

Conserver les communautés microbiennes associées aux plantes viables et fonctionnelles : premiers résultats

Missimahou OUSSOU¹
Géraldine TAGHOUTI¹
Steven JAGLINE¹
Thomas LERENARD¹
Audrey LATHUS¹
Cécile DUTRIEUX¹
Perrine PORTIER¹

CORRESPONDANCE
perrine.portier@inrae.fr

RÉSUMÉ

Les microbiotes qui vivent en association avec l'ensemble des êtres vivants présentent un important intérêt en agriculture, notamment pour l'amélioration de la santé des plantes. Cependant, leur manipulation demande à pouvoir préserver ces communautés vivantes et fonctionnelles. Préserver ces communautés de façon efficace n'est pas simple, celles-ci étant composées d'une très grande diversité de microorganismes que, pour beaucoup, nous ne savons cultiver.

À la Collection Française des Bactéries associées aux Plantes, CIRM-CFBP, basée à INRAE Angers, nous avons mis en place le projet MICROSTORE, financé par le département Santé des Plantes et Environnement d'INRAE. L'objectif de ce projet, actuellement en cours, est de mesurer l'impact de la conservation de microbiotes associés aux feuilles et aux graines de radis ainsi que l'impact d'une étape d'amplification biologique après conservation.. Nous avons, avant et après conservation pendant deux ans, mesuré la composition taxonomique (par barcoding) et la diversité fonctionnelle (par technologie Biolog) pour chaque microbiote. L'analyse des données est en cours de finalisation, cependant, les données recueillies nous livrent déjà des informations précises sur l'effet de la conservation et sur l'effet d'une étape d'amplification biologique après conservation sur les microbiotes associés aux plantes. À terme, ces travaux devraient fournir aux scientifiques des outils pour mieux préserver ce type de ressources biologiques.

MOTS-CLÉS

Communautés microbiennes, plantes et semences, Centre de Ressources Biologiques, conservation.

¹ Université d'Angers, Institut Agro, INRAE, IRHS, SFR QUASAV, CIRM-CFBP, F-49000 Angers, France.

Preservation of viable and functional plant-associated microbial communities: first results

Missimahou OUSSOU¹
Géraldine TAGHOUTI¹
Steven JAGLINE¹
Thomas LERENARD¹
Audrey LATHUS¹
Cécile DUTRIEUX¹
Perrine PORTIER¹

CORRESPONDENCE
perrine.portier@inrae.fr

ABSTRACT

Microbiota are communities of microorganisms living associated with all living beings. They are of a great interest in agriculture, including to enhance plant health. However, their handling requires to preserve them alive and functioning on a long-term basis.

Reliable preservation of these communities is not simple, because they are composed of a great diversity of microorganisms, some of them we do not know how to cultivate.

At the French Collection for Plant-associated Bacteria (CIRM-CFBP) located at INRAE Angers, we proposed to measure the impact of the preservation on microbiota associated with radish leaves and seeds. We measured the impact of preservation on the taxonomic diversity (by barcoding) and the functional diversity (by Biolog technology) of these microbiotas before and after preservation for two years. This work enhances knowledge of the influence of preservation and of a multiplication stage after preservation. It will permit to make tools available to scientists enhancing the preservation of these resources.

KEYWORDS

Microbial communities, plant and seeds, Biological Resource Center, preservation.

¹ Université d'Angers, Institut Agro, INRAE, IRHS, SFR QUASAV, CIRM-CFBP, F-49000 Angers, France.

Introduction

Les microbiotes qui vivent en association avec l'ensemble des êtres vivants présentent un important intérêt en agriculture, notamment pour l'amélioration de la santé des plantes ; ceci sous condition de préserver ces communautés vivantes et fonctionnelles pendant leur manipulation. Or, préserver ces communautés de façon efficace n'est pas simple, car elles sont composées d'une très grande diversité de microorganismes que, pour beaucoup, nous ne savons pas cultiver.

