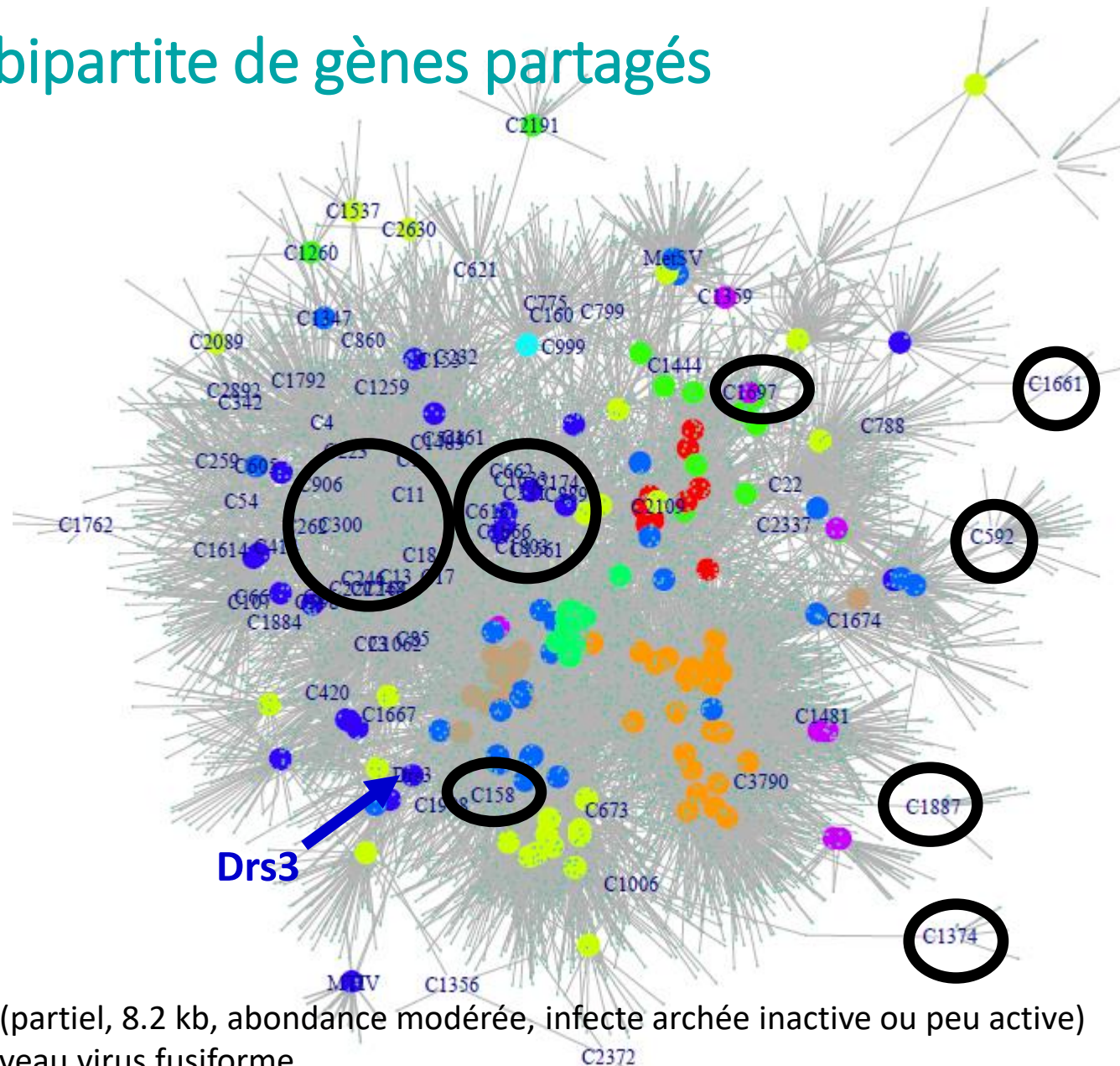


k-mer	MAG1	MAG2	MAG3
AAAA	2	8	7
AAAC	10	1	4
AAAG	5	3	8
...	...	...	...

