

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Institut de biologie intégrative de la cellule - I2BC

Adresse : Avenue de la Terrasse, Gif-sur-Yvette

Responsable du Laboratoire / Entreprise : T. Meinel

Responsable de l'encadrement : D. Faure (Co-Resp. Equipe Interactions plantes-bactéries)

Téléphone : 01 69 82 34 98

E-mail : denis.faure@i2bc.paris-saclay.fr

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (1 page maximum) :

Titre : Protection des plantes par ingénierie écologique du microbiote de la rhizosphère

Mots clés : rhizosphère, ingénierie des interactions plantes-bactéries, populations, protection des végétaux, transposon-sequencing

Contexte et objectifs généraux : Les connaissances acquises sur la dynamique des interactions hôte-microbiote ouvrent de nouvelles pistes de recherche pour contrôler la composition du microbiote et améliorer la croissance et la santé des hôtes, hommes, animaux et végétaux (Faure et al. 2018 ; Dessaux et al., 2016). Dans ce projet, nous proposons d'acquérir et exploiter des connaissances sur les gènes et fonctions du pathogène *Agrobacterium* qui sont importantes pour coloniser son hôte et être compétitif vis-à-vis des autres membres du microbiote. L'utilisation de ces informations permettra le développement de nouvelles approches d'ingénierie de la rhizosphère, c'est-à-dire de modifications des équilibres entre plante et microbiote afin de limiter le processus d'invasion par *Agrobacterium*.

Introduction : Le pathogène *Agrobacterium tumefaciens* est responsable d'une maladie (galle du collet) affectant un large spectre de plantes d'intérêt agronomique (ex. tomate, peuplier) et ornemental (ex. rosier). Le phytopathogène *A. tumefaciens* est unique dans le monde vivant de par sa capacité à modifier le génome de son hôte en transférant une partie (l'ADN-T) de son plasmide de virulence (pTi) dans le génome nucléaire de cellules de l'hôte. L'expression des gènes du T-DNA dans les cellules végétales provoque la formation de galles (ou tumeurs végétales) qui sont colonisées par *A. tumefaciens* (Gonzales-Mula et al. 2018). Ce pathogène est aussi capable de coloniser les racines des plantes hôtes (ex. tomate, peuplier) et non-hôtes (ex. maïs). Comme il n'existe pas de procédé de lutte chimique contre *A. tumefaciens*, les approches prophylactiques ou de lutte biologique (ex. compétiteurs bactériens) sont essentielles. Afin de pouvoir prévenir la colonisation de la rhizosphère des plantes hôtes et non-hôtes (ces dernières pouvant jouer le rôle de réservoir), il est important de connaître les gènes et fonctions de ce pathogène impliqués dans la colonisation des racines. Malheureusement, si de nombreuses publications étayent les étapes ultimes de la pathogénie (transfert et intégration du T-DNA), aucune donnée, à notre connaissance, ne décrit les gènes et fonctions d'*A. tumefaciens* impliqués dans le processus de colonisation racinaire des plantes hôtes et non-hôtes.

Projet de stage : Dans ce projet de stage M2, nous proposons l'utilisation d'une nouvelle approche de génomique fonctionnelle, le transposon sequencing (ou Tn-seq), afin d'identifier les gènes d'*Agrobacterium tumefaciens* impliqués dans la colonisation des plantes hôtes (peuplier, tomate) et non-hôtes (maïs). Cette méthode Tn-seq a été validée chez *Agrobacterium* en 2016 et 2017 dans notre laboratoire (publication en cours de rédaction). Cette approche Tn-seq combine une mutagenèse par transposon et du séquençage à haut débit (Illumina) afin d'identifier les gènes essentiels à la colonisation des racines ou tumeurs des plantes infectées par *Agrobacterium*.

En 2016 et 2017, une banque de mutants a été construite chez *A. tumefaciens* C58, inoculée sur plant de tomate, puis ré-isolée. L'ADN de cette population de mutants a été extrait et le séquençage des bordures a été réalisé. Ces travaux ont permis d'identifier les gènes importants dans la compétitivité d'*A. tumefaciens* colonisant les racines et les tumeurs induites chez une plante hôte : *Solanum lycopersicum* (la tomate). En 2018, nous avons entrepris une nouvelle série d'expérimentations permettant d'identifier des gènes importants pour coloniser une autre plante hôte, le peuplier, et une plante non-hôte, le maïs.

Une fois que ces gènes importants pour la colonisation des plantes sont identifiés, nous proposons de valider leur rôle par la construction de mutants KO chez *A. tumefaciens*, mais aussi de tester l'inhibition des fonctions codées par ces gènes par des composés chimiques (analogues, inhibiteurs ...) afin de développer de nouveaux outils de lutte basés sur une approche d'ingénierie écologique de la rhizosphère.

Les objectifs de ce stage M2 sont :

- 1) d'analyser les données Tn-seq acquises des expérimentations conduites en 2018 sur plants de peuplier et de maïs ; et de comparer ces résultats à ceux obtenus sur tomate : cette analyse permettra d'identifier des gènes d'*Agrobacterium* qui sont importants pour la colonisation des plantes hôtes et/ou non-hôtes.
- 2) de caractériser de manière plus approfondie (construction de mutants par génétique inverse, mesure de la colonisation des plantes hôtes et non-hôtes ...) de certains gènes identifiés par Tn-seq afin de mieux connaître leur rôle dans le processus infection et de colonisation des racines.
- 3) de choisir une ou 2 fonctions d'intérêt comme cibles du contrôle d'*A. tumefaciens* dans la rhizosphère et d'évaluer son impact sur le microbiote par métabarcoding.

L'attendu scientifique majeur est l'identification des gènes et fonctions associés à la compétitivité du pathogène *A. tumefaciens* colonisant les racines de plantes hôtes et non-hôtes. Ce travail permettra d'identifier des cibles potentielles pour le développement de méthodes de contrôle de ce processus.

Bibliographie :

- Y. Dessaux, C. Grandclément, and D. Faure. 2016. Engineering the rhizosphere. *Trends in Plant Science* 21(3):266-278.
- D. Faure, J.C. Simon, T. Heulin. 2018. Holobiont: a conceptual framework to explore the eco-evolutionary and functional implications of host-microbiota interactions in all ecosystems. *New Phytologist* 218 (4) : 1321-1324
- A. González-Mula et al. 2018 Lifestyle of the biotroph *Agrobacterium tumefaciens* in the ecological niche constructed on plant host. *New Phytologist* 219: 350-362.

Sélection d'autres publications de l'équipe sur le sujet:

- D. Faure, J.C. Simon, T. Heulin. 2018. Holobiont: a conceptual framework to explore the eco-evolutionary and functional implications of host-microbiota interactions in all ecosystems. *New Phytologist* 218 (4) : 1321-1324
- J. Lang et al. 2017. Fitness costs restrict niche expansion by generalist niche-constructing pathogens. *ISME Journal* 11:374-385.
- J. Lang et al. 2016. The plant GABA signaling downregulates horizontal transfer of the *Agrobacterium tumefaciens* virulence plasmid. *New Phytologist* 210(3): 974-983.
- Y. Dessaux, C. Grandclément, and D. Faure. 2016. Engineering the rhizosphere. *Trends in Plant Science* 21(3):266-278.

Ce stage peut-il se poursuivre par une thèse ? : **oui**