

Mirror doctoral project - Information Sheet



Project Title & Acronym	Metabolomic & functional exploration of bacteria associated with entomopathogenic nematodes: towards new metabolites for biocontrol and microbial ecology
Scientific Co-Directors	Alyssa Carré-Mlouka, Sébastien Dutertre
Doctoral Project 1	Purification, role and biological activities of specialized metabolites from bacteria associated with entomopathogenic nematodes
Phd Supervisor 1	Alyssa Carré-Mlouka
Research Unit 1	DGIMI
Doctoral School 1	ED Gaïa
Doctoral Project 2	Identification and quantification of specialized bacterial metabolites in the ecological niche of entomopathogenic nematodes
Phd Supervisor 2	Sébastien Dutertre
Research Unit 2	IBMM
Doctoral School 2	ED SCB



This project was supported by French government funding managed by the National Research Agency (ANR) under the France 2030 program, with the reference ANR-21-SFRI-0004.





What Is An IDIL Mirror Doctoral Project?

A mirror doctoral project bridges **two distinct disciplinary theses** within a **shared multidisciplinary research framework**.

The objective is to tackle a single research project through the lens of **two different disciplines to foster multidisciplinary**. This requires utilizing the specific methods and references inherent to each of the fields involved.

For the Fall 2026 intake, the IDIL Graduate Program is funding **six mirror doctoral projects**, representing a total of **12 three-year doctoral contracts**.

Theses are funded from the outset for **3 years**, including the PhD student's salary and an environmental allowance.

Application procedure

To apply for an IDIL mirror doctoral contract, candidates must complete and **submit their application before the deadline using the form on our website**:

<https://idil.edu.umontpellier.fr/candidatures-phd-contrats-doctoraux-en-miroir-idil-2026/>

Since each IDIL mirror doctoral project integrates two different contracts in two distinct disciplines, candidates must **specify on the form which doctoral subject (A or B)** within the project they are applying for.

PhD Start Date: October 1st, 2026

PhD End Date: September 30th, 2029

Application Requirements

All documents must be submitted in **PDF format** for evaluation.

Mandatory Documents:

- **Cover letter**, signed and dated.
- **Curriculum Vitae (CV)**.
- **Academic transcripts** for L3, M1, and M2 (or all years of an equivalent degree, such as an Engineering degree) **including your ranking**. These transcripts must be combined into a **single PDF file**.

Optional Documents:

- Letter(s) of recommendation

PhD Subjects & Applicant Requirements

METABONEP: Metabolomic & functional exploration of bacteria associated with entomopathogenic nematodes: towards new metabolites for biocontrol and microbial ecology

PHD SUBJECT A – LIFE & ENVIRONMENTAL SCIENCES, SCIENCE & TECHNOLOGY (GAIA)

Purification, role, and biological activities of specialized metabolites from bacteria associated with entomopathogenic nematodes

Desired Candidate Profile:

The ideal candidate will hold a Master's degree (or equivalent) in microbiology, biochemistry or biotechnology, with a strong interest in microbial chemical ecology and the discovery of specialized metabolites and natural compounds using analytical chemistry tools. They must possess a solid foundation in experimental microbiology (bacterial culture) and ideally have initial experience in the extraction, purification, and characterization of metabolites (liquid chromatography, biological assays), as well as some knowledge of mass spectrometry and/or bioinformatics (genome analysis, antiSMASH tools). The candidate must be rigorous, autonomous, and possess critical thinking skills, while also being able to integrate into an interdisciplinary environment at the interface between microbiology and analytical chemistry. A strong motivation for research, an interest in applications in biocontrol and agroecology, and a good level of scientific English are also expected.

PHD SUBJECT B – CHEMICAL SCIENCES BALARD (SCB)

Identification and quantification of specialized bacterial metabolites in the ecological niche of entomopathogenic nematodes

Desired Candidate Profile:

The ideal candidate will hold a Master's degree (or equivalent) in analytical chemistry, biochemistry, metabolomics, or biomolecular sciences, with a strong interest in metabolite analysis and omics approaches applied to environmental microbiology. They must possess a solid foundation in mass spectrometry (ideally LC-MS/MS, HRMS) and analytical data processing, as well as initial experience in preparing complex biological samples and in chromatography. Skills in bioinformatics applied to metabolomics (data processing, annotation, molecular networks) and in statistical analysis will be highly valued. The candidate must demonstrate rigor, autonomy, and strong analytical skills, and be able to thrive in an interdisciplinary environment at the interface between analytical chemistry and microbiology. A motivation for research, an interest in applications in biocontrol and agroecology, and a good level of scientific English are also expected.

