

THESE DE DOCTORAT

NANTES UNIVERSITE

ECOLE DOCTORALE N° 642

Ecole doctorale Végétal, Animal, Aliment, Mer, Environnement

Spécialité : Microbiologie - Immunologie

Par

Pauline CRETIN

Ecophysiologie et importance de bactéries Diazotrophes Non Cyanobacteriennes (DNCs) marines

Thèse présentée et soutenue à Nantes, le Vendredi 24 Octobre 2025

**Unité de recherche : Unité des Sciences Biologiques et Biotechnologies, US2B – UMR 6286
Laboratoire des sciences de l'environnement marin, LEMAR – UMR 6539**

Rapporteurs avant soutenance :

Amel LATIFI	Professeure des Universités, LCB, Aix-Marseille Université
Julie LELOUP	Maître de Conférences, iEES, Sorbonne Université

Composition du Jury :

Examineurs :	Alain DUFOUR	Professeur, LBCM, CNRS, Université Bretagne Sud
	Philippe SIMIER	Professeur, US2B, CNRS, Nantes Université
	Tom DELMONT	Chargé de Recherche, LAGE, CNRS, Evry – Courcouronnes
	Amel LATIFI	Professeure des Universités, LCB, Aix-Marseille Université
	Julie LELOUP	Maître de Conférences, iEES, Sorbonne Université

Directeur de thèse	François DELAVAT	Maître de conférences, US2B, CNRS, Nantes Université
--------------------	------------------	--

Invité :

Encadrant	Jean-François MAGUER	Maître de conférences, LEMAR, CNRS, Université Bretagne Occidentale
-----------	----------------------	---

Titre : Ecophysiologie et importance de bactéries Diazotrophes Non Cyanobacteriennes (DNCs) marines

Mots clés : DNC, *Vibrio diazotrophicus*, hétérogénéité phénotypique, azote, nitrogénase

Résumé : Dans de vastes zones des océans, l'azote biodisponible est rare. Certains micro-organismes tirent alors un avantage écologique de leur capacité à fixer une autre source azote, le diazote atmosphérique. Cette diazotrophie repose sur la nitrogénase, un complexe enzymatique coûteux en énergie et inhibé par l'oxygène. Si la diazotrophie a longtemps été attribuée aux cyanobactéries, des études récentes ont révélé l'existence d'une large diversité de diazotrophes non cyanobactériennes (DNCs) (*Pseudomonadota*, *Planctomycetes*, ...). Dans ce contexte, *Vibrio diazotrophicus* a été utilisée comme modèle de DNCs marines. Le développement d'outils génétiques et d'un milieu expérimental adapté a permis de générer les différents mutants utilisés durant cette thèse, ainsi que de déterminer qu'une croissance en conditions micro-oxiques permettait l'activité diazotrophique chez cette souche. Cette stratégie repose sur une motilité (aérotactisme) et la formation de biofilms,

permettant à la fois une respiration cellulaire et la protection de la nitrogénase. Chez cette DNC, la formation de biofilm et la libération d'azote impliquent l'activation d'un prophage conduisant à la lyse cellulaire. Une analyse transcriptomique comparative a révélé une forte versatilité métabolique lors de la croissance en N₂, incluant la capacité d'utiliser de multiples sources azotées. NifA, RpoN et NtrC apparaissent comme des régulateurs clés dans l'expression et l'activité de la nitrogénase. De plus, l'expression de nitrogénase est restreinte à une sous-population, révélant une hétérogénéité phénotypique dans le processus de diazotrophie et suggérant une répartition des coûts énergétiques entre les cellules. Ces travaux mettent en lumière les mécanismes physiologiques et génétiques impliqués dans la diazotrophie. Ils ouvrent la voie à une meilleure compréhension du rôle des DNCs dans le cycle de l'azote marin.

Title : Ecophysiology and importance of marine non-cyanobacterial diazotrophic bacteria (DNCs)

Keywords: NCD, *Vibrio diazotrophicus*, phenotypic heterogeneity, nitrogen, nitrogenase

Abstract: In vast areas of the oceans, bioavailable nitrogen is scarce. Certain microorganisms therefore derive an ecological advantage from their ability to fix another source of nitrogen, the dinitrogen. This diazotrophy relies on a nitrogenase, an energy-intensive enzyme complex that is inhibited by oxygen. While diazotrophy has long been attributed to cyanobacteria, recent studies have revealed the existence of a wide diversity of non-cyanobacterial diazotrophs (NCDs) (*Pseudomonadota*, *Planctomycetes*, etc.). In this context, *Vibrio diazotrophicus* has been used as a model for marine NCDs. The development of genetic tools and a suitable experimental environment made it possible to generate the various mutants used during this thesis, as well as to determine that growth under microoxic conditions enabled diazotrophic activity in this strain. This strategy relies on

motility (aerotaxis) and biofilm formation, enabling both cellular respiration and nitrogenase protection. In this NCD, biofilm formation and nitrogen release involve the activation of a prophage leading to cell lysis. Comparative transcriptomic analysis revealed high metabolic versatility during growth in N₂, including the ability to use multiple nitrogen sources. NifA, RpoN, and NtrC appear to be key regulators in the expression and activity of nitrogenase. Furthermore, nitrogenase expression is restricted to a subpopulation, revealing phenotypic heterogeneity in the diazotrophy process and suggesting a distribution of energy costs among cells. This work sheds light on the physiological and genetic mechanisms involved in diazotrophy. It paves the way for a better understanding of the role of DNCs in the marine nitrogen cycle.