S'il existe des études sur la conservation, elles portent pour beaucoup sur le microbiote humain (Kerckhof et al., 2014 ; Fouhy et al., 2015 ; Gacy et al., 2017), même si on peut trouver quelques données pour des microbiotes du sol (Richaume et al., 2006) ou encore des co-cultures méthanotrophiques ou des biofilms de stations d'épuration (Kerckhof et al., 2014). En revanche, aucune publication à ce jour ne fait état de la conservation des microbiotes de plantes, ni ne permet de répondre aux questions spécifiques à cette conservation. L'utilisation, parfois, d'étapes d'amplification en fermenteur ne permet pas une comparaison stricte entre un état initial et un état d'après conservation. De plus, les données acquises concernant les capacités métaboliques sont très ciblées et ne permettent pas d'avoir une idée globale de la façon dont réagit un microbiote à la conservation.

À la Collection Française des Bactéries associées aux Plantes, CIRM-CFBP, basée à INRAE Angers, nous avons mis en place, en 2019, le projet MICROS-TORE, financé par le département Santé des Plantes et Environnement d'INRAE. L'objectif de ce projet, actuellement en cours, est de mesurer l'impact de la conservation de microbiotes associés aux feuilles et aux graines de radis ainsi que celui d'une étape d'amplification biologique après conservation.

En pratique, nous avons extrait deux microbiotes de semences de radis et deux microbiotes de feuilles de radis cultivés à partir de ce même lot. Nous avons aussi construit une communauté synthétique (Syn-Com) à partir de 10 souches bactériennes isolées de semences de radis et de haricot afin de servir de point de référence. Les microbiotes ont ensuite été conservés pendant 2 ans selon 3 modalités : lyophilisées, cryoconservées en glycérol à -80 °C en congélateur ou à -196 °C dans l'azote liquide. Pour chaque microbiote, nous avons mesuré, avant et après conser-

vation, la composition taxonomique (par barcoding) et la diversité fonctionnelle (par technologie Biolog).

Nous livrons ici les premiers résultats issus de ces travaux, après une présentation des enjeux liés aux microbiotes de plantes ainsi qu'un état de l'art de la conservation du microbiote.

Enjeux liés aux microbiotes des plantes

À l'instar des animaux, les plantes vivent en association avec des communautés microbiennes, complexes (Muller et al., 2016). Les communautés microbiennes, ou microbiotes, sont définies comme un assemblage de microorganismes appartenant à différents règnes et interagissant les uns avec les autres dans un environnement contigu (Berg et al., 2020). Ces communautés peuvent remplir plusieurs rôles pour la plante. Ainsi, la composition du microbiote, présent dans le sol ou dans les racines, a un impact sur la croissance (Sugiyama et al., 2021) et sur la date de floraison (Pank-Buisse et al., 2015) chez *Arabidopsis thaliana*. Il a aussi été démontré que le microbiote joue un rôle dans la résistance du chou champêtre (*Brassica rapa*) au stress hydrique (Lau & Lennon, 2012), ou encore que, sous l'effet d'un stress hydrique, les microbiotes associés au riz sont modifiés, permettant une meilleure survie de la plante (Santos-Medellin et al., 2017). D'une manière générale, les microbiotes végétaux sont impliqués dans la résistance à différents stress abiotiques : inondation, sécheresse, carence en azote et phosphore (Hartman & Tringe, 2019).

Les microbiotes végétaux jouent aussi un rôle dans la réponse des plantes aux pathogènes et dans la transmission de ces pathogènes par les semences. Certains pathogènes sont, en effet, transmis par les semences (qui constituent alors une source d'inoculum primaire), et sont transmis à la plantule lors de la germination. La composition du microbiote peut influencer cette transmission (Barret et al., 2016). Ainsi, une forte compétition pour les ressources a été observée entre *Xanthomonas campestris*, pathogène des Brassicacées, et deux souches bactériennes appartenant à l'espèce *Stenotrophomonas rhizophila* issues du microbiote de graines de radis, suggérant que des constituants du microbiote des semences pourraient entrer en compétition avec des pathogènes et ainsi limiter leur transmission par les semences (Torres-Cortès et al., 2019). De même, l'effet suppressif de certains sols vis-à-vis de maladies microbiennes est conféré par les microorganismes du sol. Par exemple, des communautés microbiennes protègent les betteraves sucrières contre le pathogène fongique racinaire *Rhizoctonia solani* (Mendes et al., 2011), ou encore, une flavobac-

térie a été décrite comme protégeant les tomates contre l'infection par *Ralstonia solanacearum* (Kwak et al., 2018).

