

PROPOSITION SUJET de MASTER 2018-2019

TITRE : Les acides aminés dans la symbiose *Alnus-Frankia*, du métabolisme azoté au contrôle du symbiote ?

Nom, Prénom du Maitre de Stage : Anne-Emmanuelle Hay,
Qualité : Maître de Conférences

Téléphone : 04.78.77.70.52

E-mail : hay.de-bettignies@univ-lyon1.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel : Hasna Boubakri,
Aude Herrera-Belaroussi,
Qualité : Maîtres de Conférences

Téléphone :

E-mail : hasna.boubakri@univ-lyon1.fr,
aude.herrera-belaroussi@univ-lyon1.fr

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe :

UMR 5557 Ecologie Microbienne (équipe « Symbiose Actinorhizienne » dirigée par P. Normand)
Responsable : Yvan Moëgne-Loccoz

Adresse :

Bat Forel, Université Lyon1
Villeurbanne

Description du sujet au verso ⇒

Sujet (objectif, démarche et technique, collaboration(s),...) :

L'association entre *Alnus spp* et l'actinobactérie *Frankia* s'inscrit dans le cadre des symbioses actinorhiziennes. Au cours de cette interaction plante-bactérie, *Frankia* induit chez sa plante-hôte la formation d'un nouvel organe au niveau racinaire, le nodule, au sein duquel ont lieu des échanges trophiques entre les deux partenaires. La bactérie fournit à l'hôte de l'azote réduit, grâce à sa capacité à fixer l'azote atmosphérique, et bénéficie en retour des composés carbonés issus de la photosynthèse de la plante. Ces échanges trophiques à bénéfices réciproques entre les plantes actinorhiziennes et leur symbiote expliquent leur caractère de plantes pionnières, capables de coloniser des milieux pauvres en azote. Cependant, les molécules et voies métaboliques impliquées dans ces échanges restent à ce jour très peu décrites. Récemment, une étude exploratoire globale des métabolites synthétisés dans les nodules, par comparaison avec des racines non nodulées, a été réalisée au laboratoire chez deux espèces différentes de plantes hôtes au sein du genre *Alnus* : *A. glutinosa* et *A. viridis*. D'une part, grâce à des analyses LC-DAD-MS et GC-MS, nous avons caractérisé des métabolites discriminants en proportions significativement différentes entre les nodules et les racines, dont des acides aminés (AA), des sucres et acides organiques (SAO), et des métabolites secondaires (MII). Pour certains d'entre eux, nous avons pu évaluer leur effet sur la physiologie d'une souche de *Frankia* ACN14a.¹ D'autre part, une étude plus avancée concernant le profilage métabolique des acides aminés (AA) issus de nodules et de racines nous a permis de mettre en évidence les acides aminés les plus abondants et biomarqueurs de la symbiose. Des tests physiologiques sur la fixation et la croissance de *Frankia* ACN14a en culture pure ont été menés et ont montré des effets stimulateurs, neutres ou toxiques sur la bactérie^{2,3} suggérant un rôle important de ces AA dans le contrôle et la régulation du métabolisme bactérien.

Le projet de recherche proposé ici dans le cadre d'un stage M2 s'inscrit dans la continuité de ces études et vise à :

(i) Poursuivre nos recherches autour de la compréhension des origines (bactérienne versus végétale ?) des métabolites caractérisés dans les nodules. Nous avons pour cela besoin de mener un profilage métabolique de la bactérie seule en dehors de toute interaction avec la plante. Par conséquent, nous allons réaliser des analyses métabolomiques de culture bactérienne de *Frankia* ACN14a en milieux FBM- et FBM+. L'identification des composés pourra se faire sur la base de leur spectre de masse, de leur spectre UV en lien avec des standards ou des bases de données. Ces données seront comparées à celles obtenues précédemment dans les nodules et les racines pour ainsi proposer des biomarqueurs spécifiques de la plante, de la bactérie ou de la symbiose plante-bactérie.¹

(ii) Étendre nos connaissances sur le rôle des AA dans la symbiose. Nous allons sélectionner les AA spécifiques de la symbiose et qui ont été observés comme stimulant ou inhibant la fitness de *Frankia* ACN14a² (Croissance et fixation d'azote). La capacité de ces AA à moduler la fixation et la croissance de *Frankia* sera testée sur différentes souches compatibles et incompatibles de l'aulne. Lors de ces tests, des profilages métaboliques de ces cultures en présence des différents AA seront également réalisés (comme proposé dans l'axe i) afin d'identifier la réponse globale de la bactérie d'un point de vue métabolique. L'hypothèse proposée ici est que ces AA spécifiques de la symbiose seraient potentiellement produits par la plante pour contrôler son symbiote, et sous cette hypothèse, n'auraient pas ou peu d'effet sur des souches incompatibles de l'aulne alors qu'ils présenteraient des effets significatifs sur des souches compatibles en induisant une réponse métabolique spécifique chez celles-ci.

Ce projet de recherche permettra à l'étudiant de bénéficier d'une double formation aussi bien technique que théorique en métabolomique et en microbiologie. Il pourra, selon l'avancement, être valorisé sous forme d'une publication et ouvrir sur un possible projet de thèse qui complètera notamment ces travaux par des analyses protéomiques et transcriptomiques. Ces travaux visent totalement à comprendre le fonctionnement d'un modèle de symbiose actinorhizienne et peut présenter un intérêt agronomique.

Mots clés : Métabolome symbiotique, *Alnus*, *Frankia*, tests *in-vitro* (microbiologique et physiologie végétale)

¹ Dhaou D. et al., *Physiological Roles of biomarker metabolites In plant-bacteria interactions : Actinorhizal Symbiosis Alnus spp.-Frankia.*, en cours de rédaction.

² Hay A.E. et al., *Metabolic profiling in Frankia-Alnus symbiosis through field versus greenhouse samples: Evidence of Glutamate and Arginine as key amino acids*, en cours de rédaction.

³ Zhang X. And Benson D.R., *Utilization of amino acids by Frankia sp. strain Cpl1. Archives of Microbiology*, 1992, **158**, 256-61.