Should you require any additional information, please contact the PhD supervisors or the IDIL team at the following email addresses:

- Alyssa Carré-Mlouka (PhD Supervisor – Subject A): alyssa.carre-mlouka@umontpellier.fr
- Sébastien Dutertre (PhD Supervisor – Subject B): sebastien.dutertre@umontpellier.fr
- Administrative team: idil-team@umontpellier.fr

Version française

Résumé du projet

Titre : Exploration métabolique et fonctionnelle des bactéries associées aux nématodes entomopathogènes : vers de nouveaux métabolites pour le biocontrôle et l'écologie microbienne.

Mots-clés : Métabolites spécialisés, écologie chimique microbienne, antimicrobiens, phytopathogènes, biocontrôle, santé des plantes.

Résumés des projets de thèses (FR – max. 4000 caractères, espaces compris) :

Les nématodes entomopathogènes utilisés en biocontrôle sont porteurs d'un microbiote bactérien dont les membres peuvent présenter des activités biologiques d'intérêt, et parmi lesquels les bactéries des genres *Xenorhabdus* et *Pseudomonas* sont connues pour leurs propriétés insecticides, antimicrobiennes et promotrices de la croissance des plantes. Ce projet multidisciplinaire mêlant des approches de microbiologie, biochimie et chimie analytique s'attachera à en identifier, quantifier et caractériser les supports moléculaires (métabolites spécialisés ou secondaires) dans un contexte de santé des plantes cultivées, en accord avec l'approche « One Health ».

Ce projet s'appuiera sur des analyses métaboliques ciblées et non ciblées couplées à des approches de spectrométrie de masse à haute résolution afin d'explorer la diversité des métabolites spécialisés bactériens associés aux nématodes entomopathogènes, en utilisant comme référence les lipocyclopeptides PAXs de *Xenorhabdus*, pour lesquels des outils sont déjà en place. La mise en place de réseaux moléculaires permettra d'identifier de nouveaux métabolites potentiellement impliqués dans les interactions entre ces bactéries, les nématodes et leur environnement hôte. Certains de ces composés seront ensuite caractérisés structurellement et fonctionnellement afin d'évaluer leur rôle dans la niche écologique des nématodes et leur potentielles applications. En complément, une approche intégrative combinant des outils bioinformatiques d'analyse génomique et des essais biologiques *in vitro* et *in vivo* permettra d'établir des corrélations entre la production de ces métabolites et leurs effets contre agents phytopathogènes, insecticides ou promoteurs de la croissance des plantes.

En plus des retombées scientifiques sur la compréhension du rôle des métabolites spécialisés de *Xenorhabdus* et *Pseudomonas* en contexte symbiotique, ce projet pourrait ouvrir la voie à de nouvelles stratégies de biocontrôle basées sur des bactéries ou des composés naturels bactériens. L'identification de ces molécules et la caractérisation de leurs activités permettraient d'envisager leur valorisation dans un contexte agroécologique, en lien avec les enjeux actuels de réduction des intrants chimiques et de développement de solutions biologiques durables pour la protection des cultures.

CONTENU SCIENTIFIQUE

Thématique : Spectrométrie de masse haute résolution (HRMS, LC-MS/MS) - Métabolomique (ciblée et non ciblée) - Écologie chimique microbienne - Produits naturels bactériens - Interactions hôte-microbiote.

