

Le secrétome de *Trametes versicolor* : vers un indicateur de l'écotoxicité des sols ?

C. Mougin, J. Lebrun, A. Aloui, N. Cheviron,
N. Demont-Caulet, I. Gattin, K. Laval

<http://www-pessac.versailles.inra.fr>, mougin@versailles.inra.fr



Contexte

- **Les sols rendent de nombreux services écosystémiques, mais ils subissent de nombreuses menaces**
- **Les micro-organismes sont des acteurs clés du fonctionnement des sols sensibles à ces pressions**
 - ▶ **Les activités enzymatiques globales des sols, majoritairement d'origine micro-biologique, sont utilisées pour évaluer les perturbations du fonctionnement des sols**
 - ▶ **Les résultats obtenus sont souvent contradictoires, notamment au regard de l'effet de contaminations chimiques**

Objectifs et stratégie

- Connaître la relation entre exposition aux contaminants, sécrétion protéique et activité enzymatique
- Développer un outil d'indication de l'écotoxicité des sols

- Deux familles d'enzymes : hydrolases et oxydases

Deux niveaux d'étude : activités et protéines

Des modèles biologiques fongiques

Une approche préliminaire en cultures pures liquides

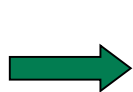
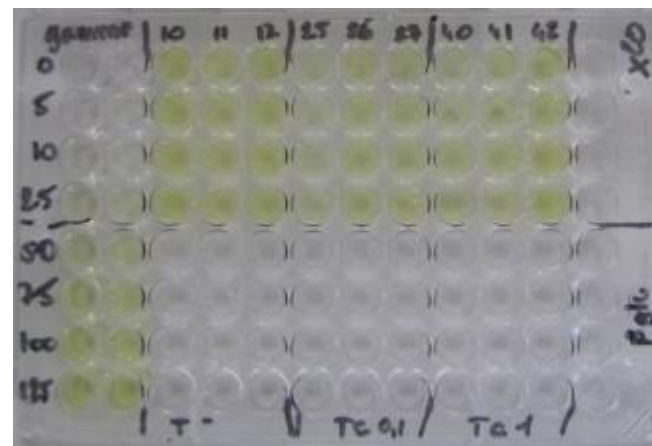
- ▶ Evolution vers la prise en compte de la complexité des sols



