
GÉNOMIQUE DE L'ALTÉRATION DES MINÉRAUX PAR LA SOUCHE BACTÉRIENNE *Collimonas pratensis* PMB3 (1)

Thèse de Laura **PICARD**¹

Analysée par Bernard **ROMAN-AMAT**²

Directeur de thèse : M Stéphane **UROZ**, directeur de recherches, centre INRAE Grand Est, Champenoux

Co-directrice : Mme Marie-Pierre **TURPAULT**, directrice de recherches, centre INRAE Grand Est, Champenoux

Laura PICARD a réalisé son travail de thèse de 2019 à 2021 au sein des laboratoires Interactions Arbres Microorganismes, équipe écogénomique des interactions (IAM, UMR 1136 INRAE – Université de Lorraine), et Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers (UR1138), de l'INRAE à Champenoux,

Cette thèse s'inscrit dans la problématique de recherche visant à élucider le rôle de la rhizosphère des arbres forestiers dans l'altération des minéraux des sols. Cette altération est en effet l'un des principaux processus d'apport aux sols forestiers - généralement acides et pauvres en nutriments - des éléments chimiques participant à la nutrition des arbres. La thèse s'est focalisée sur les bactéries dont le rôle est bien connu, mais jusqu'à présent mal compris, avec l'ambition d'identifier les mécanismes moléculaires impliqués.

Le manuscrit de thèse se lit aisément avec une rédaction de très bonne qualité et la présentation générale est agréable. Il est constitué de sept parties (237 pages sans les annexes) :

- La 1ère partie, « Introduction », consiste en un état de l'art très détaillé, rédigé en français, s'achevant par les questionnements et objectifs de la thèse. Il s'agit d'abord d'identifier des mécanismes moléculaires impliqués dans l'altération des minéraux par deux voies chimiques (acidolyse, complexolyse), puis de valider au niveau fonctionnel leur contribution à l'altération des minéraux. Pour répondre à cet objectif global, les travaux se sont concentrés sur la souche modèle *Collimonas pratensis* PMB3(1), présente dans la rhizosphère du chêne. L'objectif général est décliné en plusieurs questions scientifiques, chacune étant judicieusement reliée à un chapitre de la thèse, montrant l'enchaînement logique de la démarche expérimentale.
- Le premier chapitre est consacré à la souche modèle *Collimonas pratensis* : analyses phénotypiques, séquençage du génome. L'analyse du génome de PMB3(1) a révélé

¹ Thèse de doctorat de l'Université de Lorraine, Mention : Microbiologie environnementale, Ecole doctorale SIRENA, Laboratoires : Interactions Arbres Microorganismes UMR 1136, Biogéochimie des Ecosystèmes Forestiers UR 1138, présentée et soutenue le 6 décembre 2021.

² Membre de l'Académie d'agriculture de France, secrétaire de la section 2 « Forêt et filière bois ».

de façon surprenante l'absence de GDH-PQQ (glucose déshydrogénase-pyrroloquinoléine quinone) et de gènes de synthèse de PQQ. Ce qui était considéré jusqu'alors comme le mécanisme majeur de l'altération par acidolyse ; elle a également permis d'identifier plusieurs gènes candidats pour l'altération des minéraux, notamment des gènes codant pour des glucoses déshydrogénases potentielles (processus d'acidolyse), ainsi qu'une région possiblement impliquée dans la synthèse d'un sidérophore (processus de complexolyse). L'obtention du génome a fait l'objet d'une courte publication dans « Microbiology Resource Announcements » en 2020 pour laquelle Laura Picard est 1^{ère} auteure.