Domaine : Microbiologie - Chimie analytique - Biochimie

Contexte scientifique :

La bonne santé des plantes est essentielle pour garantir des récoltes abondantes et de qualité. Les méthodes de biocontrôle, considérées comme respectueuses de l'environnement, permettent la protection des plantes grâce à des organismes vivants ou des substances naturelles, en accord avec l'approche « One Health ». Parmi les agents de biocontrôle, les complexes nématode-entomopathogènes (NEPs) associent des nématodes (*Steinernema*) et des bactéries (*Xenorhabdus* et *Pseudomonas* notamment) qui vivent selon un cycle constitué de trois phases aboutissant à la mort des larves d'insectes ravageurs de culture. Pendant la phase libre dans le sol, ils recherchent une proie insecte qu'ils infestent en pénétrant par les orifices naturels. Les bactéries sont alors libérées, induisant ainsi la mort de l'insecte par septicémie (phase pathogène). Les cadavres sont ensuite utilisés en tant que ressources nutritives (phase nécrotrophe) par les nématodes et bactéries, qui produisent des métabolites dits spécialisés dont plus de 130 composés (incluant les lipocyclopeptides PAXs) ont déjà été décrits pour *Xenorhabdus*¹. Enfin, bactéries et nématodes se réassocient pour former, de nouveau, des complexes NEPs. Ces complexes quittent le cadavre de l'insecte à la recherche de nouvelles proies.

L'association symbiotique entre des bactéries et un nématode représente une niche écologique sélectionnée au cours de l'histoire évolutive des différents partenaires. Les souches bactériennes isolées des nématodes sont donc susceptibles de présenter des adaptations originales par rapport aux souches vivant librement dans le sol. Ceci pourrait ouvrir la voie à l'identification de nouveaux métabolites spécialisés avec des structures originales et des activités biologiques d'intérêt, notamment dans le contexte de la santé des plantes, mais également de la compréhension des interactions microbiennes au sein du cadavre de larve d'insecte, essentielles au bon déroulement du cycle du NEP. Des travaux, menés entre les deux laboratoires partenaires, ont démontré la pertinence de ces approches en s'intéressant plus spécifiquement à des métabolites particuliers. Ainsi, nous avons montré que le stilbène pourrait fonctionner comme une molécule signal impliquée dans la mise en place de phénotypes bactériens divers comme la mobilité ou la production de pigments tels les anthraquinones². Chez *Xenorhabdus nematophila*, les lipocyclopeptides PAXs sont produits seulement à certaines étapes du cycle nématode-bactérien et joueraient un rôle dans la formation de biofilms et dans l'interaction avec le nématode partenaire³.

La métabolomique constitue un levier analytique central pour explorer et comprendre la diversité chimique des métabolites de faible poids moléculaire produits par ces bactéries. En permettant l'analyse globale des variations du métabolome en fonction des différentes phases du cycle nématode-bactérien, des conditions environnementales et des interactions biologiques impliquées, la métabolomique offre une approche intégrative pour relier production métabolique, fonctions biologiques et phénotypes observés⁴. L'approche non ciblée visera à analyser de manière exhaustive l'ensemble des signaux métaboliques détectables, sans hypothèse préalable sur leur identité, afin de générer des signatures métaboliques caractéristiques des différentes étapes du cycle parasitaire et des conditions expérimentales étudiées. Ces signatures, véritables instantanés du métabolome, permettront d'identifier des variations spécifiques associées à la production de métabolites spécialisés, ouvrant la voie à la découverte de composés nouveaux ou encore peu caractérisés. En complément, la métabolomique ciblée sera mobilisée pour la validation, la quantification et le suivi de métabolites d'intérêt sélectionnés, notamment à partir des connaissances acquises sur les lipocyclopeptides PAXs, qui serviront de référence méthodologique⁵.

Objectifs :

Ce projet vise à découvrir et caractériser de nouveaux métabolites spécialisés issus des bactéries du microbiote des nématodes, et possédant des activités biologiques d'intérêt dans le cadre de l'écologie microbienne du cadavre (antimicrobiennes, synergiques, influençant la formation de biofilms) et/ou de la santé des plantes (insecticides, antimicrobiennes dirigées contre des microorganismes phytopathogènes, et/ou des activités promotrices de la croissance de plantes cultivées modèles (riz, blé, pois)).