Au-delà de ces effets directs de protection contre les maladies, le microbiote étendrait l'immunité des plantes via un amorçage des défenses des plantes, et agirait comme une couche supplémentaire de défense contre les organismes pathogènes (Teixera et al., 2019). Selon McLaren & Callahan (2020), la résistance aux pathogènes pourrait même être le principal avantage évolutif issu du microbiote chez les plantes.

L'utilisation de microbiotes natifs ou de communautés synthétiques (SynCom) permet ainsi d'aborder les causalités entre la composition des microbiotes et la résistance des plantes, ou de proposer des perspectives d'application.

L'utilisation de communautés synthétiques se focalise sur l'utilisation de microorganismes particuliers ou de taxons clés qui peuvent fournir des nutriments indispensables, une résistance à un pathogène ou promouvoir des fonctions microbiennes (Qiu et al., 2019). Ces SynCom peuvent également servir de modèle pour étudier les mécanismes d'assemblage du microbiote végétal (Ishizawa et al., 2020). Par exemple, une Syncom assemblée à partir de souches de la rhizosphère de canne à sucre a montré qu'elle pouvait améliorer la croissance du maïs (Armanhi et al., 2017), ou encore un assemblage de sept souches bactériennes permet de protéger le maïs contre l'infection par *Fusarium verticillioides* (Niu et al., 2017). Cependant, même si des efforts ont été faits en ce sens (Lewis et al., 2020), il n'est pas possible d'isoler l'ensemble des membres des microbiotes, une bonne partie d'entre eux n'étant pas cultivables, et de les utiliser dans des SynCom. Celles-ci ne sont donc pas représentatives d'un microbiote natif complexe.

À l'inverse, les communautés naturelles présentent l'avantage d'être composées de la totalité du microbiote. Celles-ci sont d'ailleurs déjà utilisées en santé humaine ou vétérinaire avec succès (exemple de la transplantation fécale ; Wang et al., 2019 ; Pereira et al., 2018).

Il existe cependant une limite à l'emploi des communautés natives, c'est celle de leur conservation. En effet, leur utilisation se fait à partir soit de communautés fraîches, soit de portions de matière les contenant. Il n'existe pas de méthode établie de conservation de ces communautés en dehors de la matière dans laquelle elles se trouvent. D'autre part, chez la plante, il n'existe pas d'études sur l'utilisation de microbiotes natifs, et quasiment aucune sur leur conservation, alors que

plusieurs études tendent à les proposer comme solutions de lutte contre les pathogènes de plante. Il y a donc un enjeu important à pouvoir stocker ces microbiotes et préserver leur viabilité pour des études et utilisations ultérieures.

La conservation des communautés microbiennes vivantes : état de l'art

Les microbiotes sont très diversifiés et sont constitués d'une part non négligeable d'organismes non cultivables en laboratoire. Ainsi, dans la phyllosphère d'*Arabidopsis thaliana* seulement 60 % des microorganismes sont cultivables (Bai et al., 2015).

La conservation appliquée à ces communautés, afin de les garder vivantes, aura donc un effet différentiel sur la survie des différents organismes qui les composent et, par conséquent, un impact sur la diversité taxonomique de ces communautés. En conséquence, cette modification de la composition taxonomique induite par la conservation pourra aussi avoir un impact sur la diversité fonctionnelle des communautés conservées.

À ce jour, les études sur la conservation portent pour beaucoup sur le microbiote humain (Kerckhof et al., 2014 ; Fouhy et al., 2015 ; Gacy et al., 2017) même si on peut trouver quelques données pour des microbiotes du sol (Richaume et al., 2006) ou encore des co-cultures méthanotrophiques ou des biofilms de stations d'épuration (Kerckhof et al., 2014).

Ces études sont assez diverses tant par leur mise en place que par leurs résultats.

Les modes de conservation étudiés sont la congélation à -80° C ou la lyophilisation, parfois après une étape d'amplification en fermenteur. La composition taxonomique est analysée par métabarcoding 16S, par puce à ADN spécifique des familles bactériennes du microbiote humain, ou par RISA (Ribosomal RNA intergenic spacer analysis, méthode d'analyse basée sur les régions inter-géniques de l'ARNr qui évite les biais liés aux étapes de culture). Les capacités métaboliques sont souvent non évaluées ou portent sur des activités spécifiques (production de gaz et acides gras à chaînes courtes, quantification de la biomasse, des nitrites et des gaz produits, respiration sur glucose et capacité à transformer des substrats cibles).