Résultat: 85 contigs d'intérêt,  
susceptibles de provenir de virus  
d'archées méthanogènes

# ➤ Réseau bipartite de gènes partagés

- Fuselloviridae
- Lipothrixviridae
- magrovirus
- autres virus hyperthermophiles
- Pleolipoviridae
- Rudiviridae
- virus d'ANME
- autres virus halophiles
- virus de méthanogènes
- virus de thaumarchées



C1697 (partiel, 8.2 kb, abondance modérée, infecte archée inactive ou peu active)  
 → nouveau virus fusiforme

C158 (complet, 42.5 kb, abondant, infecte archée active et dominante)  
 → classe Caudoviricetes, « proche » Drs3



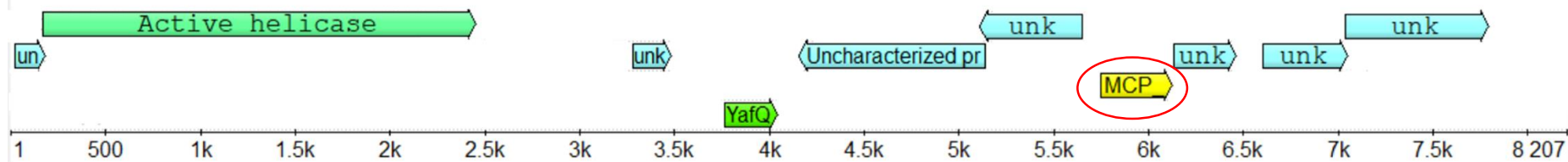
**INRAE**

AFEM 2021

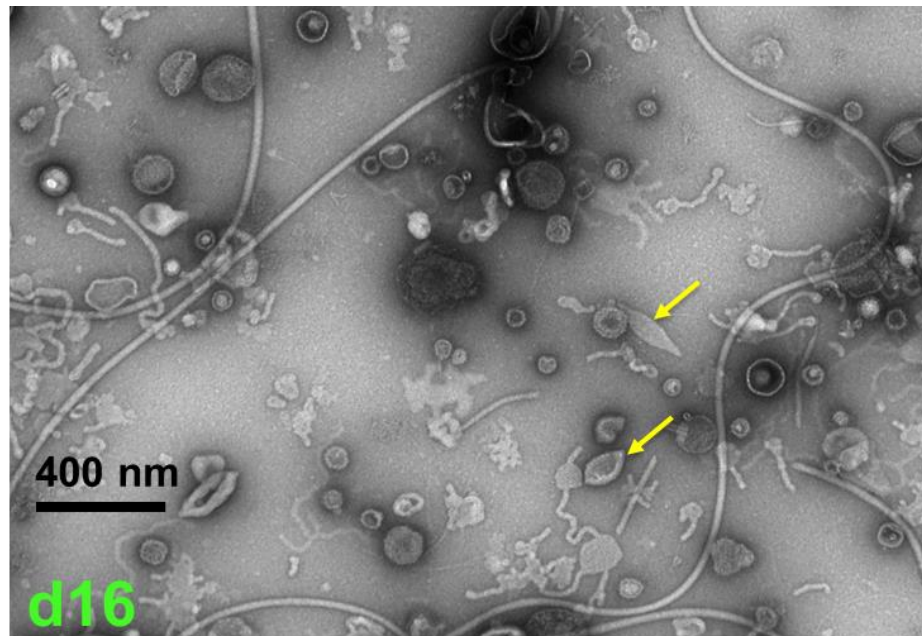
15/11/2021 - Ariane Bize

# ➤ Un virus putatif fusiforme infectant *Methanosarcina*



MCP\_S: Major capsid protein SSV1\_like  
yaFQ: mRNA interferase



Carte des gènes du contig C1697



## ➤ Conclusions

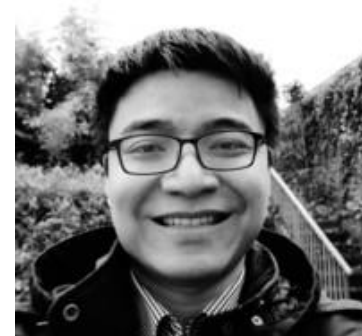
- Découverte de nouveaux virus putatifs d'archées méthanogènes, confirmant l'intérêt des écosystèmes de digesteurs anaérobies
  - Plusieurs virus caudés, de genres nouveaux 
  - Virus fusiforme 
  - pourrait constituer une nouvelle famille
  - contribue à montrer la distribution globale de ce morphotype viral chez les archées

