

PROPOSITION SUJET de MASTER 2017-2018

TITRE : Etude du lien entre formation de biofilm et taux intracellulaire du signal di-GMP cyclique chez la bactérie phytostimulatrice *Azospirillum*

Nom, Prénom du Maitre de Stage : WISNIEWSKI-DYÉ Florence

Qualité : PR

Téléphone : 04 72 44 58 89

E-mail : florence.wisniewski@univ-lyon1.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel :

Qualité :

Téléphone :

E-mail :

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe :

UMR CNRS 5557 Ecologie Microbienne (équipe Rhizosphère)
Pr Yvan MOËNNE-LOCCOZ

Adresse : Université Claude Bernard Lyon 1
43, Boulevard du 11 Novembre 1918
69622 VILLEURBANNE CEDEX

Tel : +33 (0)4 72 43 13 49

Nom du candidat éventuellement proposé :

S'il n'est pas retenu, acceptez-vous un autre candidat ?

Oui - Non

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

Contexte.

Certaines bactéries PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria), notamment *Azospirillum*, peuvent stimuler la croissance des céréales, telles le blé, le maïs et le riz (Wisniewski-Dyé *et al.*, 2013) ; leur utilisation comme engrais biologique pourrait donc être une alternative pour réduire les intrants chimiques dans le contexte d'une agriculture durable. La stimulation de la croissance végétale est attribuée principalement à la production de plusieurs phytohormones, notamment l'auxine acide indole-3-acétique, permettant une augmentation du nombre de racines latérales et de poils absorbants, ce qui se traduit par une meilleure nutrition hydrique et minérale de la plante inoculée. En plus de la phytostimulation, certaines souches d'*Azospirillum* peuvent aussi favoriser la santé de la plante via le contrôle biologique de plantes phytoparasites ou de bactéries phytopathogènes.

La symbiose associative entre les céréales et *Azospirillum* a été étudiée principalement pour ses aspects agronomiques tels la morphologie racinaire et l'augmentation des rendements. Afin d'identifier des gènes bactériens nécessaires à l'adaptation à la plante-hôte et/ou pouvant jouer un rôle important dans cette interaction, des analyses transcriptomiques et de mutagenèse ciblée ont récemment été menées dans l'équipe sur le modèle *Azospirillum*-riz (Droque *et al.*, 2014 ; Borland, 2015). L'inactivation chez *A. lipoferum* 4B de *preK*, un gène codant une histidine kinase (une famille de protéines fortement représentée dans les génomes d'*Azospirillum* ; Borland *et al.*, 2015) conduit à la formation d'un biofilm plus développé que celui de la souche sauvage ; en revanche, la souche mutée est affectée dans la capacité d'adhésion aux racines et s'avère moins compétitive que la souche sauvage pour la colonisation des plantes. Le régulateur de réponse associé, PreR, possède un domaine HD-GYP connu pour être impliqué dans l'hydrolyse du signal intracellulaire c-di-GMP (di-3'-5' Guanosine Monophosphate cyclique), un signal intracellulaire bactérien ubiquiste contrôlant la formation de biofilms chez diverses espèces bactériennes (Hengge *et al.*, 2016) ; les phénotypes altérés chez le mutant seraient donc vraisemblablement dus à une augmentation du taux intracellulaire de c-di-GMP.

Hypothèse. L'hypothèse de travail est que le système PreKR de *Azospirillum lipoferum* 4B agirait en modulant la concentration du signal intracellulaire c-di-GMP.

Objectif. L'objectif du travail est donc de déterminer chez *Azospirillum lipoferum* 4B le lien entre formation du biofilm (exacerbée chez le mutant *preK*) et concentration du signal c-di-GMP.

Démarche et méthodologie. Le travail consistera à (i) optimiser le protocole d'extraction du c-di-GMP chez *Azospirillum* dans l'objectif d'un dosage par LC-MS/MS (prestation externe) ; (ii) utiliser un système de détection biologique pour quantifier le taux intracellulaire de c-di-GMP ; (iii) mimer une augmentation du taux intracellulaire de c-di-GMP en surexprimant un gène codant une diguanylate cyclase (enzyme impliquée dans la biosynthèse du c-di-GMP) chez la souche sauvage.

Références.

- Borland S., Oudart A., Prigent-Combaret C., Brochier-Armanet C., Wisniewski-Dyé F. (2015) Genome-wide survey of two-component signal transduction systems in the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum*. *BMC Genomics* 16, 833.
- Borland S. (2015) Rôle des systèmes à deux composants dans l'adaptation de la bactérie phytostimulatrice *Azospirillum* à la rhizosphère. Thèse de doctorat, Université Lyon 1.
- Droque B., Sanguin H., Borland S., Prigent-Combaret C., Wisniewski-Dyé F. (2014) Genome wide profiling of *Azospirillum lipoferum* 4B gene expression during interaction with rice roots. *FEMS Microbiol. Ecol.* 87, 543-555.
- Hengge R., Gründling A., Jenal U., Ryan R., Yildiz F. (2016). Bacterial signal transduction by cyclic di-GMP and other nucleotide second messengers. *J. Bacteriol.* 198, 15-26.
- Wisniewski-Dyé F., Droque B., Borland S., Prigent-Combaret C. (2013) *Azospirillum*-plant interaction: from root colonization to plant growth promotion. In "Beneficial plant-microbe interactions: ecology and applications", p237-269 (Rodelas-González M.B. & Gonzalez-López J., Eds). CRC Press