Les résultats de ces études aussi sont divergents. Ainsi, Fouhy et al. (2014) concluent à une absence de modification de la composition taxonomique du microbiote intestinal humain après 7 jours de conservation ; mais on peut se demander si cela n'est pas biaisé par le fait que la méthode de métabarcoding analyse l'ADN

des cellules, qu'elles soient viables ou pas. Pour cette étude, seule la viabilité des microbiotes a été évaluée mais pas leurs capacités métaboliques.

Par contre, Gacy et al. (2017), toujours pour le microbiote intestinal humain, et après une étape d'amplification en fermenteur, concluent que la conservation induit des modifications de la composition taxonomique des communautés.

Kerckhof et al. (2014) ont étudié simultanément trois communautés très différentes. Ils concluent que la composition taxonomique après conservation est altérée, même si la structure générale des communautés est inchangée.

Enfin, Richaume et al. (2006) indiquent, qu'après 15 ou 30 jours de conservation, des changements dans la composition taxonomique ou les capacités métaboliques sont observables.

Matériels et méthodes

Le CIRM-CFBP, Collection Française des Bactéries associées aux Plantes (membre du pilier microbien de RARe : <https://cirm-cfbp.fr/>) préserve, depuis près de 50 ans, des ressources bactériennes stratégiques pour la santé des plantes. Au CIRM-CFBP, les bactéries sont préservées sous 3 modalités : lyophilisées, cryoconservées en glycérol à -80° C en congélateur ou à -196° C dans l'azote liquide.

Nous avons proposé d'appliquer ces trois modes de préservation, que nous maîtrisons, à des microbiotes issus de plantes, et d'évaluer leur composition taxo-

nomique en bactéries et champignons et leur diversité fonctionnelle avant et après deux années de conservation.

En pratique, nous avons extrait deux microbiotes de semences de radis et deux microbiotes de feuilles de radis cultivés à partir de ce même lot. Nous avons aussi construit une communauté synthétique (SynCom) à partir de 10 souches bactériennes isolées de semences de radis et de haricot afin de servir de point de référence.

La composition taxonomique des microbiotes a été analysée par métabarcoding des marqueurs 16S, ITS1 et gyrB (Barret et al., 2015). Le marqueur 16S permet d'identifier les grandes familles bactériennes, le marqueur ITS1 est spécifique des champignons et le marqueur gyrB permet d'avoir une résolution taxonomique plus fine pour les membres des protéobactéries.

La diversité fonctionnelle a été évaluée par la technologie Biolog. Cette technologie est basée sur l'utilisation de plaques, dont chaque puits comporte un substrat unique, et la visualisation par indicateur coloré. Les plaques sont inoculées avec une souche de microorganisme ou une communauté en suspension. Si les organismes placés dans le puits sont en capacité de métaboliser le substrat, cela induit une respiration cellulaire et la production de NADH, ce qui se traduit par la réduction du Tétrazolium incolore en Formazan de couleur violette. Ainsi, cette méthode permet de quantifier la respiration liée à la métabolisation du substrat. Différents types de plaques sont commercialisés par

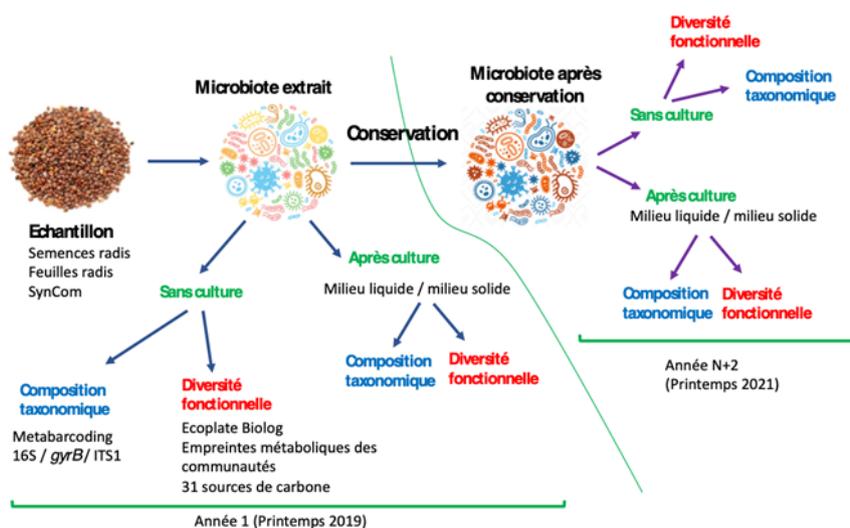


Figure 1. Plan expérimental du projet Microstore. La composition taxonomique et la diversité fonctionnelle de deux microbiotes de semences de radis, de deux microbiotes de feuilles de radis (cultivées à partir du même lot de semences) et d'une communauté synthétique (SynCom) sont mesurées avant et après conservation (lyophilisation, cryopréservation à -80 °C ou -196 °C), avant et après une étape d'amplification biologique sur milieu solide ou en milieu liquide.

