

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 et biotechnologique, telles que les rhizobia et les *Pseudomonas* spp. fluorescents, 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. Les bactéries du groupe des *Pseudomonas* spp. fluorescents se caractérisent par la production de métabolites secondaires (sidérophores, antibiotiques, cyanure d'hydrogène...) dont les effets modifient les équilibres microbiens dans la rhizosphère. Notamment, au laboratoire, la souche *P. fluorescens* C7R12 a été caractérisée pour son aptitude à améliorer la croissance et la santé des plantes par la synthèse de sidérophores. Récemment, nous avons mis en évidence un effet antagoniste de cette souche vis-à-vis de souches de *L. monocytogenes*. Des résultats préliminaires suggèrent que la production de cyanure d'hydrogène (HCN) par *P. fluorescens* C7R12, en liaison avec la disponibilité en fer du milieu, pourrait être impliquée dans cet antagonisme. Par ailleurs, les *Pseudomonas* spp. fluorescents ne possèdent pas tous la capacité à produire de l'HCN. En outre, les bactéries productrices d'HCN peuvent posséder des capacités de synthèse plus ou moins importantes. L'antagonisme vis-à-vis de *L. monocytogenes* des bactéries de ce groupe pourrait donc être variable.

L'objectif du travail de Master sera, d'une part, 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* C7R12 présentant une délétion dans les gènes codant pour l'HCN (*hcnBC*) sera construit et l'effet de la délétion sur son activité antagoniste sera étudié.

L'objectif sera, d'autre part, d'étudier la diversité du comportement antagoniste de *Pseudomonas* spp. fluorescents vis-à-vis de *L. monocytogenes* en fonction de leur génotype; pour cela, la présence des gènes *hcnBC* sera recherchée dans une collection de souches d'origines variées (sol, eau, environnement industriel) et la diversité de ces gènes sera étudiée par PCR-RFLP et séquençage. Ces résultats seront étudiés en relation avec l'activité antagoniste de ces souches vis-à-vis de *L. monocytogenes*.

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., Mougel, 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/>