## ➤ Perspectives

- Première étape pour étudier les relations écologiques entre les virus d'archées méthanogènes et leurs hôtes
  
- Activation d'archées méthanogènes différentes, et des virus associés, en utilisant un autre substrat de méthanogenèse, le méthanol

# ➤ Remerciements

Hoang Ngo



Université Clermont Auvergne –  
LMGE

François Enault



Université Paris Saclay  
INRAE – PROSE

Cédric Midoux  
Chrystelle Bureau  
Angeline Guenne  
Nadine Derlet  
Laurent Mazéas  
Olivier Chapleur  
Théodore Bouchez



Institut Pasteur – Archaeal Virology

Mart Krupovic



Université Paris Saclay – INRAE – MaIAGE  
Plate-forme de bioinformatique MIGALE

Mahendra Mariadassou  
Valentin Loux

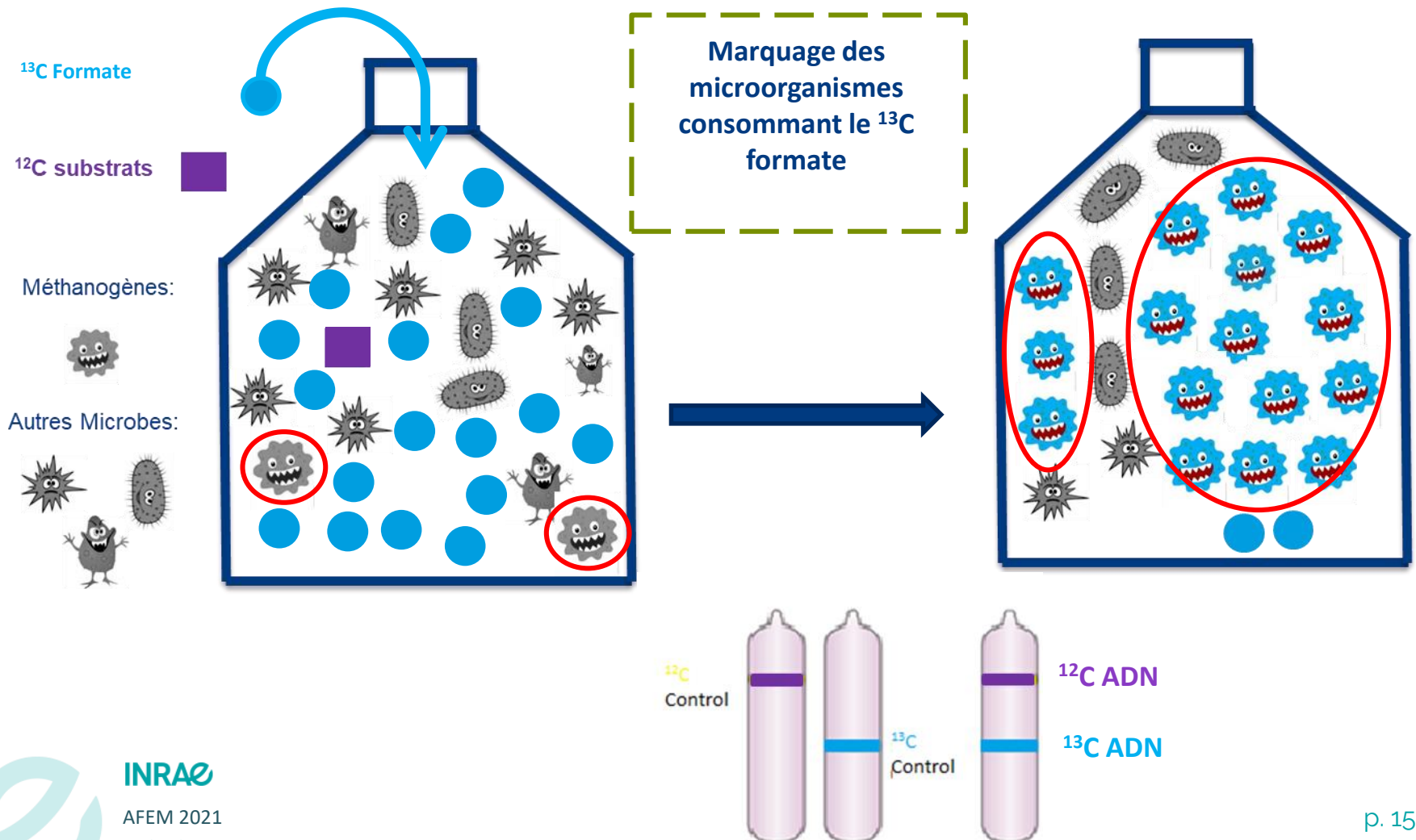
INRAE

AFEM 2021

15/11/2021 - Ariane Bize

# ➤ Comment différencier les microorganismes actifs et non-actifs ?

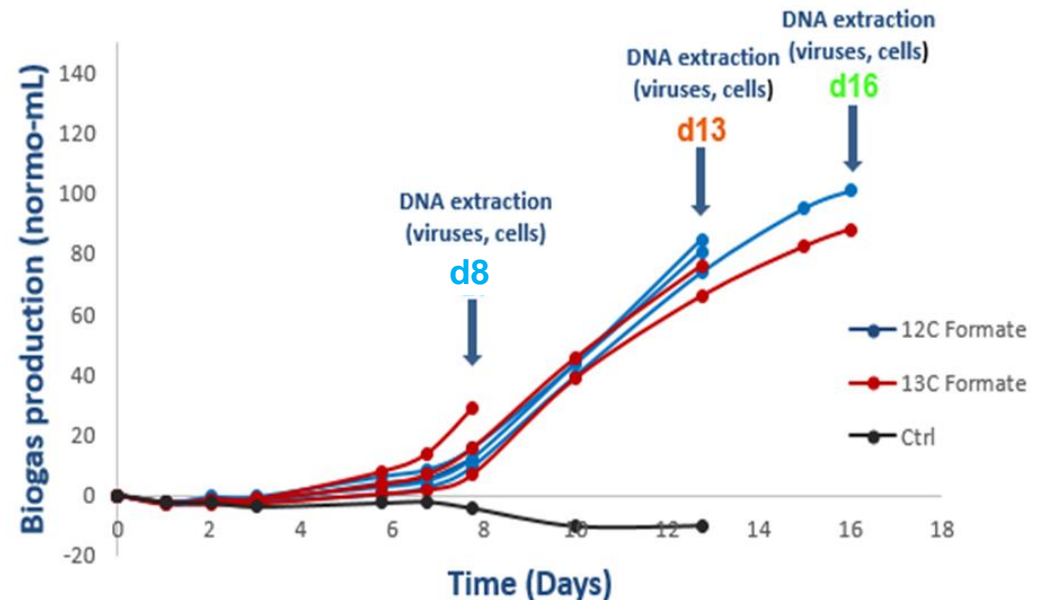
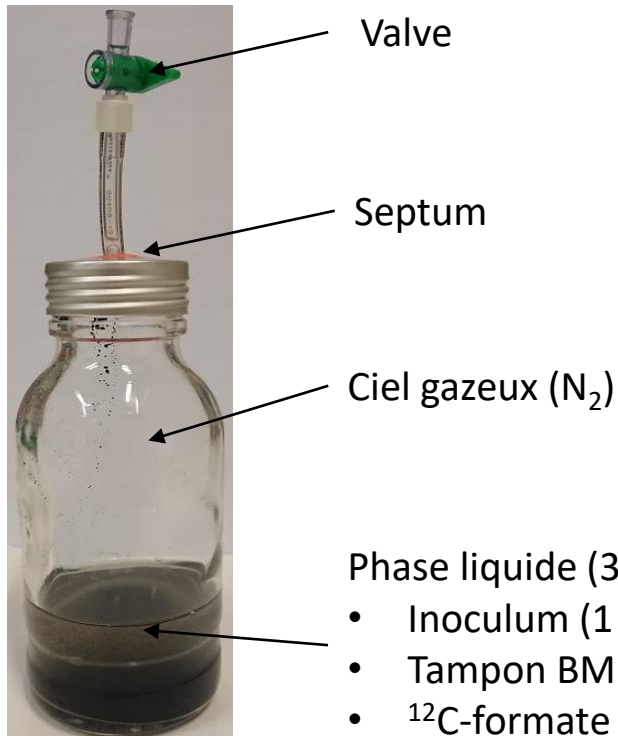
Stable Isotope Probing (SIP)