Biolog. Nous avons utilisé les plaques Ecoplates selon les spécifications du fournisseur. Celles-ci, spécifiquement conçues pour mesurer les empreintes métaboliques des communautés microbiennes, comportent 31 sources de carbone en triplicat (6 acides aminés, 2 amines, 10 glucides, 7 acides carboxyliques, 2 composés phénoliques et 4 polymères). L'acquisition des données s'est faite dans un appareil Omnilog permettant une acquisition à haut débit (jusque 50 plaques). La composition taxonomique et la diversité fonctionnelle ont été analysées, pour chaque microbiote, avant et après conservation, et avec ou non une étape d'amplification en milieu solide (Tryptic Soy Agar 10 %, 4 jours) ou en milieu liquide (Tryptic Soy Broth 10 %, 24h). Cette étape d'amplification par culture a été testée, car une utilisation des microbiotes dans un domaine appliqué nécessitera probablement d'amplifier le matériel biologique. Or, cette culture induit, elle aussi, des biais qui s'ajoutent à ceux induits par la seule conservation. La comparaison avant/après conservation et avec/sans culture permettra de mieux appréhender le rôle de chacune de ces étapes. Le plan expérimental est présenté dans la figure 1. Les expérimentations ont été menées, pour les étapes avant conservation au printemps 2019, et pour les étapes après conservation au printemps 2021.

Résultats préliminaires et analyse

L'analyse des données est en cours de finalisation et donnera lieu à une publication.

Cependant, les premiers résultats nous permettent déjà de tirer quelques conclusions.

L'analyse de la diversité taxonomique **avant conservation** indique que celle-ci est plus élevée dans les feuilles de radis que dans les semences. Ceci avait déjà été démontré pour l'épinard (Lopez-Velasco et al., 2013). De plus, après une étape de culture, la diversité diminue fortement (Figure 2).

La diversité fonctionnelle est, par contre, peu impactée par les étapes de culture appliquées **avant la conservation**. On observe plus de différences entre les différents types de microbiotes (SynCom, graine ou feuille) que dues aux étapes de culture (Figure 3). Les microbiotes de feuilles se distinguent par leur capacité à métaboliser le glycogène (capacité absente chez les autres microbiotes).

Nous avons également comparé l'empreinte métabolique de la communauté synthétique à celle de chaque souche prise individuellement (Figure 4).

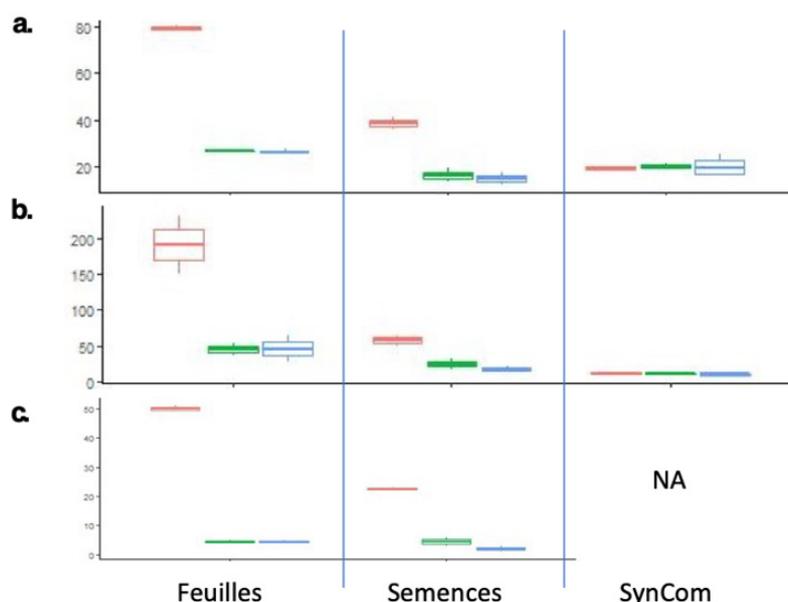


Figure 2. Alpha-diversité (= richesse spécifique) dans les microbiotes de feuille, semences et communauté synthétique (SynCom) avant conservation, mesurée par métabarcoding avec les marqueurs 16S, gyrB et ITS1.

a : 16S, b : gyrB, c : ITS1. En rouge : sans étape de culture. En vert : après une étape de culture en milieu liquide. En bleu : après une étape de culture en milieu solide.

