



Etude des mécanismes moléculaires de la détoxification de bois traités par des produits de préservation par l'intermédiaire de champignons et de bactéries.

Prénom, Nom du porteur : Gaurav Pandharikar, post-doctoral fellow, Aurélie Deveau, chercheur

Laboratoire d'appartenance : UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM) 1136

Partenaires Labex : LERMAB, ENSTIB/Université de Lorraine

Collaborations : Arnaud Besserer, lecteur (LERMAB, ENSTIB/Université de Lorraine)

Action thématique concernée : WP1

Contexte —

L'industrie du bois utilise largement les produits de préservation du bois, ce qui conduit à la production d'environ 1,4 million de tonnes de déchets de bois traités par an en France (ADEME, CODIFAB/FCBA). Selon les réglementations européenne et française (décret n° 2002-540), les bois traités sont classés comme déchets dangereux. Actuellement, l'incinération des déchets de bois entraîne une pollution de l'environnement et des risques pour la santé publique. En réponse à cette problématique, nous avons créé un consortium microbien de bactéries et de champignons dans le cadre du projet ANR "WOODWASTE" (Projet-ANR-18-CE04-0012). Ce consortium est capable de détoxifier en quelques jours des bois traités avec des composés cuivre/azole. En outre, le projet DETOXOMICS vise à identifier les mécanismes moléculaires qui sous-tendent les interactions entre les micro-organismes impliqués dans le processus de détoxification, assurant ainsi leur survie.

Objectifs —

L'objectif global du projet est de comprendre l'efficacité des micro-organismes, y compris les champignons et les bactéries du sol, qu'ils agissent indépendamment ou en collaboration, en tant que biocatalyseurs puissants pour détoxifier le bois traité avec des azoles et du cuivre (Tanalith E3474). Pour y parvenir, nous définissons deux objectifs spécifiques pour le projet :

- 1) Comprendre les mécanismes moléculaires déployés par les micro-organismes pour survivre et croître en présence de produits de préservation antimicrobiens toxiques
- 2) Étudier les mécanismes de coopération entre les champignons et les bactéries pendant le processus de détoxification du bois.

Démarche —

Pour atteindre ces objectifs, nous avons utilisé une approche systémique dite "multi-omique" pour identifier de nouveaux gènes et voies métaboliques impliqués dans la détoxification de différents composés récalcitrants. La combinaison de ces techniques doit permettre d'identifier la régulation spécifique des gènes (transcriptomique), la production de protéines (protéomique) et le métabolisme (métabolomique) des différents partenaires microbiens. La combinaison de ces approches permet d'identifier de manière robuste les mécanismes d'interactions complexes déployés par les micro-organismes et d'identifier de potentielles nouvelles stratégies pour réaliser de la bioremédiation.

Résultats marquants —

Nous avons pu obtenir les protéomes et les métabolomes des deux consortia étudiés (pourriture blanche/bactéries, pourriture brune/bactéries) et les transcriptomes du consortium pourriture blanche/bactéries. Nous avons ainsi généré un jeu de données massif dont l'analyse est encore en cours. Toutefois quelques conclusions importantes peuvent déjà être tirées.

