



Université Claude Bernard



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **18 novembre 2019**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **LECOMTE Solène**

Titre de la thèse : « *Diversification de l'adaptation à la vie anaérobie chez Agrobacterium fabrum C58* ».



Résumé

La respiration anaérobie peut être un trait essentiel dans le mode de vie, la colonisation de l'environnement et la survie. Jusqu'à présent, la seule respiration anaérobie confirmée chez *Agrobacterium* spp. est la dénitrification. De façon intéressante, cette voie est inégalement répandue chez les agrobactéries. Ces observations m'ont amené à mon hypothèse, à savoir la respiration anaérobie et notamment la dénitrification pourraient expliquer la coexistence d'agrobactéries et leur distribution dans des niches spécifiques de la rhizosphère. Ma thèse visait à explorer les stratégies de respiration anaérobie d'*Agrobacterium* spp. et de les relier à l'adaptation de niche écologiques différentes. Les objectifs de ma thèse étaient (1) de caractériser tous les gènes impliqués dans la dénitrification chez *A. fabrum* C58 *in vitro*, (2) d'explorer les gènes de la dénitrification nécessaires à la colonisation des racines du maïs et (3) de découvrir de nouvelles respirations anaérobies pendant la colonisation racinaire du maïs (Figure 16). Réaliser des mutants et les tester dans des conditions particulières est le moyen classique de déterminer l'implication d'un gène dans une voie spécifique. Cependant, cette méthode implique une vision à priori et des connaissances solides sur les gènes cibles et ne peut pas être appliquée à toutes les situations. Nous avons alors dû développer une méthode plus adaptée pour identifier les gènes essentiels impliqués dans la croissance dans des conditions anaérobies spécifiques.

- Gènes de dénitrification chez *A. fabrum* C58 *in vitro*

Pour compléter la voie de dénitrification chez *A. fabrum* C58 et identifier tous les gènes et régulateurs impliqués dans la dénitrification, nous avons adopté deux stratégies :

Premièrement, une vision à priori pour (1) identifier la nitrate réductase impliquée dans la première étape de la dénitrification et (2) valider le rôle d'un ARN non codant dans le contrôle de la dénitrification. Pour ce faire, nous avons construit un mutant *napA* de *A. fabrum* C58 et un mutant de l'ARN non codant *NopR* et nous avons évalué leur croissance et leur capacité à produire du N₂O dans des conditions anoxiques.

Deuxièmement, pour identifier tous les gènes impliqués dans la dénitrification, nous avons construit une banque de transposons mutants de C58 et testé sa croissance dans des conditions de dénitrification *in vitro* en présence de nitrate ou de nitrite.

- Rôle des gènes de la dénitrification de *A. fabrum* C58 dans la colonisation racinaire du maïs

Il est bien connu que le séquençage de transposons (Tn-Seq) est une méthode très puissante pour déterminer les gènes nécessaires à la croissance bactérienne en présence de leur hôte. Pour déterminer les gènes de dénitrification impliqués dans la colonisation des racines en anoxie, nous avons utilisé la banque construite chez C58 et l'avons inoculée sur les plants de maïs cultivés sur un sol fertile et cultivés dans des conditions inondées mimant des conditions anaérobies. Le séquençage des cellules d'*A. fabrum* C58 récupérées mettra en évidence les gènes impliqués dans la colonisation anaérobie de cette niche spécifique.

- Découverte de nouvelles voies de respiration anaérobie chez *A. fabrum* C58

Pour découvrir de nouvelles voies de respiration anaérobie, nous avons mis en place des tests de croissance de C58 dans des conditions anoxiques en présence de sources de C et de N en tant qu'accepteurs terminaux d'électrons. De façon intéressante, en cultivant des souches WT et mutée dans le gène *napA* au contact de la racine de maïs dans des conditions anoxiques (chapitre 1), nous avons montré une croissance des deux souches. Ce résultat suggère que les exsudats de racine servent d'accepteurs d'électrons terminaux pour la croissance anaérobie de C58. Pour déterminer quels composés exsudés du maïs peuvent servir de TEA, les principaux métabolites ont été identifiés par HPLC et certains ont été testés en tant que TEA dans des conditions anoxiques.