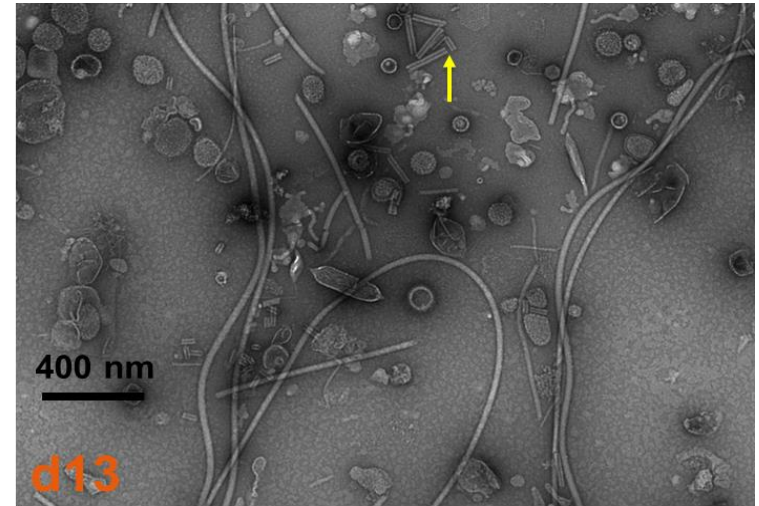
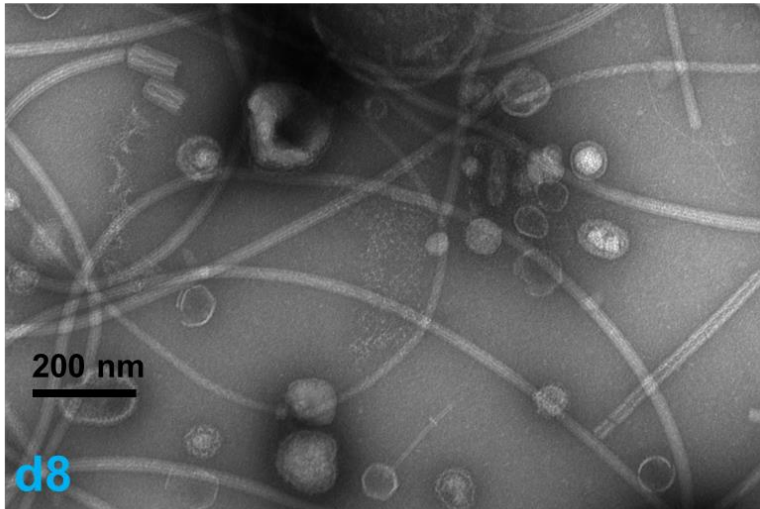
# ➤ Enrichissement à l'aide d'incubations en microcosmes

- Six microcosmes (dont 3 avec  $^{12}\text{C}$ -formate, 3 avec  $^{13}\text{C}$ -formate comme substrat)
- Volume : 300 mL