Etudes en cultures pures liquides



← Contaminant

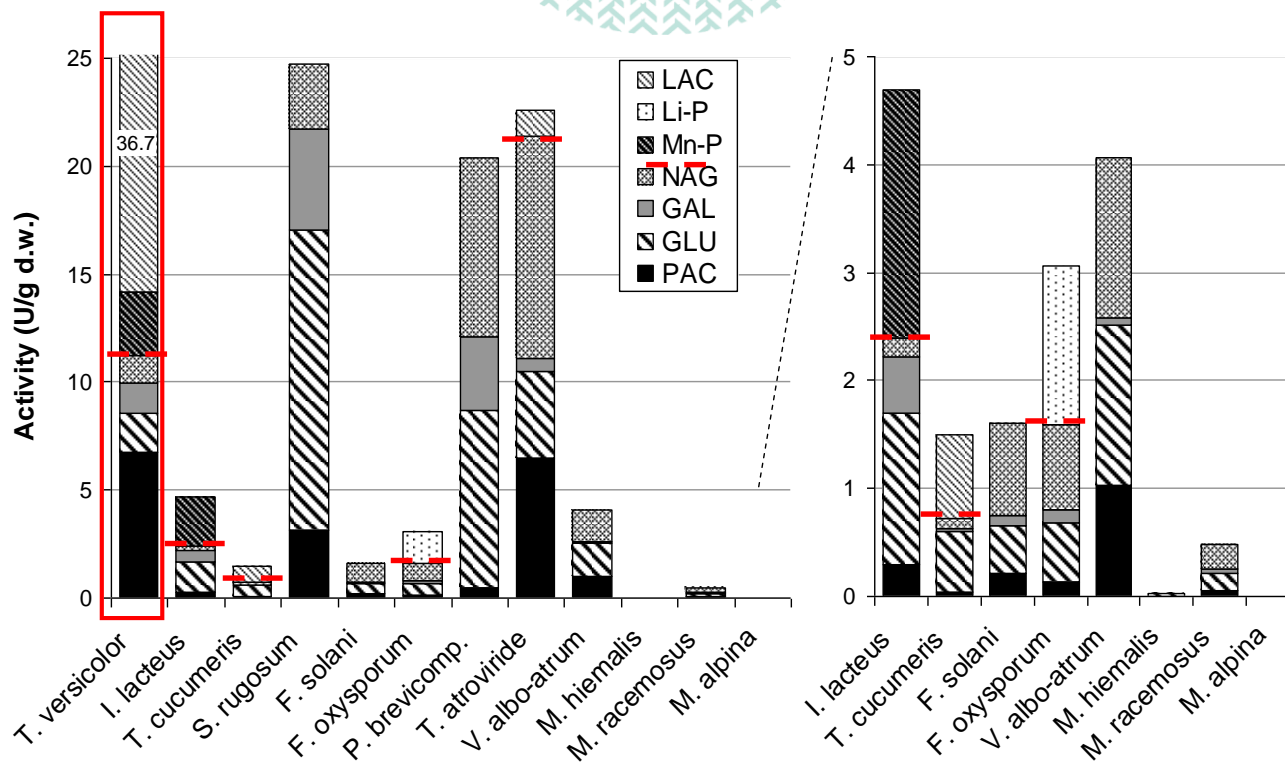


Milieu



Mesure des activités

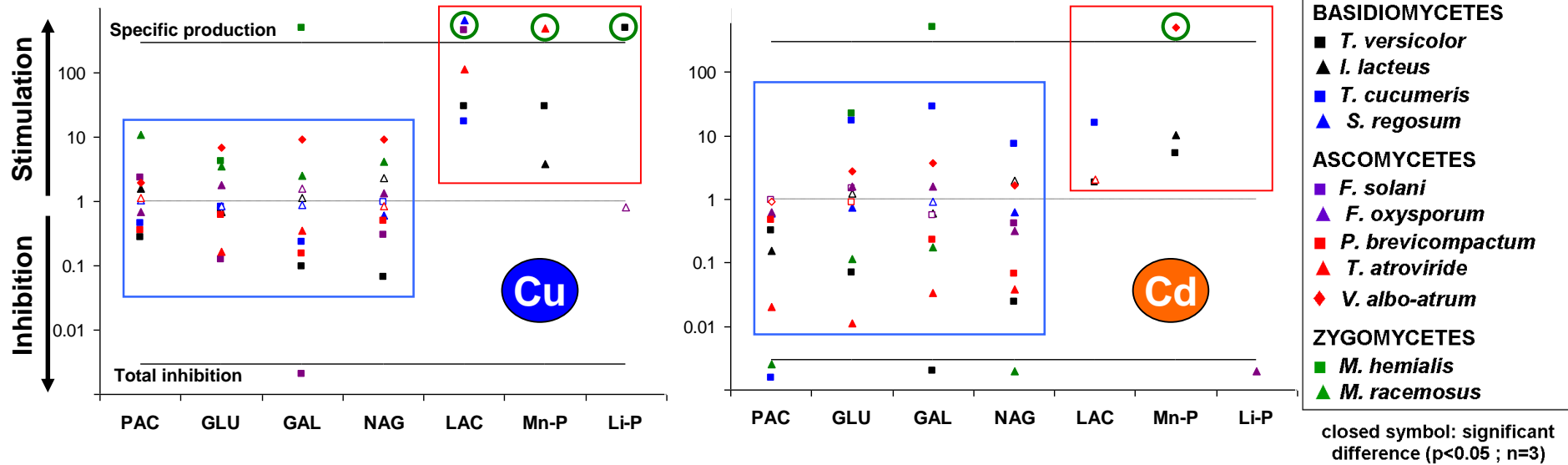
Criblage des activités enzymatiques exocellulaires



(Lebrun et al., en préparation)

- les 12 souches sécrètent les hydrolases testées (sauf *M. Alpina*)
- 50% des champignons disposent d'un système oxydatif partiel

