

**PROPOSITION SUJET de MASTER 2017-2018**

**TITRE** : Impact de l'essence forestière sur la diversité et les interactions entre systèmes enzymatiques fongiques impliqués dans la dégradation des lignines

**Nom, Prénom du Maître de Stage :** LUIS Patricia

**Qualité :** Maître de Conférences

**Téléphone :** 04 72 44 80 47      **E-mail :** patricia.luis@univ-lyon1.fr

**Nom, Prénom du co-encadrant éventuel :** HUGONI Mylène

**Qualité :** Maître de Conférences

**Téléphone :** 04 72 43 10 50      **E-mail :** mylene.hugoni@univ-lyon1.fr

**Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe :**

UMR 5557 Ecologie Microbienne (resp. Moëgne-Loccoz Yvan)

Equipe « Adaptation des Microorganismes Eucaryotes à leur Environnement »

**Adresse :** 43 bd du 11 Novembre 1918 – 69100 Villeurbanne Cedex

**Nom du candidat éventuellement proposé :**

S'il n'est pas retenu, acceptez-vous un autre candidat ?

Oui - Non

### **Contexte et objectif**

En milieu forestier, plus des deux tiers du carbone organique est stocké dans les sols sous la forme de litières et d'humus d'origine végétale **(1)**. La décomposition de cette matière organique, composée essentiellement de polysaccharides (*i.e.* cellulose et hémicelluloses) et de lignine, constitue un processus essentiel au bon fonctionnement de l'écosystème forestier et du cycle du carbone. Les mécanismes impliqués dans ces phénomènes de dégradation sont fortement contrôlés par les microorganismes du sol et plus particulièrement par les champignons saprotrophes qui, de par leur abondance et leur forte capacité hydrolytique, sont considérés comme les décomposeurs les plus efficaces en milieu forestier. Ainsi, selon la littérature, seules certaines espèces de basidiomycètes saprotrophes sont capables d'hydrolyser complètement la lignine qui protège la cellulose et les hémicelluloses de la dégradation microbienne **(2)**.

La lignine, deuxième polymère le plus abondant sur terre, représente un vaste groupe de polymères aromatiques (ou polyphénols) issus de la polymérisation de trois monolignols (l'alcool *p*-coumarylique appelé aussi unité H ou Hydroxyphényle, l'alcool coniférylique appelé unité G ou Guaiacyl, et l'alcool sinapylique appelé unité S). La nature complexe des liaisons établies entre les différents monolignols et les polysaccharides (cellulose, hémicelluloses) auxquels ils sont associés rend les lignines difficilement hydrolysables **(3)**. Sachant que l'essence forestière et par conséquent la qualité de litière produite sont les principaux facteurs influençant la composition de la communauté fongique et la vitesse de décomposition de la matière organique **(4)**, ***nous émettons l'hypothèse que la diversité et les interactions entre les mécanismes enzymatiques impliqués dans la dégradation de la lignine sont différentes en fonction de l'essence forestière et du type de lignine.*** Pour répondre à cette hypothèse, la diversité de différentes familles enzymatiques exprimées par les communautés de basidiomycètes du sol impliquées dans la lignolyse sera analysée par métabarcoding (c'est-à-dire le séquençage haut-débit d'amplicons gérés à partir d'ADNc environnementaux) sous une forêt de feuillus (lignine contenant les unités G et S) et une forêt de résineux (lignine composée uniquement de G). Les enzymes ciblées seront non seulement (i) des enzymes directement impliquées dans la dégradation de la lignine (*i.e.* laccases, peroxydases de classe II, et les peroxygénases aspécifiques) mais aussi (ii) les enzymes accessoires produisant le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nécessaire au fonctionnement des peroxydases (*i.e.* aryl alcool oxydases et glyoxal oxydases). Ce projet devrait permettre de définir des réseaux d'interactions entre les gènes exprimés dans les différents environnements. Ces analyses permettront d'appréhender les co-occurrences survenant au sein d'une même famille génique mais également entre membres de différentes familles, aboutissant ainsi à meilleure compréhension des mécanismes biochimiques mis en place par les communautés fongiques pour dégrader la lignine. Par la suite (dans le cadre d'une éventuelle thèse) les systèmes enzymatiques, identifiés par la construction de réseaux d'interactions et agissant en synergie, pourraient être isolés par "une approche de capture de gènes" afin de faire exprimer les protéines actives dans un hôte eucaryote et ainsi de pouvoir reconstituer *in vitro* les systèmes enzymatiques identifiés sous les différentes essences forestières. Ceci permettra de tester leur efficacité sur différents types de lignine en collaboration avec l'unité Biodiversité et Biotechnologie Fongiques de l'INRA- Université Aix-Marseille.

### **Démarche et méthodologie:**

Si certains ADNc sont déjà disponibles au laboratoire, l'étudiant sera amené à extraire des ARNm à partir d'échantillons de sol afin de générer des quantités d'ADNc suffisantes pour permettre l'amplification de tous les gènes fonctionnels ciblés par cette étude. L'étudiant en Master participera ensuite à l'amplification et au séquençage des différents gènes fonctionnels à partir de ces ADNc environnementaux. Ces ADNc ont été et seront générés à partir des ARNm extraits de sols prélevés sous une forêt d'épicéas (résineux) et de hêtres (feuillus). Les amorces qui seront utilisées sont soit disponibles **(5-7)** soit en cours de validation. L'étudiant bénéficiera des compétences en analyse de données issues du séquençage haut-débit (ici de type amplicons) et des compétences en construction de réseaux d'interactions, disponibles au sein du laboratoire et de l'équipe d'accueil.

### **Références**

- (1)** Scharlemann et al (2014) Global soil carbon: understanding and managing the largest terrestrial carbon pool. *Carbon Manag* 5: 81–91.
- (2)** Baldrian et al (2011) Production of extracellular enzymes and degradation of biopolymers by saprotrophic microfungi from the upper layers of forest soil. *Plant Soil* 338: 111–125.
- (3)** Vanholme et al (2010) Lignin biosynthesis and structure. *Plant Physiol* 153: 895-905.
- (4)** Šnajdr et al (2013) Dominant trees affect microbial community composition and activity in post-mining afforested soils. *Soil Biol Biochem* 56:105–115.
- (5)** Luis et al (2004) Diversity of laccase genes from basidiomycetes in a forest soil. *Soil Biol Biochem* 36 :1025–1036
- (6)** Barbi et al (2014) PCR primers to study the diversity of expressed fungal genes encoding lignocellulolytic enzymes in soils using high-throughput sequencing. *PLoS ONE*. 9:e116264
- (7)** Kellner et al (2014) Widespread occurrence of expressed fungal secretory peroxidases in forest soils. *PLoS ONE*. 9:e95557