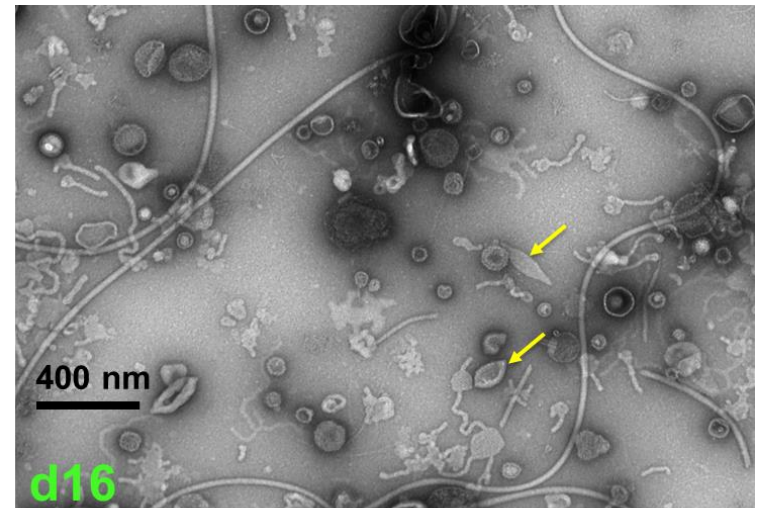


# ➤ Une grande diversité de particules virales

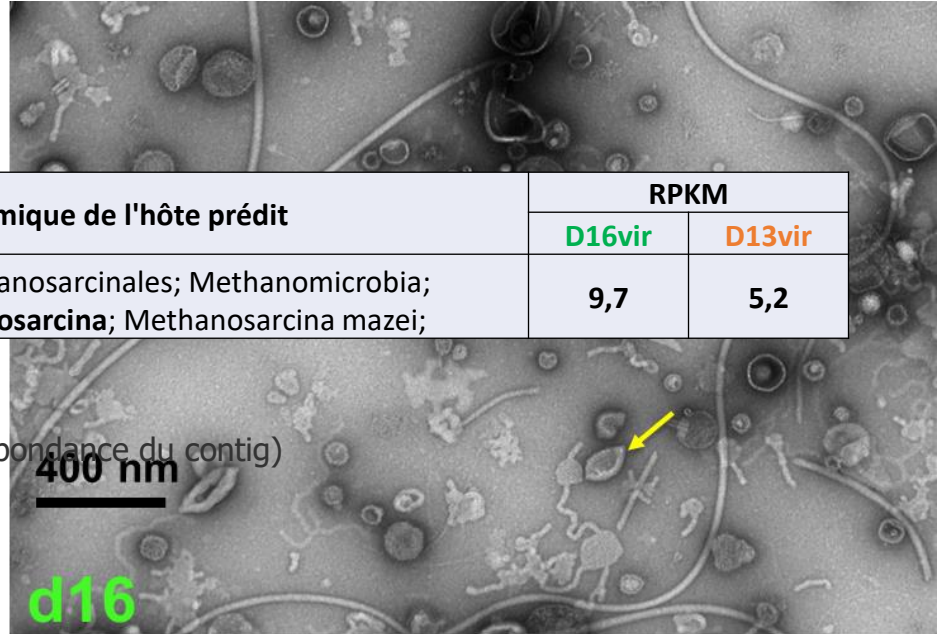
Observation des particules « virus-like » (MET)



- Grande diversité virale à d13 et d16
- Présence des morphotypes spécifiques des virus d'archées



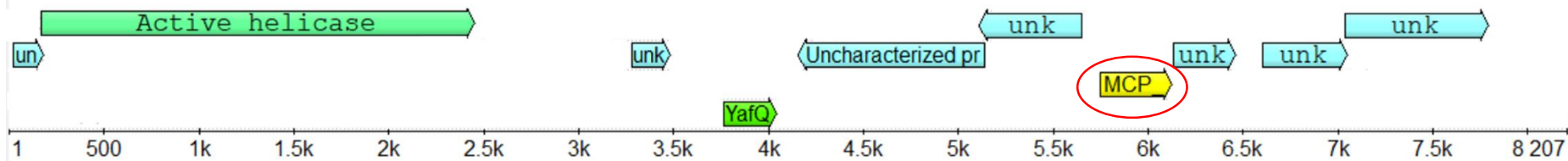
# ➤ Un virus putatif fusiforme infectant *Methanosarcina*



Longueur (kb)	Annotation taxonomique de l'hôte prédit	RPKM	
		D16vir	D13vir
8,2	Archaea; Euryarchaeota; Methanosarcinales; Methanomicrobia; Methanosarcinaceae; <b>Methanosarcina</b> ; Methanosarcina mazei;	9,7	5,2

(\*)RPKM: Reads Per Kilobase Million (indice d'abondance du contig)

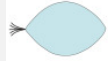


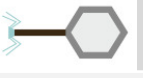



*MCP\_S*: Major capsid protein SSV1\_like  
*yaFQ*: mRNA interferase



Carte des gènes du contig C1697

## ➤ Conclusions

Une nouvelle famille de virus fusiforme infectant des archées méthanogènes ?

Ordre de l'hôte	Nom	Taille génome	Morphotype	Origine
Methanosarcinales	MetFV?	?		méthaniseur mésophile
Methanosarcinales	MetSV	10.6 kb		méthaniseur mésophile
Methanobacterales	ψM1/ψM2 φF1 φF3	27 / 26.3 kb 85 ± 5 kb 36 ± 2 kb		méthaniseur thermophile
Methanobacterales	Drs3	37 kb		methaniseur mésophile
Methanococcales	MFTV1	31 kb		sources hydrothermales océaniques profondes
Methanococcales	A3 VLP	26 kb		provirus
Methanococcales	MVV	12 kb		provirus