Impact des métaux sur l'expression enzymatique

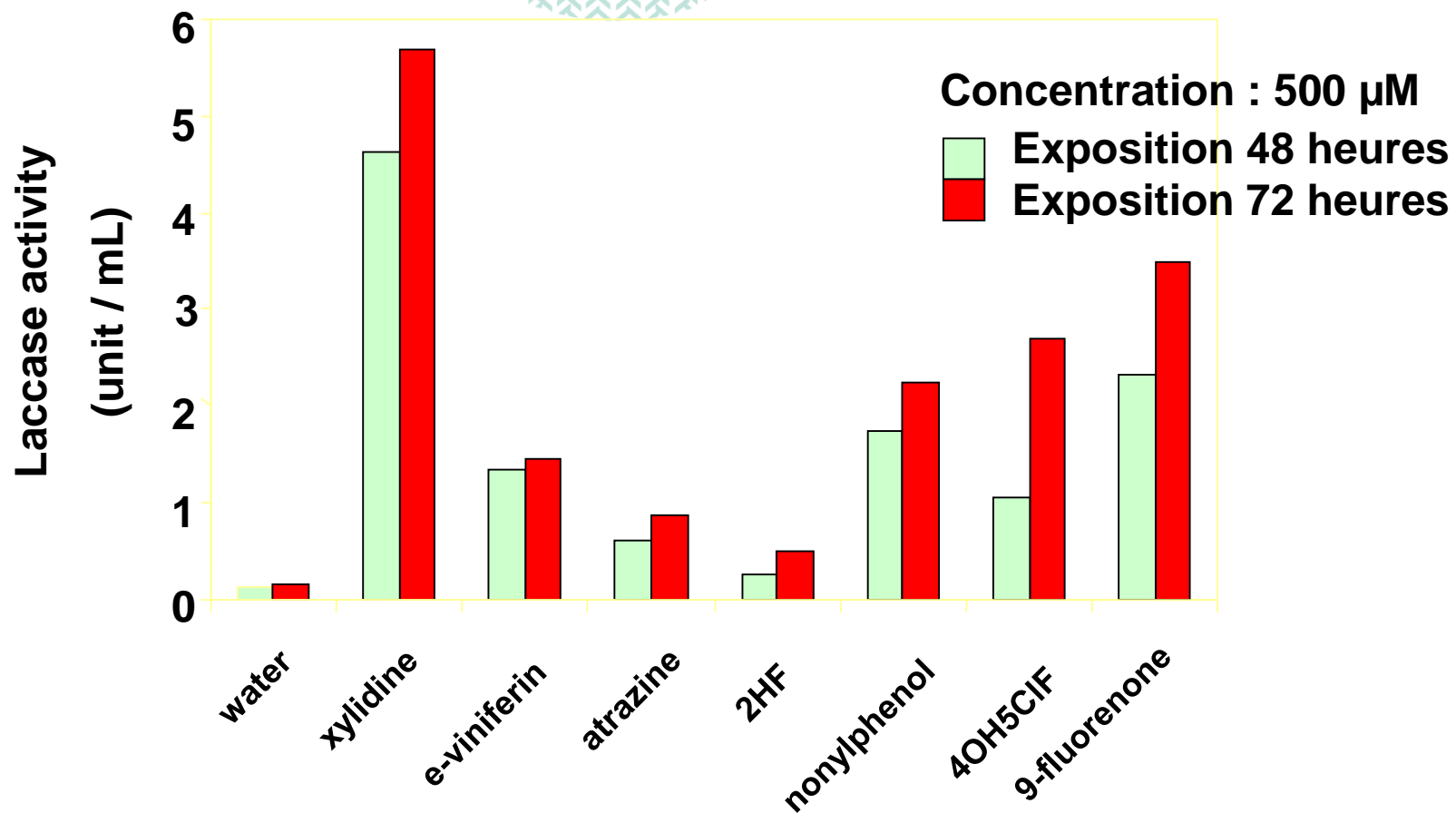


(Lebrun et al., en préparation)

- Variabilité de la réponse des hydrolases
- Stimulation des activités oxydases quelle que soit la souche
- Chez certaines souches, les oxydases sont spécifiquement produites



