

Offre de stage	<b>Stagiaire « Master 2 en biologie / microbiologie » – LSV unité de mycologie (H/F)</b>
Période du stage	<b>Stage conventionné de 6 mois, à temps plein Période de février à août 2024, début et fin à déterminer.</b>
Localisation	<b>Malzéville (54220)</b>

## L'AGENCE

L'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) assure des missions de veille, d'expertise, de recherche et de référence sur un large champ couvrant la santé humaine, la santé et le bien-être animal, et la santé végétale. Elle offre une lecture transversale des questions sanitaires et appréhende ainsi, de manière globale, les expositions auxquelles l'Homme peut être soumis à travers ses modes de vie et de consommation ou les caractéristiques de son environnement, y compris professionnel.

L'Anses informe les autorités compétentes, répond à leurs demandes d'expertise. L'Agence exerce ses missions en étroite relation avec ses homologues européens.

### L'Anses en chiffres

- 1400 agents et 800 experts extérieurs
- Budget annuel : 141 millions d'euros
- Plus de 14 000 avis émis depuis l'origine (1999)
- 66 mandats de référence nationale
- 394 publications scientifiques par an
- Plus de 100 doctorants et post-docs

Pour en savoir plus : [www.anses.fr](http://www.anses.fr)

## DESCRIPTION DU STAGE

### Entité d'accueil

Le Laboratoire de la Santé des Végétaux, dont la direction est localisée à Angers, comporte six sites différents en France. Le poste proposé est à Nancy, dans l'unité de mycologie. Cette unité est le Laboratoire National de Référence (LNR) et laboratoire de référence de l'Union Européenne (LRUE) pour les champignons et oomycètes phytopathogènes

Vous rejoindrez pour ce stage une équipe de 13 personnes qui accueille également régulièrement des étudiants en Master et en Doctorat.

Les travaux de recherche de l'unité couvrent le développement et la validation d'outils pour la détection et l'identification de champignons / oomycètes phytopathogènes importants et la contribution à l'épidémiologie. L'unité fait partie du LabEx ARBRE et est une unité sous contrat INRAE (USC1480).

### Objectif

Les champignons et les organismes apparentés aux champignons, comme les oomycètes, comptent parmi les organismes les plus diversifiés de la planète. Ils peuvent se développer dans presque tous les écosystèmes terrestres en tant que saprophytes, mutualistes ou pathogènes pour les plantes. Lorsqu'ils se développent en tant qu'agents pathogènes des plantes, les conséquences peuvent être dramatiques, car ils peuvent avoir un impact sur les environnements naturels et artificiels tels que les forêts et les systèmes agricoles. La diversité des champignons et des oomycètes constitue l'un des défis de l'évaluation des invasions biologiques qu'ils provoquent. Les "vrais" champignons constituent par exemple un groupe extraordinairement riche.

Parmi les invasions fongiques les plus remarquables en Europe, on peut citer par exemple les pathogènes *Ophiostoma ulmi*, *Hymenoscyphus fraxineus* et *Phytophthora ramorum*, jusqu'alors inconnus, qui ont mis en péril les écosystèmes naturels de l'Europe.

Dans le cadre de la surveillance sanitaire, il est fondamental de pouvoir identifier avec précision ces pathogènes végétaux. En effet, à partir de l'identification précise d'un champignon, il est possible de savoir s'il est déjà présent dans la région que l'on souhaite protéger, s'il est qualifié de dangereux et potentiellement capable de causer des dommages inacceptables à la sylviculture ou à l'environnement. En conséquence, les autorités phytosanitaires peuvent ordonner la destruction du matériel végétal contaminé ou l'éradication des foyers. Il est donc nécessaire de disposer des moyens de détecter et d'identifier ces agents pathogènes lorsqu'ils sont présents dans ou avec les végétaux ou produits végétaux transportés.