Dans la thèse A, les génomes disponibles de souches de *Xenorhabdus* et *Pseudomonas* seront analysés grâce à des outils bioinformatiques (antiSMASH, NaPDos, entre autres) afin d'identifier des groupements de gènes impliqués dans la biosynthèse des métabolites spécialisés. Des algorithmes de prédiction des métabolites finaux seront utilisés, et permettront de guider les méthodes d'extraction en fonction des structures prédites ; ces prédictions seront confrontées avec les résultats d'analyse métabolomique non ciblée du projet de thèse B. Des approches de culturomique permettront d'optimiser la production des ces métabolites, dont les gènes codant les enzymes de biosynthèse sont souvent cryptiques.

Dans la thèse B, l'acquisition des données métabolomiques sera réalisée par spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) à haute résolution afin d'obtenir un profil détaillé des composés présents dans les échantillons. Cette expertise en élucidation structurale par HRMS et en analyse quantitative par LC-MS/MS sera apporté par Adrien Chouchou (IBMM) qui participera activement à l'encadrement de cette thèse. Une fois les données brutes collectées, elles seront traitées via des outils bio-informatiques permettant l'extraction des spectres de masse, ainsi que l'identification et la quantification des métabolites en se basant sur des bases de données de référence, et en utilisant comme référence les lipocyclopeptides PAXs déjà étudiés. L'analyse sera approfondie grâce aux réseaux moléculaires qui permettront d'établir des relations de similarité chimique entre les composés détectés et d'identifier de nouveaux métabolites potentiels.

Méthodes :

Dans le cadre du projet de thèse A, les souches bactériennes seront cultivées dans différentes conditions de culture (composition des milieux, pH, température, co-cultures, addition de concentrations sub-inhibitrices d'antibiotiques etc) afin de favoriser la production d'une diversité maximale de métabolites spécialisés. Des profils différentiels d'expression des métabolites spécialisés, incluant leur quantification, pourront ainsi être établis grâce au projet de thèse B, et permettront de choisir les milieux de culture les mieux adaptés.

Pour chaque condition choisie, les surnageants de culture et culots bactériens correspondants seront extraits par différents solvants et testés pour la présence d'activités biologiques (projet de thèse A). Les extraits positifs seront soumis à purification par chromatographie liquide. Une fois obtenues en quantité suffisante, les molécules actives purifiées seront caractérisées par spectrométrie de masse en tandem (MS/MS) en lien avec le projet de thèse B. Selon les activités détectées, ces métabolites pourront ensuite être localisés (Imagerie MALDI) et/ou quantifiés *in vivo* (LC-MS) dans la larve d'insecte en décomposition suite à l'infestation par des nématodes entomopathogènes.

Une attention particulière sera portée à l'optimisation des conditions expérimentales pour assurer une extraction efficace des métabolites présents dans des matrices complexes telles que les tissus en décomposition et les sols colonisés par les NEPs. Des protocoles adaptés de pré-traitement des échantillons seront mis en place afin d'améliorer la sensibilité et la reproductibilité des analyses métabolomiques. La purification des extraits bruts par chromatographie liquide avant l'injection en spectrométrie de masse permettra de minimiser les interférences et d'améliorer la sensibilité de détection des composés d'intérêt.

Parallèlement, des analyses comparatives seront menées dans le cadre de la thèse B, grâce à des approches statistiques rigoureuses, sur des échantillons issus de conditions biologiques variées, définies grâce au projet de thèse A, afin de caractériser les différences métaboliques en fonction de la présence ou non de nématodes et d'insectes. L'articulation entre les deux projets de thèse permettra de renforcer l'interprétation des résultats et de dégager des hypothèses fonctionnelles sur le rôle des métabolites identifiés. Enfin, une validation expérimentale des métabolites d'intérêt sera réalisée à travers des tests biologiques afin d'évaluer leur activité et leur implication dans les interactions entre les nématodes, les bactéries symbiotiques et l'environnement hôte.