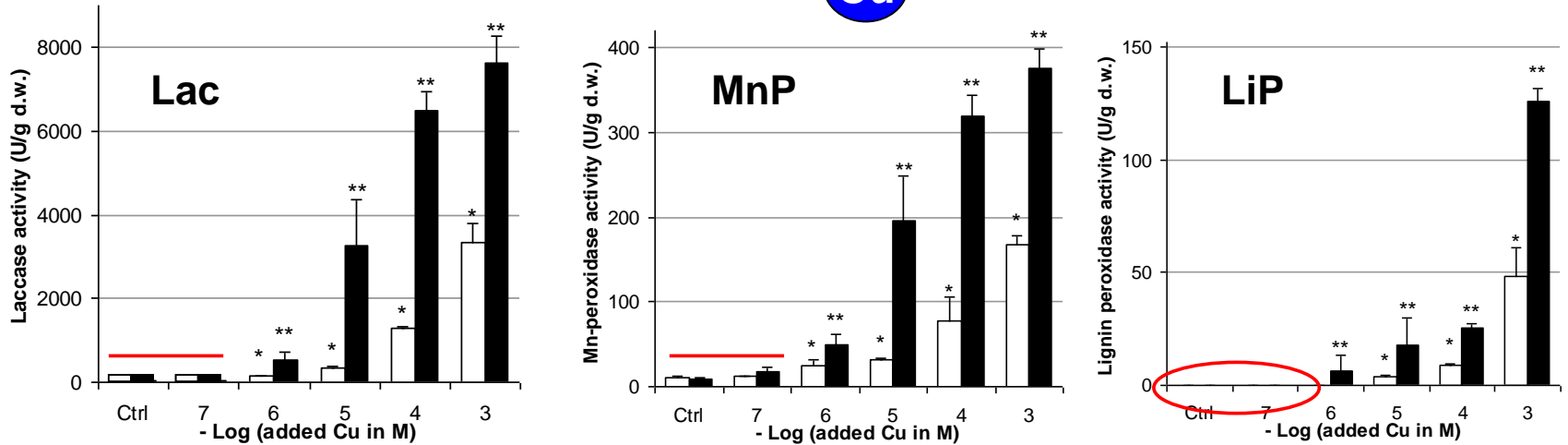
Impact des contaminants organiques sur l'activité laccase de *T. versicolor*



Des réponses à des contaminants organiques de structures chimiques variées

Sensibilité et sélectivité des réponses enzymatiques de *T. versicolor*

Cu

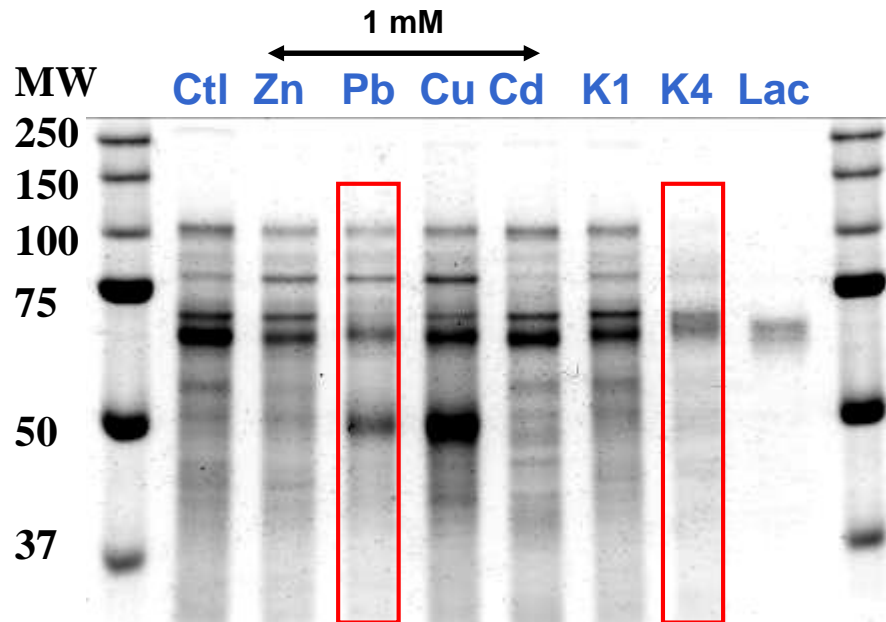


Culture of *T. versicolor* in Aba5 □ and Aba2.5 ■ ; values \pm SEM (n=9 ; *p<0.05)