NA : Non Applicable

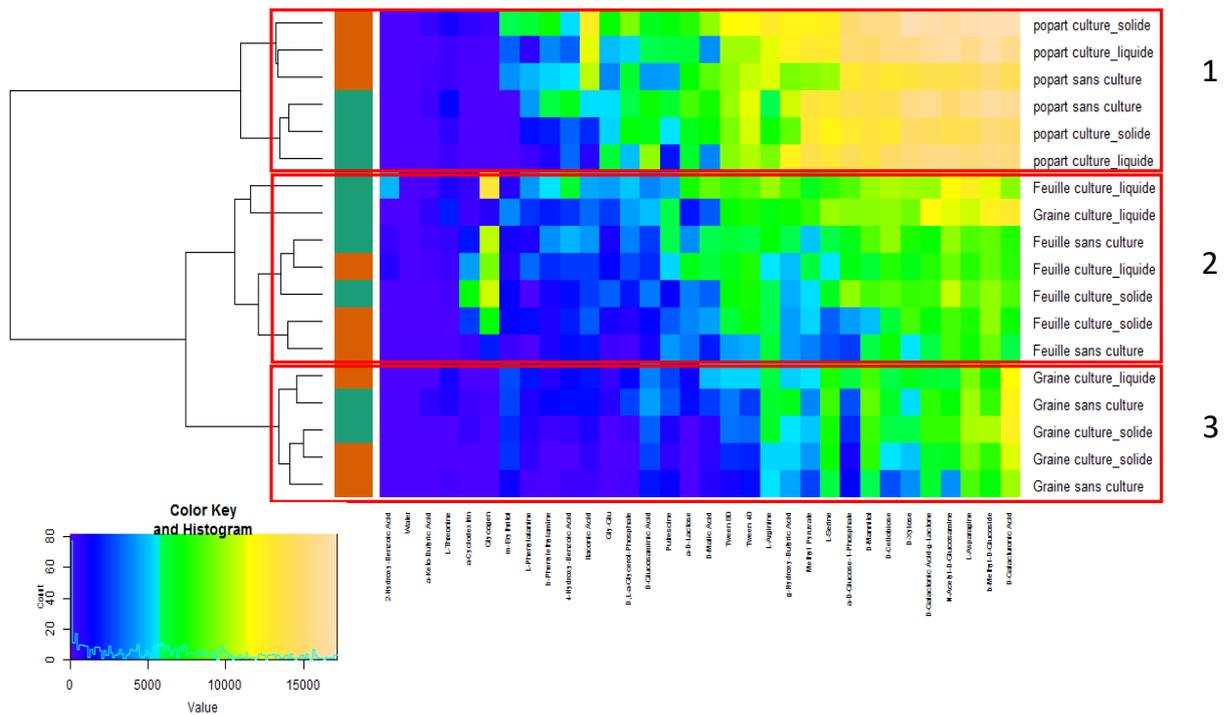


Figure 3. Intensité de métabolisation des 31 substrats présents sur les plaques Ecoplates, avant conservation. L'intensité varie du bleu (non métabolisé) au beige (métabolisation complète). Le Cluster 1 regroupe les communautés synthétiques, le cluster 2 regroupe les microbiotes de feuilles (+ un des microbiotes de semences) et le cluster 3 regroupe les microbiotes de semences. Il n'y a pas de clusterisation en fonction de l'application ou non d'une étape de culture avant conservation.

