

Encadrement :

UMR1229 Microbiologie du Sol et de l'Environnement

Responsables : Dr. Pascal Piveteau

Tél : 03 80 69 34 32

Fax : 03 80 69 32 24

Email : piveteau@u-bourgogne.fr

Dr. Sylvie Mazurier

Tél : 03 80 69 30 93

Fax : 03 80 69 32 24

Titre du stage :

Activité antagoniste de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de *Listeria monocytogenes* : investigation du rôle du cyanure d'hydrogène

Résumé:

L'environnement tellurique, et en particulier la rhizosphère, est remarquable par la richesse et la diversité des bactéries présentes. Avec 10^9 bactéries par gramme réparties dans 10^5 à 10^6 espèces, le sol est un réservoir de bactéries d'intérêt agronomique, telles que les rhizobia et *Pseudomonas fluorescens* voire biotechnologique mais également de pathogènes humains tels que *Listeria monocytogenes*. La rhizosphère, où la majorité des bactéries est organisée en biofilms, est le siège d'interactions complexes qui peuvent modifier l'implantation et/ou la persistance de ce pathogène humain. L'espèce *Pseudomonas fluorescens* se caractérise par la production de métabolites secondaires (antibiotiques, cyanure d'hydrogène) aux effets antimicrobiens. Notamment, le laboratoire a caractérisé la souche *P. fluorescens* C7R12 pour ses capacités de biocontrôle. Le laboratoire a récemment démontré un effet antagoniste de l'agent de bio-contrôle *Pseudomonas fluorescens* C7R12 vis-à-vis de souches de *Listeria monocytogenes*. Par ailleurs, la production de cyanure d'hydrogène par *P. fluorescens* C7R12 a également été mise en évidence. Cependant, toutes les souches de *P. fluorescens* ne possèdent pas cette capacité et une importante biodiversité existe au sein de cette espèce quant à un possible effet inhibiteur. L'enjeu de ce travail est de préciser l'effet inhibiteur de l'HCN vis-à-vis de *L. monocytogenes* et d'évaluer la diversité d'une collection de *P. fluorescens* quant à leur capacité à produire de l'HCN.

L'objectif du travail de Master sera dans un premier temps de confirmer l'activité antagoniste de l'HCN en fonction de la concentration en fer du milieu ; pour ce faire, un mutant isogénique de *P. fluorescens* C7512 présentant une délétion dans les gènes codant pour l'HCN (*hcnBC*) sera construit et l'effet de la délétion sur son activité antagoniste sera testé.

Dans un second temps, la présence des gènes *hcnBC* sera recherchée dans une collection de souches de *P. fluorescens* d'origine variée (sol, eau, environnement industriel) et les résultats seront comparés à l'activité antagoniste de ces souches.

Enfin, des tests de compétition seront développés *in planta*, au cours de la colonisation par *P. fluorescens* et *Listeria monocytogenes* de racines de plans de *Festuca campestris* cultivés de façon axénique.

Références bibliographiques :

Lemanceau, P., Robin, A., Mazurier, S. and Vansuyt, G. Implication of pyoverdines in the interactions of fluorescent pseudomonads with soil microflora and plant in the rhizosphere. In *Microbial siderophores*. 2007. Eds Varma, A. and Chincholkar, S. B., pp. 165-192. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Robin, A., Mazurier, S., Mougél, C., Vansuyt, G., Corberand, T., Meyer, J. M. and Lemanceau, P. Diversity of root-associated fluorescent pseudomonads as affected by ferritin overexpression in tobacco. *Environ. Microbiol.* 2007. 9:1724-1737.

Severino P., Dussurget O., Vencio R., Garrido P., Piveteau P., Lemaître J.P., Padilla Maldonado G., Kunst F., Glaser P., Buchrieser C. Comparative Transcriptome Analysis of *Listeria monocytogenes* Strains of the Two Major Lineages Reveals Differences in Virulence, Cell Wall, and Stress Response. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. 73:6078-6088.

Techniques mises en œuvre :

Microbiologie classique, manipulation de microorganismes de classe 2, PCR, PCR-RFLP, bioinformatique

Compétences particulières exigées :

Liste complète des sujets de stage de M2 sur le site de la filière bop : <http://www.u-bourgogne.fr/BOPdijon/>