- Suivent quatre chapitres expérimentaux (dont deux présentés sous forme d'articles en langue anglaise) :
 - Dans le chapitre 2, la création d'une banque de mutants aléatoires ainsi que le criblage des mutants pour leur capacité à solubiliser le phosphate tricalcique a permis d'isoler trois mutants affectés pour cette propriété, et également affectés pour leur capacité à altérer la biotite. L'analyse génétique des mutants a permis de caractériser un nouveau type de glucose déshydrogénase impliquée dans l'altération des minéraux. Cette enzyme convertit également le glucose en gluconate et produit un proton qui acidifie le milieu et altère les minéraux par acidolyse. La région génétique portant ce gène est très conservée au sein du genre *Collimonas*, suggérant que cette oxydoréductase serait la principale enzyme responsable d'altération des minéraux par acidolyse chez *Collimonas*. Les résultats de ce chapitre sont présentés sous la forme d'une publication parue en 2021 dans « FEMS Microbiology Ecology » et pour laquelle Laura Picard est 1^{ère} auteure.
 - Le chapitre 3 consiste en une approche, *a priori*, (par mutagenèse ciblée) visant à déterminer quel type de sidérophore est produit par la souche modèle PMB3(1) et s'il est impliqué dans l'altération des minéraux par complexolyse. La création d'un mutant ciblé sur le gène *mbaA* responsable de la synthèse de sidérophore a permis de caractériser chimiquement le premier sidérophore d'une souche de *Collimonas* : c'est la malléobactine (contrairement aux prédictions bio-informatiques). Les travaux ont démontré l'implication de la malléobactine dans l'altération de l'hématite, et ce dans un milieu tamponné, confirmant que cette altération se faisait par complexolyse. Les résultats de ce chapitre sont présentés sous la forme d'une publication parue en 2021 dans « FEMS Microbiology Ecology » et pour laquelle Laura Picard est 1^{ère} auteure.
 - Le chapitre 4 (pages 131 à 150) vise à déterminer comment les propriétés du minéral et l'environnement influencent les mécanismes moléculaires bactériens d'altération des minéraux. Des réponses ont été cherchées aux questions suivantes : quel est l'effet du pouvoir tampon du milieu sur l'efficacité à altérer les minéraux et les mécanismes impliqués pour la souche modèle ? Quel est l'effet de la source de carbone sur l'efficacité à altérer les minéraux et les mécanismes impliqués pour la souche modèle ? Le rôle et l'efficacité des mécanismes moléculaires impliqués dans l'altération diffèrent-ils en fonction du type de minéral ? Pour ce faire, l'efficacité à altérer les minéraux de la souche PMB3(1) et de trois mutants a été étudiée au laboratoire, en présence de cinq minéraux différents, de deux sources de carbone différentes et dans deux milieux possédant des pouvoirs tampons différents. Il apparaît que la souche PMB3(1) est capable d'altérer plusieurs types de minéraux. Les deux agents altérants (GMC oxydoréductase et malléobactine) n'ont pas la même implication en fonction de l'environnement dans lequel se trouve la bactérie : la GMC oxydoréductase semble impliquée dans l'altération en milieu non tamponné supplémenté en glucose alors que le sidérophore serait utilisé en

milieu tamponné. Ainsi, le pouvoir tampon du milieu ainsi que la source de carbone ont un effet sur l'efficacité et les mécanismes moléculaires de l'altération des minéraux par la souche PMB3(1). Les deux mécanismes sont impliqués dans l'altération des minéraux quel que soit le type de minéral et leur efficacité dépend principalement de l'altérabilité du minéral (plus le minéral est altérable, plus sa dissolution est importante en présence de la souche). Cette partie servira de base, après complétion des résultats, à une publication future pour laquelle Laura Picard sera 1^{ère} auteure.

- Le chapitre 5 expose une vision préliminaire des résultats d'une approche globale de transcriptomique et protéomique mise en œuvre sur la souche PMB3(1). Il apparaît que, au bout de 20h de contact avec le minéral, la souche PMB3(1) régule l'expression de ses gènes en fonction de la disponibilité en nutriment et de la présence du minéral. En présence du minéral, les cellules bactériennes activent des processus liés à l'adhésion, suggérant une interaction forte entre bactéries et minéral. Cependant, la GMC oxydoréductase et la malléobactine ne semblent pas régulées en fonction de la présence du minéral, posant la question de la spécificité de ces mécanismes pour l'altération des minéraux. Ces résultats seront complétés par les données obtenues après des temps de contact plus longs avec le minéral (44h et 68h) en vue de publication.
- La conclusion récapitule les résultats et dresse des perspectives.
- La dernière partie regroupe toutes les références bibliographiques citées.

Cette thèse apparaît remarquable sur de nombreux plans. D'abord, elle représente un travail considérable. Sur le plan scientifique elle mobilise avec rigueur et efficacité des techniques de plusieurs champs disciplinaires : génomique comparative, génétique bactérienne, transcriptomique, protéomique, géochimie et analyses biochimiques. La doctorante intègre brillamment les approches des équipes de ses deux directeurs de thèse : biologie des organismes du sol (équipe IAM) et biogéochimie des écosystèmes forestiers. En matière de résultats, elle apporte des connaissances nouvelles sur les processus moléculaires mis en œuvre par les bactéries pour altérer les minéraux, que ce soit par acidolyse (identification d'une enzyme) ou par complexolyse (caractérisation d'une molécule). Ces résultats sont valorisés ou en passe de l'être par sept publications, dans d'excellentes revues internationales. La doctorante fait par ailleurs preuve d'une vision particulièrement large et solide de son sujet, en intégrant notamment les connaissances relatives aux plantes cultivées en milieu agricole. A l'évidence, ses résultats obtenus sur une bactérie de la rhizosphère forestière auront un impact dépassant largement les espaces forestiers. La forme enfin du manuscrit est particulièrement claire et bien illustrée.

L'ensemble de ces caractéristiques justifie pleinement la publication de l'analyse de la thèse de Laura PICARD sur le site de l'Académie d'agriculture de France, à titre de valorisation.