- La production massive d'oxalate par le champignon de pourriture brune induit une lixiviation biologique du cuivre et son immobilisation dans la phase liquide. A l'inverse, un phénomène de biosorption du cuivre par le champignon de pourriture blanche permettrait son développement sur le bois traité. Les deux champignons permettraient ainsi la survie des bactéries à travers des mécanismes d'action très différents, ce qui conduit au développement de communautés bactériennes dont la composition varie fortement en fonction du champignon présent. Ainsi certaines souches dominent en présence du champignon de pourriture brune tandis que d'autres sont favorisées par la présence du champignon de pourriture blanche. De plus, bien que les souches bactériennes du consortium soient fortement apparentées, seules 4 souches parmi les 10 inoculées à T0 se développent en présence des champignons et de Tanalith.
- Plus 12.000 peptides ont pu être identifiés dans le métabolome des consortia bactéries-champignons cultivés sur bois traité au Tanalith vs non traité. La présence de Tanalith induit une forte réponse à l'échelle protéomique, avec environ 25% des protéines dont le taux varie en fonction des conditions. Les bactéries dont la croissance augmente en présence de Tanalith se caractérisent par un taux élevé de protéines sur-exprimées contrairement aux bactéries dont la croissance est réduite. Parmi les protéines fortement exprimées en présence de Tanalith se trouvent de nombreux transporteurs de métaux, mais aussi de sucres, ainsi que des éléments de la machinerie de réparation de l'ADN. Toutefois, les taux d'expression de ces protéines varient en fonction du type de champignon présent dans le microcosme, ce qui suggère que le niveau de toxicité diffère en fonction des champignons.
- A l'inverse, l'étude du transcriptome fongique montre un faible taux de surexpression des gènes en présence des bactéries sur Tanalith et une sous-expression massive des transcrits fongiques.
- Une analyse croisée des transcriptomes, protéomes et métabolomes permettra d'obtenir une vision intégrative de la réponse à l'échelle cellulaire des différents micro-organismes (en cours). Ces résultats contribuent à la compréhension des communautés bactériennes qui survivent dans le microcosme toxique, à la fois en présence et en l'absence de champignons.

Principales conclusions incluant des points-clés de discussion —

Dans l'ensemble, nos résultats suggèrent que les champignons et les bactéries peuvent coexister et collaborer même s'ils sont en compétition pour une ressource carbonée dans un environnement hautement toxique, à condition que l'un d'entre eux soit en mesure de diminuer le niveau de toxicité pour permettre aux autres micro-organismes de survivre. Dans cet environnement toxique, les champignons auraient un effet de sélection sur les bactéries qui peuvent survivre via le mécanisme spécifique qu'ils utilisent pour détoxifier leur environnement. Enfin, un certain nombre de composés impliqués dans le processus de détoxification ont pu être identifiés.



Perspectives —

L'analyse des données générées est encore en cours (post-doctorat Marceau Levasseur, financement LUE). Dans un futur proche, l'ensemble de données généré pendant le projet DETOXOMICS nous permettra de comprendre les dialogues moléculaires impliqués dans le processus de détoxification du bois et la production potentielle de nouveaux composés bioactifs. De plus, cela nous permettra de caractériser les enzymes ou métabolites impliqués dans la détoxification. Enfin, cela les résultats obtenus devraient nous permettre d'optimiser le processus de détoxification, ce qui pourrait nous aider à développer un processus à grande échelle requis par l'industrie pour valoriser les déchets de bois toxiques.

Valorisation :

(Scientifique : publications, chapitre d'ouvrage, présentation lors de conférences, ...signaler d'éventuels prix) ;

économique : enveloppe Soleau, brevet, licence, ... ; **diffusion :** communiqué de presse, interview, ...)

18th International Symposium on Microbial Ecology Lausanne, Switzerland – Présentation

Labex Doc-post doc day and UMR internal seminars – Présentation

Publications:

Pandharikar, G.; Claudien, K.; Rose, C.; Billet, D.; Pollier, B.; Deveau, A.; Besserer, A.; Morel-Rouhier, M. Comparative Copper Resistance Strategies of *Rhodonia placenta* and *Phanerochaete chrysosporium* in a Copper/Azole-Treated Wood Microcosm. *J. Fungi* 2022, 8, 706.

Visualization of Fungi During Wood Colonization and Decomposition by Microscopy: From Light to Electron Microscopy. A Besserer, C Rose, A Deveau *Microbial Environmental Genomics (MEG)*, 337-361

Effet levier du projet —

Des demandes de financement ont été soumises à la Lorraine Université d'Excellence (LUE), et nous sommes heureux d'annoncer que nous avons obtenu avec succès une subvention pour le recrutement d'un candidat post-doctoral. Ce candidat post-doctoral sera chargé d'analyser de manière approfondie les données obtenues lors du projet DETOXOMICS.