Composés	13502	13505	13507	13508	13511	13513	13530	13571	13575	13603	SynCom 1	SynCom 2
Eau (témoin -)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b-Methyl-D-Glucoside	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
D-Galactonic_Acid-g-Lactone	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
L-Arginine	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
Methyl_Pyruvate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Xylose	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
D-Galacturonic_Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Asparagine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tween_40	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
m-Erythritol	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
2-Hydroxy-Benzoic_Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Phenylalanine	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
Tween_80	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+
D-Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
4-Hydroxy-Butyric_Acid	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+
L-Serine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
a-Cyclodextrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N-Acetyl-D-Glucosamine	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+
g-Hydroxy-Butyric_Acid	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+
L-Threonine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycogen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Glucosaminic_Acid	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+
Itaconic_Acid	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+
Gly-Glu	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
D-Cellobiose	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
a-D-Glucose-1-Phosphate	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
a-Keto-Butyric_Acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b-Phenylethylamine	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
a-D-Lactose	+	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+
D,L-a-Glycerol-Phosphate	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
D-Malic_Acid	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
Putrescine	+	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+

Figure 4. Empreinte métabolique de la communauté synthétique (en dupliqué) et des souches individuelles qui la composent. Chaque case verte représente une réaction positive.

La diversité fonctionnelle des communautés synthétiques est supérieure à celle des souches individuelles. Nous n'observons pas d'émergence de capacités, chacune est présente au moins chez une souche et, de même, nous n'observons pas de phénomène d'inhibition. Un composé (m-Erythritol) présente une réaction variable entre les deux répétitions pour la communauté synthétique.

Après conservation, on observe un effet significatif des étapes de culture sur la diversité taxonomique ; par contre, la conservation elle-même n'a pas d'effet significatif. Cela pourrait être dû à la persistance de l'ADN dans le milieu même après la perte de viabilité des organismes. Pour la diversité fonctionnelle en revanche, la conservation a un impact significatif, mais pas les étapes de cultures appliquées en sortie de conservation.

Conclusion

L'objectif du projet MICROSTORE est mesurer l'impact de la conservation de microbiotes associés aux feuilles et aux graines de radis. L'analyse des données est en cours de finalisation, cependant, les données recueillies nous livrent déjà des informations précises sur l'effet de la conservation et sur l'effet d'une étape d'amplification biologique après conservation sur les microbiotes associés aux plantes.

À partir de ces travaux, il reste à déterminer quelle méthode de conservation est la mieux adaptée pour optimiser la conservation de ces communautés.

Ces résultats permettront rapidement de proposer des outils, aux scientifiques du domaine, pour optimiser la préservation de leurs microbiotes d'intérêt. ■

Remerciements

Un grand merci à Marie Simonin, Gilles Hunault et Matthieu Barret pour leur aide précieuse pour les analyses et leurs suggestions tout au long de ce projet.

Financement

Projet Microstore 2019-2021, département SPE INRAE.

Références

Armanhi J.S.L., Souza R.S.C. de, Damasceno N. de B., Araújo L.M. de, Imperial J. and Arruda P (2017). A Community-Based Culture Collection for Targeting Novel Plant Growth-Promoting Bacteria from the Sugarcane Microbiome. *Front Plant Sci*, 8, 2191.

Bai Y., Müller D. B., Srinivas G., Garrido-Oter R., Potthoff E., Rott M., Dombrowski N., Münch P.C., Spaepen S., Remus-Emsermann M., Hüttel B., McHardy A.C., Vorholt J.A. and Schulze-Lefert P. (2015). Functional overlap of the Arabidopsis leaf and root microbiota. *Nature* 2015 Vol. 528. Pages 364.

Barret M, Briand M, Bonneau S, Prévieux A, Valière S, Bouchez O, Hunault G, Simoneau P, Jacques MA (2015) Emergence shapes the structure of the seed-microbiota. *Appl. Environ. Microbiol* 81 (4) : 1257-1266

Barret M., Guimbaud J., Darrasse A. and Jacques M. (2016). Plant microbiota affects seed transmission of phytopathogenic microorganisms. *Mol Plant Pathol*, 17, 791-795.

Berg G., Rybakova D., Fischer D. et al. (2020). Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8, 103.

Fouhy F, Deane J, Rea MC, O'Sullivan Ó, Ross RP, O'Callaghan G, Stanton C. (2015). The Effects of Freezing on Faecal Microbiota as Determined Using MiSeq Sequencing and Culture-Based Investigations (J Neu, Ed.). *PLOS ONE* 10, e0119355.