Résultats attendus :

Ce projet apportera des avancées significatives sur le plan fondamental en améliorant la compréhension des interactions entre les nématodes entomopathogènes et leur microbiote bactérien, notamment en précisant le rôle des bactéries symbiotiques dans le cycle infectieux et la dynamique écologique du cadavre d'insecte. Il permettra également d'identifier et de caractériser de nouvelles structures de métabolites spécialisés produits par ces bactéries, enrichissant ainsi les connaissances sur leur diversité chimique et leurs fonctions biologiques. Par ailleurs, les résultats obtenus pourraient déboucher sur des applications concrètes en biocontrôle, en contribuant à l'optimisation des formulations microbiennes existantes et à l'intégration de *Xenorhabdus* et/ou *Pseudomonas* dans des stratégies alternatives de protection des cultures, favorisant ainsi une réduction de l'utilisation des intrants chimiques en agriculture.

Références bibliographiques (optionnel) :

- 1- Shi, Y.-M.; Bode, H. B. Chemical Language and Warfare of Bacterial Natural Products in Bacteria–Nematode–Insect Interactions. *Nat. Prod. Rep.* 2018, *35* (4), 309–335. <https://doi.org/10.1039/C7NP00054E>.
- 2- Hadchity, L.; Lanois-Nouri, A.; Chouchou, A.; Roche, D.; Houard, J.; Claveyroles, N.; Dauvé, A.; Imbert, J.; Gualtieri, M.; Givaudan, A.; Carré-Mlouka, A.; Abi Khattar, Z. Global Transcriptomics and Targeted Metabolite Analysis Reveal the Involvement of the AcrAB Efflux Pump in Physiological Functions by Exporting Signaling Molecules in *Photorhabdus laumondii*. *Microbiol. Spectr.* 2025, *13* (10), e01106-25. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01106-25>.
- 3- Claveyroles, N.; Lanois-Nouri, A.; El Fannassi, I.; Ogier, J.-C.; Pagès, S.; Chouchou, A.; Cazals, G.; Valette, G.; Carré-Mlouka, A.; Givaudan, A. Pleiotropic Role of PAX Cyclolipopeptides in the *Xenorhabdus* Bacterium Mutualistically Associated with Entomopathogenic Nematodes. *Appl. Environ. Microbiol.* 2025, *91* (10), e00760-25. <https://doi.org/10.1128/aem.00760-25>.
- 4- Chen, L.; Lu, W.; Wang, L.; Xing, X.; Chen, Z.; Teng, X.; Zeng, X.; Muscarella, A. D.; Shen, Y.; Cowan, A.; McReynolds, M. R.; Kennedy, B. J.; Lato, A. M.; Campagna, S. R.; Singh, M.; Rabinowitz, J. D. Metabolite Discovery through Global Annotation of Untargeted Metabolomics Data. *Nat. Methods* 2021, *18* (11), 1377–1385. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01303-3>.
- 5- Behsaz, B.; Bode, E.; Gurevich, A.; Shi, Y.-N.; Grundmann, F.; Acharya, D.; Caraballo-Rodríguez, A. M.; Bouslimani, A.; Panitchpakdi, M.; Linck, A.; Guan, C.; Oh, J.; Dorrestein, P. C.; Bode, H. B.; Pevzner, P. A.; Mohimani, H. Integrating Genomics and Metabolomics for Scalable Non-Ribosomal Peptide Discovery. *Nat. Commun.* 2021, *12* (1), 3225. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23502-4>.

Conditions matérielles de réalisation du projet (incluant, le cas échéant, les conditions de sécurité spécifiques) :

Ce projet repose sur des approches analytiques avancées et bénéficie d'un cadre technologique et scientifique adapté à sa réalisation. L'accès à des plateformes de spectrométrie de masse de pointe (Laboratoire de Mesures Physiques de la Plateforme d'Analyse et de Caractérisation de l'Université Montpellier), ainsi que la disponibilité de souches microbiennes bien caractérisées, garantissent la faisabilité du projet.

English version

Project's Abstract:

Title: Metabolomic & functional exploration of bacteria associated with entomopathogenic nematodes: towards new metabolites for biocontrol and microbial ecology

Keywords: specialized metabolites, microbial chemical ecology, antimicrobials, phytopathogens, biocontrol, plant health.

