

Etude des Substances Extracellulaires Polymériques d'*Azotobacter vinelandii* en réponse aux variations de l'état hydrique d'un sol et conséquences sur la stabilité des agrégats

Au cours des dernières décennies, le changement des conditions climatiques dans l'atmosphère terrestre, en lien avec les activités humaines, est devenu une évidence, et le concept de changement global est apparu. Dans le domaine des sciences environnementales, ce changement global est majoritairement associé au changement climatique qui, selon le GIEC (1995), s'accompagnerait notamment d'une perturbation du cycle de l'eau, avec des épisodes d'excès et de carences d'eau déjà observables aujourd'hui à l'échelle planétaire.

Ces phénomènes, couplés à une utilisation intensive des sols et des besoins alimentaires croissants, conduisent à des menaces pour le sol, telles que l'érosion, le tassement, ou encore la perte de matière organique. Or, cette matière organique est un composant essentiel de la structure des sols qui est elle-même étroitement liée à différentes propriétés d'intérêt agronomique telles que la porosité et l'oxygénation du sol, la résistance à l'érosion ou à la compaction, ou encore la rétention ou le transport d'eau.

Si le concept de biofilm est utilisé depuis quelques décennies dans le domaine de l'eau (Costerton, 1999), il n'est apparu qu'au cours de la dernière décennie pour l'étude des sols (Burmølle et al., 2011). Un modèle de structure des agrégats du sol incluant les Substances Extracellulaires Polymériques (SEP) sécrétées par ces biofilms (Figure 1) a ainsi été récemment proposé pour illustrer ce nouveau concept (Büks and Kaupenjohann, 2016).

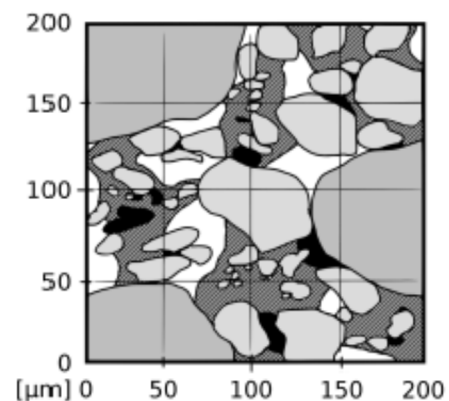


Figure 1 : Modèle de structure d'agrégat du sol incluant les biofilms : sable et limon (gris), matière organique particulaire (noir) sont associés par des interactions physico-chimiques et liés par des SEP (hachuré) qui stabilisent la structure et la porosité (blanc) de l'agrégat. (Büks and Kaupenjohann, 2016).

Ainsi, l'approche agronomique classique basée sur des analyses chimiques du sol est dorénavant couplée avec une approche biologique permettant d'associer des caractéristiques biotiques aux propriétés abiotiques. Jusqu'à aujourd'hui, et comme rapporté par Costa et al. (2018), les études ont essentiellement porté sur la description des communautés microbiennes en fonction des pratiques culturales ou du stress hydrique (Bacq-labreuil et al., 2019; Brangarí et al., 2018; Manzoni and Chimel, 2012), mais il existe **peu de travaux évaluant l'implication des polymères extracellulaires produits par ces organismes dans le processus d'agrégation et dans la stabilité des agrégats formés.**

Azotobacter vinelandii est une bactérie aérobie, non pathogène et qui possède des caractéristiques intéressantes pour des applications en agriculture en tant que biofertilisant permettant de restaurer la qualité des sols. Cette espèce est aujourd'hui relativement peu décrite, mais le genre *Azotobacter* est prometteur dans un cadre d'agriculture durable comme rapporté par Gauri et al. (2012), qui ont proposé une revue de ses remarquables capacités d'adaptation à des conditions environnementales très contrastées qui se manifestent, entre autres, à travers la sécrétion d'alginate hydro-rétenteur, de l'expression de nitrogénases permettant la fixation d'azote moléculaire ou encore de la formation de kystes.

L'objectif du projet de thèse sera donc d'étudier la **production de substances exopolymériques (SEP) par *Azotobacter vinelandii* ATCC 9046 en réponse à des variations de l'état hydrique de différents sols et les conséquences sur leurs propriétés physiques, et en particulier leur stabilité.**

La souche d'étude a fait l'objet d'un travail de thèse au laboratoire qui a établi sa capacité à former divers types de biofilms et en particulier des pellicules très cohésives et hydrophobes aux interfaces air-liquide pour lesquelles les SEP ont été décrites. La caractérisation des propriétés physico-chimiques des polymères sécrétés et l'identification des métabolismes d'adaptation en lien avec le génome et l'expression de protéomes spécifiques sont en cours d'étude. De plus, des premiers essais en sol laissent entrevoir des applications prometteuses.

Cette souche sera donc utilisée pour former des biofilms sur des agrégats de **sols naturels** présentant des propriétés de stabilité structurale différentes. Ces sols seront fournis au travers d'une collaboration avec le Centre Spatial d'Etude de la Biosphère (CESBIO, antenne d'Auch).

Le travail expérimental sera réalisé en conditions contrôlées de laboratoire et comprendra :

1- La caractérisation de sols naturels, correspondant à des pratiques culturales variées et caractéristiques du Sud-Ouest, déjà connus par le CESBIO d'un point de vue physico-chimique (texture, stabilité, pH, capacité d'échange cationique, etc) ; il conviendra de compléter leur analyse par une approche biologique et microbiologique (biomasse, activités enzymatiques, respiration) et une caractérisation de la fraction organique (spectroscopie infra-rouge, SEP notamment).