Au cours des dernières décennies, le concept d'espèce en mycologie a considérablement évolué et, sans avoir abandonné le principe de l'identification basée sur la morphologie, il est désormais admis que l'identification taxonomique précise d'un champignon nécessite une approche polyphasique combinant la morphologie, l'écologie et des données génétiques telles que l'analyse de concordance généalogique phylogénétique.

L'identification précise d'un champignon phytopathogène ou d'un oomycète peut être obtenue en analysant la séquence de certains marqueurs génétiques (codes-barres) et en les comparant à des bases de données. Bien qu'en expansion, ces bases de données sont encore largement sous-représentatives de l'énorme diversité taxonomique des champignons. De plus, la taille de ces marqueurs (plusieurs centaines de bases) est souvent un obstacle à leur séquençage en routine avec les technologies utilisées jusqu'à présent.

Enfin, la plupart de ces marqueurs taxonomiques sont situés dans l'opéron de l'ADN ribosomique, c'est-à-dire SSU (18S), ITS, 5,8S, LSU (28S), IGS. La taille de ces derniers (>8 kB) signifie qu'ils ne peuvent pas être séquencés simultanément pour une souche donnée à l'aide de la première génération de séquençage Sanger ou de la deuxième génération de techniques de séquençage à haut débit telles que Illumina MiSeq. En conséquence, les bases de données sont souvent incomplètes ou fragmentées, et l'ensemble des codes-barres résolvant les opérons ADN n'est souvent pas disponible pour une souche ou une espèce donnée. L'utilisation de séquenceurs de troisième génération comme le dispositif Oxford Nanopore MinION, qui permet le séquençage de longs fragments d'ADN, est prometteuse car elle peut être réalisée à l'échelle du laboratoire et devrait permettre l'amplification de l'opéron entier, y compris ses multiples marqueurs, en une seule fois.

Dans le cadre de ce stage et du projet BARBARIC, vous aurez à :

- i) Tester les amorces PCR décrites dans la littérature pour leur capacité à amplifier tout ou partie de l'opéron de l'ADN ribosomique chez les champignons et probablement d'autres chez les oomycètes (*Phytophthora*), c'est-à-dire la succession des marqueurs SSU, ITS, LSU, IGS. Si nécessaire (par exemple pour les *Phytophthoras*), concevoir de nouveaux marqueurs plus efficaces.
- ii) Optimiser le pipeline bioinformatique permettant la correction et l'assemblage de la séquence complète de l'opéron ADN.
- iii) Comparer les données de séquençage MinION aux séquences de référence produites par la technologie de séquençage Sanger, afin d'évaluer le taux d'erreur.
- iv) Évaluer le séquençage MinION sur des échantillons produits artificiellement (communautés artificielles) afin d'évaluer l'effet d'une matrice d'ADN biologique (végétaux, pièges à spores, etc.)
- v) Tester la méthode de séquençage MinION développée et optimisée sur des échantillons naturellement contaminés (ADN environnemental) et les comparer à des résultats déjà disponibles au laboratoire avec la technique MiSeq.

## PROFIL RECHERCHÉ

**Diplôme en cours** Formation supérieure en biologie / microbiologie (Master 2 ou dernière année d'école d'ingénieur)

**Compétences**

- Maîtrise des outils de microbiologie / biologie moléculaire (e.g. Séquençage, génomique, PCR)
- Bonne maîtrise de l'anglais oral et écrit
- Appétence pour les outils de bio-informatique

## POUR POSTULER

**Date limite de réponse : 31/12/2023**

**Renseignements sur le stage :** Jaime AGUAYO, Chargé de projets de recherche : [jaime.aguayo@anses.fr](mailto:jaime.aguayo@anses.fr) ou

Marylise Marchand, Chargée de projets scientifiques et techniques :

[marylise.marchand@anses.fr](mailto:marylise.marchand@anses.fr)

**Adresser les candidatures par courriel (lettre de motivation + cv) en indiquant la référence Stage-2023-039 à :**

[jaime.aguayo@anses.fr](mailto:jaime.aguayo@anses.fr) et [marylise.marchand@anses.fr](mailto:marylise.marchand@anses.fr)