(Lebrun et al., soumis à BioMetals)

- Stimulation de la laccase et de la Mn-peroxydase dès 1 μ M
- Production spécifique de la lignine-peroxydase dès 1 μ M
- Intensité de la réponse augmentée quand le Cu est plus biodisponible (spéciation)

Analyse comparative par électrophorèse des sécrétomes de *T. versicolor* exposé aux métaux



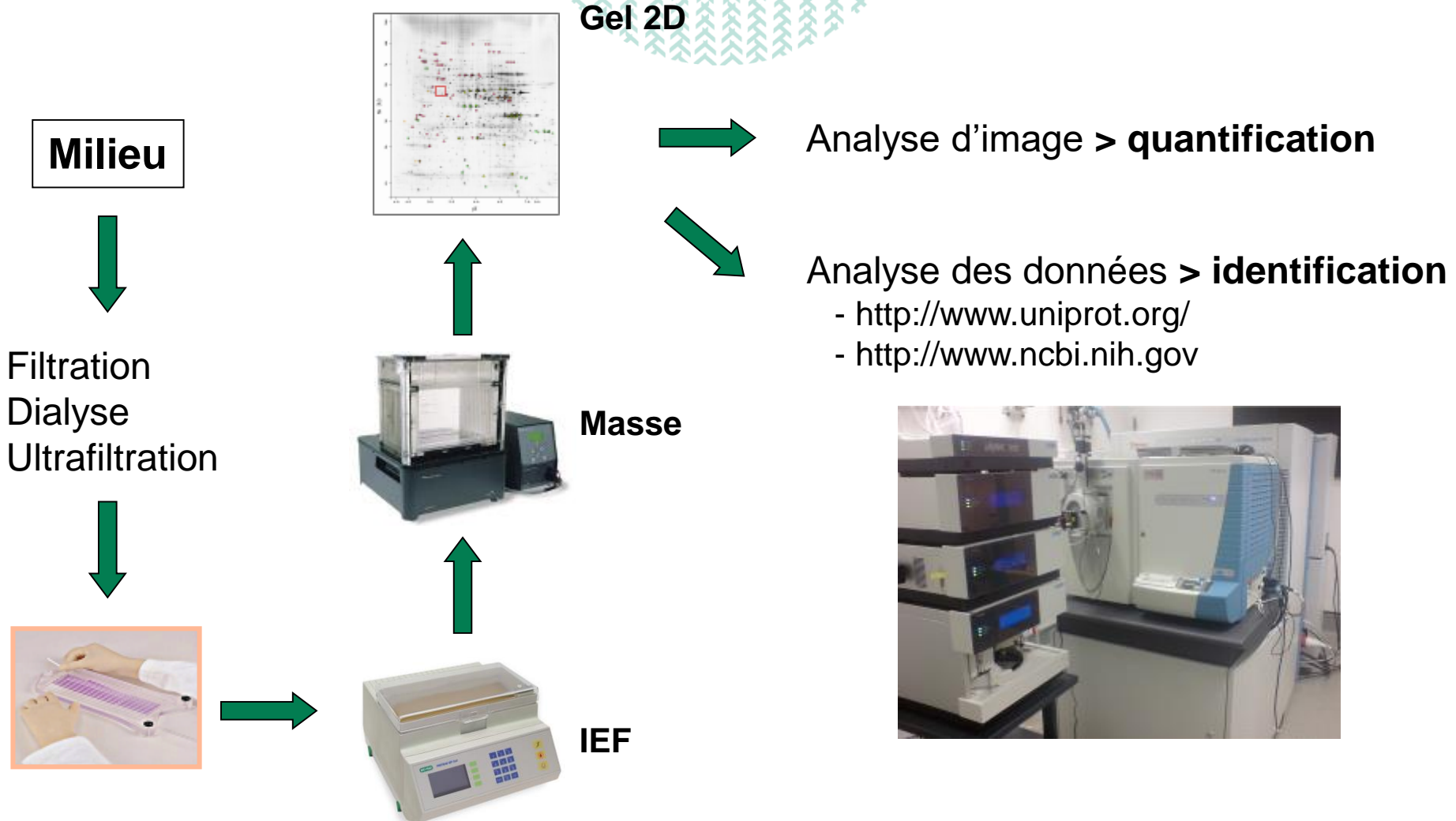
- Cocktail à 1 mM (K1) et à 4 mM (K4)
- Laccases purifiées (Lac) à 60 kDa

