

PROPOSITION SUJET de MASTER 2017-2018

TITRE : Importance du trafic vésiculaire chez le champignon phytopathogène *Botrytis cinerea* : impact sur la virulence du pathogène.

Nom, Prénom du Maitre de Stage : POUSSEREAU Nathalie

Qualité : MCU

Téléphone : 04 72 85 22 84

E-mail : nathalie.poussereau@univ-lyon1.fr

Nom, Prénom du co-encadrant éventuel :

Qualité :

Téléphone :

Laboratoire d'accueil, Responsable et équipe : Laboratoire Microbiologie Adaptation Pathogénie MAP UMR 5240 Directeur de l'unité W Nasser
Equipe de Génomique Fonctionnelle des Champignons Pathogènes des Plantes, (responsable N Poussereau)
Adresse : Centre de Recherche La Dargoire de Bayercropscience, rue P Baizet, LYON

Nom du candidat éventuellement proposé :

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

Oui - Non

Sujet (objectif, démarche et technique, collaboration(s),...) :

Les champignons filamenteux sont les principaux agents pathogènes des plantes et sont à l'origine de nombreuses maladies conduisant à des pertes économiques considérables en Agriculture.

Le champignon filamenteux modèle, *Botrytis cinerea* responsable de la pourriture grise est à l'origine, chaque année, de pertes pouvant s'élever à plus de 20 % de certaines récoltes. Cet agent pathogène nécrotrophe est considéré comme un problème phytosanitaire majeur car il est capable d'infecter plus de 200 espèces végétales aussi bien sur cultures maraichères, viticoles, fruitières ou encore horticoles. Dans un tel contexte, une meilleure connaissance du pouvoir infectieux développé par ce pathogène devient alors un prérequis indispensable pour la mise en place de nouvelles stratégies de lutte contre ce microorganisme.

Une approche de mutagenèse insertionnelle aléatoire a été entreprise afin d'isoler de nouveaux gènes de virulence. Un mutant altéré dans l'expression de la chaîne lourde de la clathrine a ainsi été isolé et montre une absence de pathogénie. La clathrine est une protéine conservée chez les eucaryotes (cellules animales, végétales, protistes, levures) et est impliquée dans le trafic vésiculaire incluant les processus d'endocytose et d'exocytose. Toutefois, elle a très peu été étudiée chez les Fungi. La formation de vésicules recouvertes d'une cage de clathrine met en jeu plus d'une trentaine de protéines dont certaines sont spécifiques d'organites intracellulaires.

Une première caractérisation du mutant a permis de montrer que la clathrine joue un rôle essentiel dans la sécrétion de protéines impliquées dans le processus de nécrotrophie.

L'objectif du stage est de préciser le rôle de la clathrine dans le trafic vésiculaire intracellulaire de *B.cinerea* et d'identifier les protéines interagissant avec la clathrine et pouvant être transportées dans les vésicules. L'impact de ces protéines sur la virulence du pathogène sera précisé.

Dans une première étape, une souche de *B.cinerea* présentant une chaîne lourde de la clathrine étiquetée sera construite. Une approche de fractionnement cellulaire sera ensuite entreprise sur cette souche. Des expériences de pull down seront enfin envisagées afin d'isoler des interactants de la clathrine .

Techniques et outils utilisés :

- Bio-informatique : design de plasmides , interrogations de banques de données
- Biologie moléculaire : Extraction d'ADN, PCR, clonage
- Microbiologie : culture de champignon, transformation de bactéries et de *B. cinerea*,
- caractérisations phénotypiques et tests d'infection sur plantes
- Biochimie : fractionnement cellulaire, Western blot,

Ce stage s'inscrit dans la continuité d'un sujet de thèse et pourra donner lieu au développement d'un nouveau sujet de thèse.