Abstracts of the PhD projects (EN – max. 4000 characters, including spaces):

Entomopathogenic nematodes used in biocontrol carry a bacterial microbiota whose members can exhibit biological activities of interest. Among these, bacteria of the genera *Xenorhabdus* and *Pseudomonas* are known for their insecticidal, antimicrobial, and plant growth-promoting properties. This multidisciplinary project, combining approaches from microbiology, biochemistry, and analytical chemistry, will focus on identifying, quantifying, and characterizing the molecular components (specialized or secondary metabolites) of this microbiota in the context of cultivated plant health, in accordance with the "One Health" approach.

This project will rely on targeted and untargeted metabolomic analyses coupled with high-resolution mass spectrometry approaches to explore the diversity of specialized bacterial metabolites associated with entomopathogenic nematodes, using the PAX lipocyclopeptides of *Xenorhabdus* as a reference, for which tools already exist. The development of molecular networks will enable the identification of new metabolites potentially involved in the interactions between these bacteria, nematodes, and their host environment. Some of these compounds will then be characterized structurally and functionally to assess their role in the nematodes' ecological niche and their potential applications. In addition, an integrative approach combining bioinformatics tools for genomic analysis and *in vitro* and *in vivo* biological assays will establish correlations between the production of these metabolites and their effects against phytopathogens, insecticides, or plant growth promoters.

In addition to the scientific benefits for understanding the role of specialized *Xenorhabdus* and *Pseudomonas* metabolites in a symbiotic context, this project could pave the way for new biocontrol strategies based on bacteria or natural bacterial compounds. Identifying these molecules and characterizing their activities would allow us to consider their valorization in an agroecological context, in connection with the current challenges of reducing chemical inputs and developing sustainable biological solutions for crop protection.

SCIENTIFIC CONTENT

Research theme: High-resolution mass spectrometry (HRMS, LC-MS/MS) - Metabolomics (targeted and untargeted) - Microbial chemical ecology - Bacterial natural products - Host-microbiota interactions.

Scientific field: Microbiology - Analytical Chemistry - Biochemistry

Scientific background:

Healthy plants are essential for ensuring abundant, high-quality harvests. Biocontrol methods, considered environmentally friendly, protect plants using living organisms or natural substances, in line with the "One Health" approach. Among biocontrol agents, nemato-entomopathogenic complexes (NEPs) combine nematodes (*Steinernema*) and bacteria (notably *Xenorhabdus* and *Pseudomonas*) that live in a three-phase cycle culminating in the death of crop pest larvae. During their free-living phase in the soil, they seek out insect prey, which they infect by penetrating through natural openings. The bacteria are then released, causing the insect's death by septicemia (pathogenic phase). The carcasses are then used as a nutrient source (necrotrophic phase) by nematodes and bacteria, which produce specialized metabolites, of which more than 130 compounds (including PAX lipocyclopeptides) have already been described for *Xenorhabdus*¹. Finally, bacteria and nematodes reassociate to form NEP complexes once again. These complexes leave the insect carcass in search of new prey.

The symbiotic association between bacteria and a nematode represents an ecological niche selected during the evolutionary history of the various partners. Bacterial strains isolated from nematodes are therefore likely to exhibit unique adaptations compared to strains living freely in the soil. This could pave the way for the identification of new specialized metabolites with original structures and biological activities of interest, particularly in the context of plant health, but also for understanding microbial interactions within the insect larval carcass, which are essential for the proper progression of the nematode cycle. Work conducted between the two partner laboratories has demonstrated the relevance of these approaches by focusing more specifically on particular metabolites. For example, we have shown that stilbene could function as a signaling molecule involved in the establishment of diverse bacterial phenotypes, such as motility or the production of pigments like anthraquinones.² In *Xenorhabdus nematophila*, PAX lipocyclopeptides are produced only at certain stages of the nematode-bacterial cycle and appear to play a role in biofilm formation and interaction with the nematode partner.³

Metabolomics is a key analytical tool for exploring and understanding the chemical diversity of low molecular weight metabolites produced by these bacteria. By enabling the comprehensive analysis of metabolome variations according to the different phases of the nematobacterial life cycle, environmental conditions, and the biological interactions involved, metabolomics offers an integrative approach to linking metabolic production, biological functions, and observed phenotypes.⁴ The untargeted approach aims to exhaustively analyze all detectable metabolic signals, without prior assumptions about their identity, in order to generate metabolic signatures characteristic of the different stages of the parasite life cycle and the experimental conditions studied. These signatures, true snapshots of the metabolome, will allow the identification of specific variations associated with the production of specialized metabolites, paving the way for the discovery of new or poorly characterized compounds. In addition, targeted metabolomics will be used for the validation, quantification and monitoring of selected metabolites of interest, particularly based on knowledge acquired on PAX lipocyclopeptides, which will serve as a methodological reference⁵.