- Gaci N, Chaudhary PP, Tottey W, Alric M, Brugère J-F. (2017). Functional amplification and preservation of human gut microbiota. *Microbial Ecology in Health and Disease* 28, 1308070.
- Ishizawa H., Tada M., Kuroda M., Inoue D., Futamata H. and Ike M. (2020). Synthetic Bacterial Community of Duckweed: A Simple and Stable System to Study Plant-microbe Interactions. *Microbes Environ*, 35.
- Kerckhof F-M, Courtens ENP, Geirnaert A et al. (2014). Optimized Cryopreservation of Mixed Microbial Communities for Conserved Functionality and Diversity (K McCluskey, Ed.). *PLoS ONE* 9, e99517.
- Kwak M.-J., Kong H.G., Choi K. et al. (2018). Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato. *Nature Biotechnology*, 36, 1100–1109.
- Lau J.A. and Lennon J.T. (2012). Rapid responses of soil microorganisms improve plant fitness in novel environments. *PNAS*, 109, 14058–14062.
- Lewis W.H., Tahon G., Geesink P., Sousa D.Z. and Ettema T.J.G. (2020). Innovations to culturing the uncultured microbial majority. *Nat Rev Microbiol*.
- Lopez-Velasco G., Carder P.A., Welbaum G.E. and Ponder M.A. (2013). Diversity of the spinach (*Spinacia oleracea*) spermosphere and phyllosphere bacterial communities. *FEMS Microbiol Lett*, 346, 146–154.
- McLaren M.R. and Callahan B.J. (2020). Pathogen resistance may be the principal evolutionary advantage provided by the microbiome. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 375, 20190592.
- Mendes R., Kruijt M., Bruijn I. de et al. (2011). Deciphering the rhizosphere microbiome for disease-suppressive bacteria. *Science*, 332, 1097–1100.
- Müller D.B., Vogel C., Bai Y. and Vorholt J.A. (2016). The Plant Microbiota: Systems-Level Insights and Perspectives. *Annu Rev Genet*, 50, 211–234.
- Niu B., Paulson J.N., Zheng X. and Kolter R. (2017). Simplified and representative bacterial community of maize roots. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114, E2450–E2459.
- Pereira G.Q., Gomes L.A., Santos I.S., Alfieri A.F., Weese J.S. and Costa M.C. (2018). Fecal microbiota transplantation in puppies with canine parvovirus infection. *J Vet Intern Med*, 32, 707–711.
- Qiu Z., Egidi E., Liu H., Kaur S. and Singh B.K. (2019). New frontiers in agriculture productivity: Optimised microbial inoculants and in situ microbiome engineering. *Biotechnology Advances*, 37, 107371.
- Richaume A, Pourcelot A, Rama R, Nazaret S. (2006). Évaluation des modifications quantitatives, qualitatives et fonctionnelles induites par la conservation de consortiums bactériens extraits de sols., 19, *Les Actes du BRG*, 6, 371–389.
- Santos-Medellin C., Edwards J., Liechty Z., Nguyen B. and Sundaresan V. (2017). Drought Stress Results in a Compartment-Specific Restructuring of the Rice Root-Associated Microbiomes. *mBio*, 8.
- Sharma R., Nimonkar, Y., Sharma A., Rathore R.S. and Prakash O. (2018). Concept of Microbial Preservation: Past, Present and Future. In S. K. Sharma and A. Varma, eds. *Microbial Resource Conservation: Conventional to Modern Approaches*. Soil Biology. Cham: Springer International Publishing, pp. 35–54.
- Sugiyama A, Bakker M.G., Badri D.V., Manter D.K., Vivanco J.M. (2013). Relationships between *Arabidopsis* genotype-specific biomass accumulation and associated soil microbial communities. *Botany* 91: 123–12
- Teixeira P.J.P., Colaianni N.R., Fitzpatrick C.R. and Dangl J.L. (2019). Beyond pathogens: microbiota interactions with the plant immune system. *Curr Opin Microbiol*, 49, 7–17.
- Torres-Cortès G., Garcia B.J., Compant S. et al. (2019). Differences in resource use lead to coexistence of seed-transmitted microbial populations. *Sci Rep*, 9, 6648.
- Wang J.-W., Kuo C.-H., Kuo F.-C. et al. (2019). Fecal microbiota transplantation: Review and update. *J Formos Med Assoc*, 118 Suppl 1, S23–S31.



Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA). <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « NOV'AE », la date de sa publication et son URL.