2- L'incubation en présence ou non d'*Azotobacter vinelandii* pour des conditions hydriques contrastées (allant d'une situation d'assèchement à un engorgement), avec un suivi de la respiration du sol et une approche cinétique de la production des SEP.

Cette étape comprendra une **phase de développement méthodologique** de façon à définir des conditions d'inoculation et d'incubation permettant d'obtenir des agrégats différenciés pour l'évaluation de l'effet du stress hydrique dans la production de SEP et la stabilité finale des agrégats.

3- La caractérisation des agrégats qui comprendra plusieurs volets :

- a. analyses physiques pour évaluer la stabilité, la mouillabilité ou encore la porosité des agrégats ;
- b. analyses biochimiques et chimiques des substances exopolymériques :
 - i. extraction et dosages sur la base des techniques développées au laboratoire ;
 - ii. dosages colorimétriques ou fluorimétriques, chromatographie d'exclusion de taille, spectroscopie infra-rouge...
 - iii. analyse protéomique pour identifier l'expression de protéines spécifiques au phénotype biofilm et contribuant à la structure de l'agrégat (protéines notamment amyloïdes, enzymes de synthèse d'exopolysaccharides).
- c. analyses métaboliques ou microbiologiques pour les microorganismes

A noter que la plupart des techniques envisagées ici sont maîtrisées au niveau du laboratoire sur d'autres agrégats bactériens (granules aérobies, biofilms), et partiellement sur des agrégats du sol, ce qui demandera donc une adaptation de certains protocoles.

- 4- **Une approche statistique** sera mise en œuvre pour établir des corrélations entre les différents paramètres biotiques et abiotiques et la stabilité finale des agrégats.

Un travail de **bio-informatique** pourra également être conduit par la valorisation des résultats de séquençage du génome (déjà réalisé) afin d'identifier les mécanismes cellulaires mobilisés pour l'adaptation de la souche à l'état hydrique environnant.

Ces avancées sur la compréhension des interactions entre la composition d'un sol, les substances exopolymériques microbiennes et l'état hydrique, ainsi que des conséquences sur la stabilité structurale des agrégats permettront d'envisager des applications agronomiques. En effet, il pourra être envisagé d'améliorer les propriétés du sol soit par ajout d'une souche bactérienne, soit par ajout des polymères, produits au préalable.

Profil du candidat :

Le sujet de thèse proposé est pluridisciplinaire et nécessite l'intégration de plusieurs champs disciplinaires pour être appréhendé. Le candidat, préférentiellement de formation initiale en **agronomie et / ou microbiologie de l'environnement** devra posséder de solides connaissances en microbiologie, biochimie et sciences du sol / pédologie. Des compétences en biologie moléculaire, bio-informatique et traitement statistique de données seront également appréciées.

L'autonomie, la rigueur, l'adaptabilité et l'esprit de synthèse seront des qualités recherchées chez les candidats potentiels.

L'étudiant devra pouvoir rédiger facilement des documents scientifiques y compris en anglais (niveau de français requis : C2 ; niveau d'anglais requis : B2).

Encadrement / contact :

Claire-Emmanuelle Marcato-Romain

claire-emmanuelle.romain@iut-tlse3.fr

05 62 61 63 05

Références :

Bacq-labreuil, A., Crawford, J., Mooney, S.J., Neal, A.L., Ritz, K., 2019. Cover crop species have contrasting influence upon soil structural genesis and microbial community phenotype. Scientific Reports 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43937-6>

Brangarí, A.C., Fernández-García, D., Sanchez-Vila, X., Manzoni, S., 2018. Ecological and soil hydraulic implications of microbial responses to stress – A modeling analysis. Advances in Water Resources 116, 178–194. <https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2017.11.005>

- Büks, F., Kaupenjohann, M., 2016. Enzymatic biofilm digestion in soil aggregates facilitates the release of particulate organic matter by sonication. *Soil* 2, 499–509. <https://doi.org/10.5194/soil-2-499-2016>
- Burmølle, M., Kjølter, A., Sørensen, S.J., 2011. Biofilms in Soil, in: Gliński, J., Horabik, J., Lipiec, J. (Eds.), *Encyclopedia of Agrophysics*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 70–75. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3585-1_260
- Costa, O.Y.A., Raaijmakers, J.M., Kuramae, E.E., 2018. Microbial Extracellular Polymeric Substances : Ecological Function and Impact on Soil Aggregation 9, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01636>
- Costerton, J.W., 1999. Introduction to biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents* 11, 217–221.
- Flores, C., Díaz-barrera, A., Martínez, F., Peña, C., 2014. Role of oxygen in the polymerization and depolymerization of alginate produced by *Azotobacter vinelandii*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 90, 356–365. <https://doi.org/10.1002/jctb.4548>
- Gauri, S.S., Mandal, S.M., Pati, B.R., 2012. Impact of *Azotobacter* exopolysaccharides on sustainable agriculture 331–338. <https://doi.org/10.1007/s00253-012-4159-0>
- Manzoni, S.T.M., Chimel, J.O.P.S., 2012. Responses of soil microbial communities to water stress : results from a meta-analysis 93, 930–938. <https://doi.org/10.2307/23213741>
- Moral, C.K., Yildiz, M., 2016. Alginate Production from Alternative Carbon Sources and Use of Polymer Based Adsorbent in Heavy Metal Removal. *International Journal of Polymer Science* 2016, 8.