

Sujet : Étude de l'Assemblage précoce du Microbiote Rhizosphérique

Acronyme : AMiRhi

Direction de thèse : BODILIS Josselin

Co-direction de thèse: PAWLAK Barbara

Unité de recherche : GlycoMEV

Etablissement : Université Rouen Normandie

Type de financement : Contrat doctoral Région Normandie (sous condition suspensive d'obtention du financement)

Contact : josselin.bodilis@univ-rouen.fr

Le développement d'alternatives aux produits phytosanitaires est à présent une priorité en agriculture durable. Or, un bon équilibre du microbiote rhizosphérique, c'est-à-dire de la communauté microbienne associée aux racines, permet de lutter plus naturellement contre les phytopathogènes. Toutefois, les facteurs contrôlant la colonisation initiale des racines sont encore peu connus, car délicats à étudier au sein d'une niche écologique aussi complexe que le sol. Dans ce contexte, l'objectif de ce projet est d'explorer finement la colonisation précoce de la rhizosphère par des microorganismes modèles afin d'identifier les paramètres guidant l'assemblage initial du microbiote rhizosphérique et de mieux comprendre le rôle de ce microbiote dans la protection vis-à-vis de microorganismes phytopathogènes. Ce projet de thèse s'intéressera particulièrement aux deux étapes clés de la genèse de cet assemblage : le chimiotactisme, c'est-à-dire l'attraction par la plante, et la formation de biofilm protecteur à la surface des racines. Afin d'atteindre cet objectif, une approche innovante de microfluidique couplée à de la microscopie et du RNAseq sera entreprise. Les puces microfluidiques sont des dispositifs de la taille d'une lame de microscope qui comportent différents canaux et compartiments microscopiques pour la circulation de fluides. Les puces que nous utiliserons permettent la croissance de plantules avec des compartiments pour recevoir les racines. A l'autre extrémité de la puce nous pouvons ajouter différents microorganismes afin d'observer et de quantifier le chimiotactisme et l'installation d'un biofilm en contact des racines. Ces puces microfluidiques présentent l'avantage d'une miniaturisation ce qui permet de limiter la quantité de matériel biologique utilisé. Ce sont également des dispositifs qui permettent de cribler rapidement, avec une bonne répétabilité différents produits de biocontrôle, microorganismes ou substances naturelles. Le couplage de la puce avec un microscope et de la transcriptomique permet d'étudier finement et en temps réel la colonisation d'une racine par son microbiote. Ce projet se déclinera en trois étapes. (1) Une étude de la primo-colonisation racinaire par microfluidique et microscopie. Des dispositifs microfluidiques seront développés afin de mesurer la force et la spécificité de l'attraction de bactéries bénéfiques par les exsudats racinaires et d'évaluer la dynamique de la formation des biofilms bactériens. (2) Etude de la primo-colonisation racinaire par microfluidique et RNAseq. Des analyses exhaustives de l'expression des gènes bactériens seront réalisées par RNAseq afin d'identifier les gènes sollicités au cours des réponses bactériennes et de comprendre plus finement les variations d'efficacité de colonisation, en fonction de la plante et des microorganismes. (3) Etude de la colonisation secondaire des racines. La colonisation bactérienne d'une seconde espèce bénéfique pour la plante sera étudiée lorsqu'un premier biofilm bactérien est déjà installé sur la plante. De même, l'attaque d'un phytopathogène sera étudié en présence ou non de biofilm bactérien.

Developing alternatives to phytosanitary products is now a priority in sustainable agriculture. A well-balanced rhizospheric microbiota, i.e. the microbial community associated with roots, enables more natural control of plant pathogens. However, little is known about the factors that control the initial colonisation of roots, as they are difficult to study in an ecological niche as complex as the soil. In this context, the aim of this project is to explore in detail the early colonisation of the rhizosphere by model microorganisms in order to identify the parameters shaping the initial assembly of the rhizospheric microbiota and to gain a better understanding of the role of this microbiota in protection against phytopathogenic microorganisms. This PhD project will focus on the two key stages in the genesis of this assembly: chemotaxis, i.e. attraction by the plant, and the formation of a protective biofilm on the root surface. To achieve this objective, an innovative microfluidic approach coupled with microscopy and RNAseq will be used. Microfluidic chips are microscope slide-sized devices with different microscopic channels and compartments for the circulation of fluids. The chips we will use allow the growth of seedlings with compartments to receive the roots. At the other end of the chip we can add different microorganisms in order to observe and quantify chemotaxis and the installation of a biofilm in contact with the roots. These microfluidic chips have the advantage of being miniaturised, which limits the quantity of biological material used. They can also be used to screen rapidly different biocontrol products, micro-organisms or natural substances, with good repeatability. Combining the chip with a microscope and transcriptomics enables the colonisation of a root by its microbiota to be studied in detail and in real time. This project will be divided into three stages: (1) A study of root primo-colonisation using microfluidics and microscopy. Microfluidic devices will be developed to measure the strength and specificity of the attraction of beneficial bacteria by root exudates and to assess the dynamics of bacterial biofilm formation. (2) Study of root primo-colonisation using microfluidics and RNAseq. Exhaustive analyses of bacterial gene expression will be carried out using RNAseq in order to identify the expression of genes during bacterial responses and to gain a more detailed understanding of the variations in colonisation efficiency, depending on the plant and the microorganisms. (3) Study of secondary colonisation of roots. Bacterial colonisation of a second beneficial bacteria will be studied when a first bacterial biofilm is already installed on the plant. Similarly, the attack of a phytopathogen will be studied in the presence or absence of a bacterial biofilm.