

Rôle antifongique des extractibles de bois

Noël Delphine¹, Nguyen Duy Vuong¹, Amusant Nadine², Gelhaye Eric¹,
Morel-Rouhier Mélanie¹, Sormani Rodnay¹

¹Université de Lorraine, INRAE, IAM UMR1136, F-54000 Nancy, France

²UA, AgroParisTech, UMR Ecofog, CIRAD, CNRS, INRAE, BF701, Kourou, France

delphine.noel@univ-lorraine.fr

Introduction

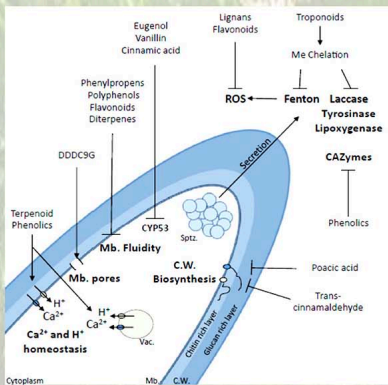


Fig. 1 – Représentation schématique des mécanismes de toxicité des extractibles à l'apex d'un hyphes. C.W. : paroi, Mb. : membrane plasmique, Vac. : vacuole, Sptz. : spitzkörper, ROS : espèces réactives de l'oxygène, Me : ions métalliques. Issu de Valette et al., 2017.

Les champignons lignolytiques sont caractérisés par leur capacité à dégrader et à utiliser la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. Cependant, les processus oxydatifs utilisés par ces champignons génèrent des molécules potentiellement toxiques, incluant les extractibles de bois.

Les extractibles sont des composants non structuraux du bois pour lesquels différentes activités antifongiques ont été démontrées telles que l'altération de la paroi et la membrane du champignon ou l'inhibition de l'activité des enzymes de dégradation (Fig. 1).

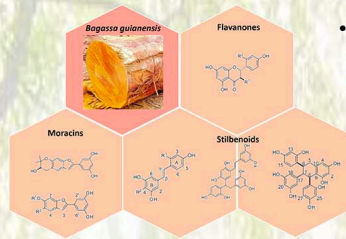
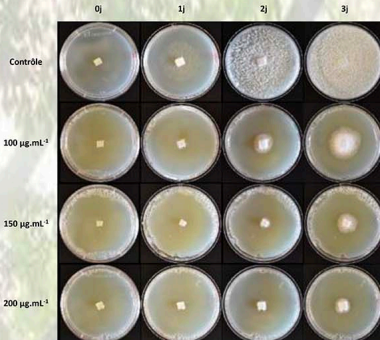


Fig. 2 – Composés majoritaires d'extractibles de *B. guianensis*, identifiés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.

- Afin de mieux comprendre l'effet toxique des extractibles sur les champignons dégradateurs de bois, la production de mutants de *Phanerochaete chrysosporium* résistants aux extractibles de bois de Bagasse (*Bagassa guianensis*) a été entreprise.

- In fine, les objectifs sont d'identifier de nouvelles cibles moléculaires d'extractibles de bois et de déterminer la ou les molécule(s) responsable(s) des propriétés antifongiques du mix d'extractibles.

Action antifongique des extractibles de bois de *B. guianensis*



- Propriétés antifongiques des extractibles de bois de *B. guianensis*.

- Définition d'une concentration d'extractibles (100 µg.mL⁻¹) permettant de réaliser un criblé génétique basé sur la résistance à la toxicité de ces extractibles.

Fig. 3 – Inhibition de la croissance de la souche sauvage (WT) de *P. chrysosporium* en réponse à différentes concentrations d'extractibles de *B. guianensis* au cours du temps. Un plug de mycélium de *P. chrysosporium* RP78 a été inoculé sur un milieu 2% malt-agar supplémenté ou non en extractibles de *B. guianensis* à différentes concentrations (100 µg.mL⁻¹, 150 µg.mL⁻¹, 200 µg.mL⁻¹).

Mutagenèse et criblage de souches résistantes aux extractibles



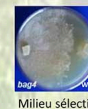
Mutagenèse de conidies de *P. chrysosporium* par les UV

Criblage de souches résistantes (100 µg.mL⁻¹ d'extractibles)

Génération d'une collection de mutants

Séquençage en bulk

Identification du/des gène(s) muté(s) responsable(s) du phénotype de résistance



Caractérisation des mutants en comparaison à la souche sauvage

Fig. 4 – Stratégie utilisée pour générer une librairie de mutants résistants aux extractibles et identifier les gènes codant pour les potentielles protéines cibles responsables du phénotype de résistance obtenu.

Collection de mutants résistants aux extractibles de bois de *B. guianensis*

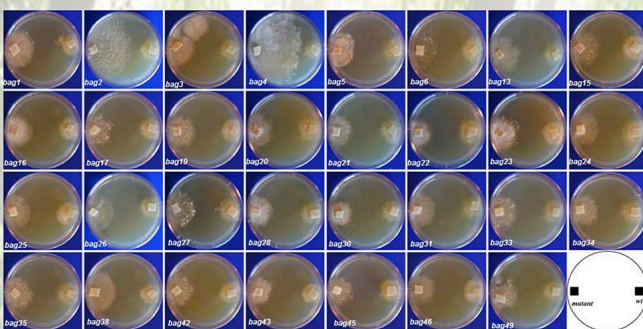


Fig. 5 – Phénotype de croissance des mutants *bag* en comparaison au WT en réponse aux extractibles de *B. guianensis* (100 µg.mL⁻¹). Les mutants ont été nommés '*bag*' en référence à « *B. guianensis* ».

- Génération d'une collection de 31 mutants résistants à une concentration létale d'extractibles de bois de *B. guianensis* (100 µg.mL⁻¹).

Effet antifongique des extractibles de *B. guianensis* et protection du bois

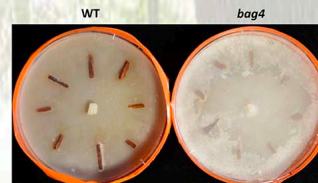


Fig. 6 - Phénotype de croissance de *P. chrysosporium* WT et du mutant *bag4* en présence de copeaux de bois de *B. guianensis* après 25 jours de croissance à 37°C.

- Expansion de mycélium pour le mutant *bag4* en comparaison au WT.

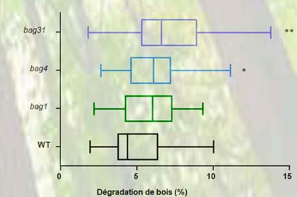


Fig. 7 – Boîtes à moustache représentant les taux de dégradation des copeaux de bois par *P. chrysosporium* WT et les mutants *bag1*, *bag4* et *bag31* après 2 mois de croissance à 37°C. Les pourcentages de dégradation ont été calculés à partir de 32 réplicats techniques provenant de 4 réplicats biologiques. * : $p < 0.01$, ** : $p < 0.001$.

- Dégradation significative du bois pour les mutants *bag4* et *bag31* en comparaison au WT.

Conclusions & perspectives

- Nous avons démontré que les extractibles de Bagasse ont un effet antifongique qui pourrait expliquer la durabilité du bois. La stratégie de mutagenèse aléatoire a permis de générer une collection de souches mutantes de *P. chrysosporium* résistants aux extractibles de *B. guianensis* et avec des propriétés de dégradation supérieures au sauvage. Cette collection permettra d'identifier les protéines fongiques ciblées par ces molécules.

- A terme, la caractérisation de ces mutants devrait permettre de comprendre par quels mécanismes les extractibles confèrent au bois sa durabilité face aux attaques fongiques.