



DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **31 mai 2018**

Nom de famille et prénom de l'auteur : **ADAMO Martino**

Titre de la thèse : « Diversité des peroxydases fongiques de la famille DyP et leur contribution potentielle à la dégradation de la matière organique »



Résumé

La lignine est un des polymères naturels les plus abondants sur la terre particulièrement résistant à la dégradation du fait de sa structure particulière qui lui permet de participer au renforcement des parois végétales ainsi qu'à la protection de celles-ci contre l'attaque de pathogènes. Peu d'organismes peuvent dégrader efficacement la lignine et la plupart de ceux-ci appartiennent au Règne Fongique. Dans la plupart des cas la dégradation des composants de la paroi végétale est réalisée par des enzymes sécrétées. Des études récentes soulignent combien l'arsenal enzymatique des champignons est intéressant dans plusieurs domaines :

- nombreuses de ces enzymes sont déjà utilisées en biotechnologies dans de nombreux et divers processus industriels,

- grace à la possibilité de comparer les génomes de nombreuses espèces fongiques, au travers de l'étude des gènes impliqués dans la matière organique il apparait que l'évolution fongique et l'écologie de ces microorganismes sont étroitement liés,

- les champignons dégradateurs de la matière organique végétale sont les principaux décomposeurs en milieu terrestre. Ils contribuent notamment de manière décisive dans le cycle biogéochimique du carbone en milieu forestier tempéré et boréal. L'étude et une meilleure compréhension des flux de carbone est importante pour mieux appréhender les phénomènes de changements climatiques.

L'appareil enzymatique fongique permettant la dégradation de la matière organique est composé de dizaines, sinon de centaines d'enzymes aux rôles bien décrits pour certaines. Mais pour d'autres, leurs rôles restent à définir. C'est le cas des peroxydases de type DyP, une famille enzymatique découverte récemment et déjà bien connue dans le domaine des biotechnologies, étant capables de catalyser de nombreuses réactions. Leurs rôles dans la nature sont toutefois incertains. Il a été suggéré qu'elles puissent jouer un rôle dans la dégradation de la lignine, mais certaines études suggèrent plutôt un rôle de détoxification durant la dégradation de la biomasse.

Au cours de cette thèse, nous nous sommes attachés à mettre en lumière les rôles potentiels joués par ces enzymes

La famille des DyP a récemment été divisée en sous-groupes, mais pour ce qui concerne les DyP fongiques, il n'existait pas d'analyse approfondie de leur évolution phylogénique. Un tel travail nous a conduit à mettre en lumière l'existence ignorée jusqu'à présent de DyP aussi bien intracellulaires qu'extracellulaires.

Afin d'améliorer nos connaissances sur cette famille enzymatique nous nous sommes orientés sur des analyses écologiques pour lesquelles nous avons dû au préalable développer des outils appropriés tel qu'un protocole d'extraction d'ARN à partir de bois en décomposition.

Par une approche d'écologie moléculaire, nous avons évalué quelle est la source et la diversité des champignons producteurs de DyP dans 3 habitats distincts : des sols forestiers, des sols de prairies et du bois en décomposition. Une analyse par métabarcoding des communautés fongiques de ces environnements a au préalable été réalisée et a démontré le bénéfice que l'on peut tirer en métabarcoding de l'analyse comparative de l'ADN et de l'ARN environnemental pour une description optimale de ces communautés.

L'étude de la diversité des DyP exprimées au sein des communautés fongiques présentes dans ces différents habitats a été réalisée par capture de séquences à partir d'ARN environnementaux.

Les résultats préliminaires obtenus démontrent la capacité de l'approche expérimentale à isoler les gènes pleine longueur correspondants de tous les échantillons étudiés. Certaines de ces DyP environnementales ont été transformées dans le champignon *Podospora anserina*, et l'expression de l'une d'entre elle dans ce système hétérologue a pu être démontrée.

En conclusion, les peroxydases de type DyP restent encore une famille aux rôles incertains. Nous suggérons toutefois que des rôles complémentaires dans la dégradation de la lignine et la détoxification de molécules pourraient être joués par les DyPs extracellulaires d'une part et intracellulaires d'autre part.

Cette famille enzymatique est plus particulièrement présente au sein des espèces Basidiomycètes impliquées dans la dégradation enzymatique de la lignine. L'aspect fonctionnel, abordé au travers de la capture de séquence a conduit à isoler un nombre restreint de DyP de chacun des échantillons étudiés suggérant qu'il s'agit d'enzymes peu abondantes mais présentes dans tous les environnements.