Objectives:

This project aims to discover and characterize novel specialized metabolites from the microbiota of nematodes, possessing biological activities of interest in the context of microbial ecology of carcasses (antimicrobial, synergistic, influencing biofilm formation) and/or plant health (insecticides, antimicrobials directed against phytopathogenic microorganisms, and/or growth-promoting activities in model crops (rice, wheat, peas).

In Thesis A, available genomes of *Xenorhabdus* and *Pseudomonas* strains will be analyzed using bioinformatics tools (antiSMASH, NaPDos, among others) to identify gene clusters involved in the biosynthesis of specialized metabolites. Algorithms for predicting the final metabolites will be used to guide extraction methods based on the predicted structures; these predictions will be compared with the results of untargeted metabolomics analysis from the thesis project B. Culturomic approaches will enable the optimization of the production of these metabolites, for which the genes encoding biosynthetic enzymes are often cryptic.

In Thesis B, metabolomic data acquisition will be performed using high-resolution tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) to obtain a detailed profile of the compounds present in the samples. This expertise in structural elucidation by HRMS and quantitative analysis by LC-MS/MS will be provided by Adrien Chouchou (IBMM), who will actively participate in the supervision of this thesis. Once the raw data are collected, they will be processed using bioinformatics tools to extract mass spectra, as well as to identify and quantify metabolites based on reference databases and using previously studied PAX lipocyclopeptides as a reference. The analysis will be further enhanced using molecular networks, which will allow the establishment of chemical similarity relationships between the detected compounds and the identification of new potential metabolites.

Methods: In thesis A, bacterial strains will be cultured under various conditions (medium composition, pH, temperature, co-cultures, addition of sub-inhibitory concentrations of antibiotics, etc.) to promote the production of maximum diversity of specialized metabolites. Differential expression profiles of these specialized metabolites, including their quantification, can thus be established based on the work of PhD project B, enabling the selection of the most suitable culture media. For each chosen condition, the culture supernatants and corresponding bacterial pellets will be extracted using different solvents and tested for biological activity (thesis A). Positive extracts will be purified by liquid chromatography. Once obtained in sufficient quantities, the purified active molecules will be characterized by tandem mass spectrometry (MS/MS) in connection with PhD project B. Depending on the detected activities, these metabolites can then be localized (MALDI imaging) and/or quantified *in vivo* (LC-MS) in the decomposing insect larva following infestation by entomopathogenic nematodes.

Particular attention will be paid to optimizing experimental conditions to ensure efficient extraction of metabolites present in complex matrices such as decomposing tissues and soils colonized by entomopathogenic nematodes. Appropriate sample pretreatment protocols will be implemented to improve the sensitivity and reproducibility of metabolomic analyses. Purification of crude extracts by liquid chromatography before injection into mass spectrometry will minimize interferences and improve the detection sensitivity of the compounds of interest.

In parallel, comparative analyses will be conducted (thesis project B), using a rigorous statistical approach, on samples from various biological conditions, defined by thesis project A, in order to characterize metabolic differences depending on the presence or absence of nematodes and insects. The integration of the two thesis projects will strengthen the interpretation of the results and allow for the development of functional hypotheses regarding the role of the identified metabolites. Finally, experimental validation of the metabolites of interest will be carried out through biological tests to evaluate their activity and their involvement in the interactions between nematodes, symbiotic bacteria, and the host environment.

Expected results:

This project will make significant fundamental advances by improving our understanding of the interactions between entomopathogenic nematodes and their bacterial microbiota, particularly by clarifying the role of symbiotic bacteria in the infection cycle and the ecological dynamics of the insect carcass. It will also enable the identification and characterization of new structures of specialized metabolites produced by these bacteria, thus enriching our knowledge of their chemical diversity and biological functions. Furthermore, the results obtained could lead to concrete applications in biocontrol, contributing to the optimization of existing microbial formulations and the integration of *Xenorhabdus* and/or *Pseudomonas* into alternative crop protection strategies, thereby promoting a reduction in the use of chemical inputs in agriculture.

