

Proposition de sujet de stage Master 2

Caractérisation des métabolites d'exsudats racinaires par spectrométrie de masse

L'environnement immédiat des racines d'une plante, la rhizosphère, est un écosystème élaboré, en constante évolution, qui se crée grâce à des interactions subtiles entre la plante et les communautés microbiennes du sol. Ainsi, les racines sécrètent des molécules, émettent des cellules et des débris (l'ensemble constituant les rhizodépôts), afin de recruter des populations microbiennes parmi les flores telluriques et s'entourer d'un microenvironnement favorable au développement de la plante. Ces interactions sont complexes et multiples, et la maîtrise du fonctionnement de la rhizosphère, grand espoir de l'agroécologie, passe sans nul doute par le décryptage des signaux moléculaires échangés entre la racine et son microbiote.¹

Ainsi, le laboratoire COBRA est partenaire du projet 'Bactéries, Exsudats et Rhizodépôts' dont l'objectif est d'apporter des éléments forts de compréhension sur les relations entre le système racinaire et les bactéries du microbiote rhizosphérique. Ce projet propose d'analyser la composition des exsudats racinaires de cinq plantes et d'étudier leur impact sur le comportement de sept bactéries, ainsi que sur la structure de certains microbiotes rhizosphériques. L'objectif est d'identifier des molécules ou des interactions impliquées dans le biocontrôle de la rhizosphère. Les exsudats sont préparés par les partenaires du projet, laboratoires Glyco-MEV (*Arabidopsis thaliana*), LMSM (pomme de terre), EVA (colza et ray-grass) et Aghyle (pois). L'objectif du laboratoire COBRA au sein du projet est l'étude des métabolites présents dans ces exsudats et de la variabilité liée à l'environnement de la plante. En effet, au niveau de la rhizosphère, les métabolites issus des racines ont un rôle-clef dans les interactions racines-microbiote, mais forment un mélange complexe.

Deux approches métabolomiques complémentaires seront développées associées à des étapes de préparation des échantillons. La concentration en métabolites étant très faible dans les exsudats, un facteur de concentration important est nécessaire pour pouvoir les détecter. L'extraction sur phase solide avec un système automatisé permet d'y parvenir. D'une part, le couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse haute résolution (LC-MS/MS) permet la séparation chromatographique des espèces et l'obtention de spectres MS/MS. Le traitement de données par réalisation de réseaux moléculaires apporte des éléments de caractérisation des différentes familles chimiques présentes.² D'autre part, l'analyse par introduction directe des exsudats par spectrométrie de masse à ultra-haute résolution (FTICR) permet de déterminer de façon exhaustive les formules moléculaires de l'ensemble des espèces détectées grâce à la très grande précision de mesure de masse et l'accès à la structure isotopique fine.³ Des développements pour un couplage en nano-LC et/ou en introduction directe automatisée sont envisagés. L'association des deux techniques permettra d'aboutir à une cartographie des métabolites présents dans les plantes.

Ainsi, le stagiaire Master 2 sera en charge de l'ensemble du workflow : de la préparation des différents types d'exsudats, aux analyses LC-MS/MS et analyses par introduction directe FTICR en ionisation *electrospray* et MALDI ainsi qu'au traitement des données. Ces travaux permettront de caractériser les métabolites des exsudats des 5 plantes du projet et la variabilité associée à l'environnement de la plante.

¹ Mhlongo et al. *Frontiers in Plant Science*, 9, 2018

² Wang et al. *Nat Biotechnol.*, 34, 2016

³ Perruchon O., Schmitz-Afonso I., Grondin C., Casaregola S., Afonso C., Elomri A. *J. Pharm. Biomed. Analysis*, 195, 2021

Lettre de motivation et CV à envoyer à :

Isabelle Schmitz-Afonso

E-mail : isabelle.schmitz-afonso@univ-rouen.fr

Encadrants de stage :

Isabelle Schmitz-Afonso, ingénieur de recherche

E-mail : isabelle.schmitz-afonso@univ-rouen.fr

Afonso Carlos, professeur des universités

E-mail : carlos.afonso@univ-rouen.fr

Coordonnées du laboratoire d'accueil :

Laboratoire COBRA

Rue Lucien Tesnière, Bâtiment IRCOF

76130 Mont Saint Aignan

Le stagiaire pourra être amené à se rendre dans les laboratoires partenaires, en charge de la récolte des exsudats.

Période du stage :

Premier semestre 2022