



Interactions between Saprotrophic Bacteria and the white-rot *Phanerochaete chrysosporium* in presence of wood Extractives

Responsable scientifique : Sophie MIESZKIN, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM)

Partenaires Labex : S. DUMARCAY - Laboratoire d'Etudes et de Recherche sur le Matériau Bois (LERMAB), R. SORMANY - UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM)

Contexte —

A l'échelle des écosystèmes forestiers, la dégradation du bois permet un recyclage important des nutriments et représente une source de matière organique fraîche pour les microorganismes ligno-cellulolytiques. Cependant, lors de sa dégradation, des composés de faible poids moléculaire, appelés extractibles, sont relâchés. Ces composés, potentiellement toxiques, peuvent ainsi représenter une barrière pour les microorganismes. Si aujourd'hui le rôle des communautés fongiques concernant le recyclage du carbone et des nutriments est bien établi, le rôle des communautés bactériennes, mais également les possibles interactions qu'entretiennent ces dernières avec les champignons ont largement été sous-estimées. Des études récentes ont ainsi montré la complexité de ces interactions (complémentarité fonctionnelle ou non pour l'une ou l'autre, voir pour les deux communautés). Parmi ces études, celle menée au laboratoire IAM a permis de mettre en évidence que l'association du champignon de pourriture blanche *Phanerochaete chrysosporium* RP78 et d'une communauté bactérienne isolée de sa mycosphère favorisait la cinétique de dégradation du bois de hêtre.

Le potentiel fonctionnel de l'ensemble des bactéries composant la communauté a été caractérisé, cependant, leur comportement vis-à-vis des extractibles du bois reste à définir.

Objectifs —

- Préparer et caractériser les extractibles du duramen de hêtre (*Fagus sylvatica*), de chêne (*Quercus petraea*) et d'épicéa (*Picea abies*).
- Evaluer si l'effet des extractibles sur la physiologie bactérienne est lié à la niche écologique des souches (sol versus bois ; souches isolées du bois et du sol de la collection bactérienne obtenue par V. Hervé).
- Evaluer si la présence des extractibles influence les interactions bactéries/champignons (IBC)

Démarche —

La préparation des extractibles a été réalisée à l'aide d'un soxhlet par des extractions successives avec des solvants de polarité croissante. Leur contenu a été caractérisé par chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS). L'évaluation de la réponse physiologique bactérienne en présence des extractibles a été réalisée par un suivi de croissance des souches par spectrophotométrie à l'aide de plaques 96 puits. La concentration finale en cellules bactériennes et en extractibles était respectivement de $1,2 \times 10^7$ cellules/ml et 0,1 mg/ml. La mise en évidence des IBC en présence des extractibles a été réalisée par un suivi de croissance en spectrophotométrie.

Résultats marquants —

- Cinq fractions d'extractibles ont été obtenues par essence. Leur caractérisation par GC-MS indique que les extraits du hêtre sont principalement constitués d'hydrates de carbone, alors que pour le chêne et l'épicéa, de potentielles molécules ayant des propriétés antimicrobiennes, telles que l'acide gallique ou palmitique pour le chêne et l'acide abiétique ou le dodecanol pour l'épicéa, ont été identifiées.
- Les fractions d'extractibles ayant un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne étaient les fractions les plus polaires pour le chêne et au contraire les moins polaires pour l'épicéa.
- L'inhibition de la croissance bactérienne avec les extraits du chêne et du hêtre était significativement plus importante pour les souches isolées du sol en comparaison avec celles isolées du bois.
- Après mise au point d'un test d'interaction entre microorganismes, les premiers résultats ont été obtenus entre bactéries et ont montré un effet inhibiteur en présence des extractibles.

Principales conclusions incluant des points-clés de discussion —

Parmi les différentes essences et fractions d'extractibles obtenues, les fractions les plus polaires du chêne et les fractions les moins polaires de l'épicéa ont exprimé la plus importante activité antimicrobienne sur la croissance des souches bactériennes. Cette inhibition pourrait être attribuée des métabolites secondaires tels que l'acide gallique ou palmitique pour le chêne ou bien l'acide abiétique ou le dodecanol pour l'épicéa. L'inhibition de la croissance était significativement plus marquée pour les souches bactériennes isolées du sol que pour des souches bactériennes isolées du bois montrant ainsi l'importance de l'origine des microorganismes et donc de leur niche écologique afin résister à la potentielle toxicité des extractibles. Finalement, les premiers tests d'interaction entre microorganismes montrent plutôt un effet inhibiteur en présence des extractibles.

Perspectives —

Les tests d'interactions entre bactéries et le champignon *P. chrysosporium* RP78 devront être réalisés afin de confirmer les résultats préliminaires.

La plus importante inhibition ayant été obtenues avec les extraits les plus polaires du chêne, il nous semble important de renforcer la pertinence écologique de ces résultats en testant les extraits sur des souches bactériennes issues directement du chêne en décomposition.

Valorisation —

Les premiers résultats obtenus dans le cadre du projet ISABEX ont été présentés sous forme de poster à la conférence « Ecology of soil microorganisms » de Prague (29 novembre – 3 décembre 2015). Ils ont également été présentés sous forme de 2 présentations orales dans le cadre du cycle de séminaires du LabEX ARBRE (Université de Lorraine, 20 novembre 2015) et dans le cadre d'un cycle de séminaires pour les étudiants de master FAGE de l'université de Lorraine (INRA Champenoux, 15 septembre 2016).

* **Mieszkin S.**, R. Sormani, P. Richet, M. Morel-Rouhier, E. Gelhaye and S. Dumarçay. Effect of wood extractives on wood-inhabiting microorganisms and importance of the ecological niche. *Ecology of soil microorganisms: microbes as important drivers of soil processes*, Prague, République Tchèque, 29 novembre-3 décembre 2015

Effet levier du projet —

Un nouveau projet incitatif LabEx 2017 (DivBactO) a été financé afin de caractériser la diversité taxonomique et fonctionnelle d'une collection de souches bactériennes issue du chêne duramen et aubier et d'évaluer la réponse physiologique de ces souches en présence des extractibles obtenus dans le cadre du projet ISABEX.

Un premier article scientifique issu du projet DivBactO est actuellement en fin de rédaction et sera soumis début 2018. Un second article, issu des résultats du projet ISABEX, sera écrit au premier semestre 2018.

Ces projets ont permis de mettre en place des collaborations durables avec les laboratoires LERMAB de l'université de Lorraine et l'Unité de Recherche Interaction Sol Plante Atmosphère de l'INRA de Cestas.

Ces projets et les publications qui seront produites vont permettre de répondre à des appels d'offres plus importants en renforçant la pertinence et l'importance des sujets de recherche abordés.