References (optional):

- 1- Shi, Y.-M.; Bode, H. B. Chemical Language and Warfare of Bacterial Natural Products in Bacteria–Nematode–Insect Interactions. *Nat. Prod. Rep.* 2018, *35* (4), 309–335. <https://doi.org/10.1039/C7NP00054E>.
- 2- Hadchity, L.; Lanois-Nouri, A.; Chouchou, A.; Roche, D.; Houard, J.; Claveyroles, N.; Dauvé, A.; Imbert, J.; Gualtieri, M.; Givaudan, A.; Carré-Mlouka, A.; Abi Khattar, Z. Global Transcriptomics and Targeted Metabolite Analysis Reveal the Involvement of the AcrAB Efflux Pump in Physiological Functions by Exporting Signaling Molecules in *Photorhabdus laumondii*. *Microbiol. Spectr.* 2025, *13* (10), e01106-25. <https://doi.org/10.1128/spectrum.01106-25>.
- 3- Claveyroles, N.; Lanois-Nouri, A.; El Fannassi, I.; Ogier, J.-C.; Pagès, S.; Chouchou, A.; Cazals, G.; Valette, G.; Carré-Mlouka, A.; Givaudan, A. Pleiotropic Role of PAX Cyclolipopeptides in the *Xenorhabdus* Bacterium Mutualistically Associated with Entomopathogenic Nematodes. *Appl. Environ. Microbiol.* 2025, *91* (10), e00760-25. <https://doi.org/10.1128/aem.00760-25>.
- 4- Chen, L.; Lu, W.; Wang, L.; Xing, X.; Chen, Z.; Teng, X.; Zeng, X.; Muscarella, A. D.; Shen, Y.; Cowan, A.; McReynolds, M. R.; Kennedy, B. J.; Lato, A. M.; Campagna, S. R.; Singh, M.; Rabinowitz, J. D. Metabolite Discovery through Global Annotation of Untargeted Metabolomics Data. *Nat. Methods* 2021, *18* (11), 1377–1385. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01303-3>.
- 5- Behsaz, B.; Bode, E.; Gurevich, A.; Shi, Y.-N.; Grundmann, F.; Acharya, D.; Caraballo-Rodríguez, A. M.; Bouslimani, A.; Panitchpakdi, M.; Linck, A.; Guan, C.; Oh, J.; Dorrestein, P. C.; Bode, H. B.; Pevzner, P. A.; Mohimani, H. Integrating Genomics and Metabolomics for Scalable Non-Ribosomal Peptide Discovery. *Nat. Commun.* 2021, *12* (1), 3225. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23502-4>.

Material conditions for the project (including specific safety conditions, if applicable):

This project relies on advanced analytical approaches and benefits from a technological and scientific framework suited to its implementation. Access to state-of-the-art mass spectrometry (Laboratory of Physical Measurements of Analysis and Characterization Platform of the University of Montpellier) platforms, as well as the availability of well-characterized microbial strains, guarantees the project's feasibility.

THE UNIVERSITY OF MONTPELLIER

KEY FIGURES



RESEARCH CENTERS

From space exploration and robotics to ecological engineering and chronic diseases, UM researchers are inventing tomorrow's solutions for mankind and the environment. Dynamic research, conducted in close collaboration with research organizations and benefiting from high-level technological platforms to meet the needs of 21st century society.

The UM is committed to promoting its cutting-edge research by forging close links with local industry, particularly in the biomedical and new technologies sectors.

More Information: <https://www.umontpellier.fr/en/recherche/unites-de-recherche>

SCIENTIFIC APPEAL

Open to the world, the University of Montpellier contributes to the structuring of the European higher education area, and strengthens its international positioning and attractiveness, in close collaboration with its partners in the I-SITE Program of Excellence, through programs adapted to the major scientific challenges it faces.

More Information: <https://www.umontpellier.fr/en/international/attractivitescientifique>