(Lebrun et al., soumis)

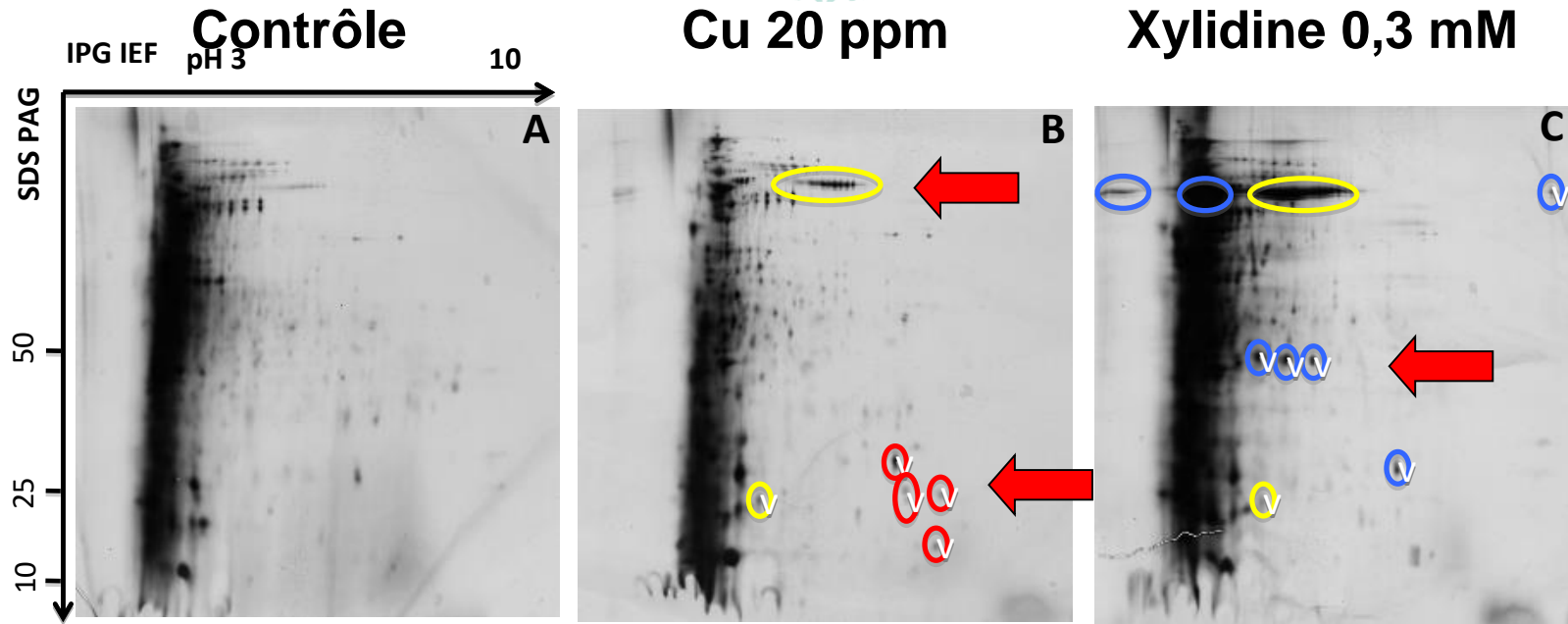
Les expositions aux métaux

- modifient les profils électrophorétiques
- diminuent la diversité des protéines sécrétées (disparition de bandes)

Approches par protéomique

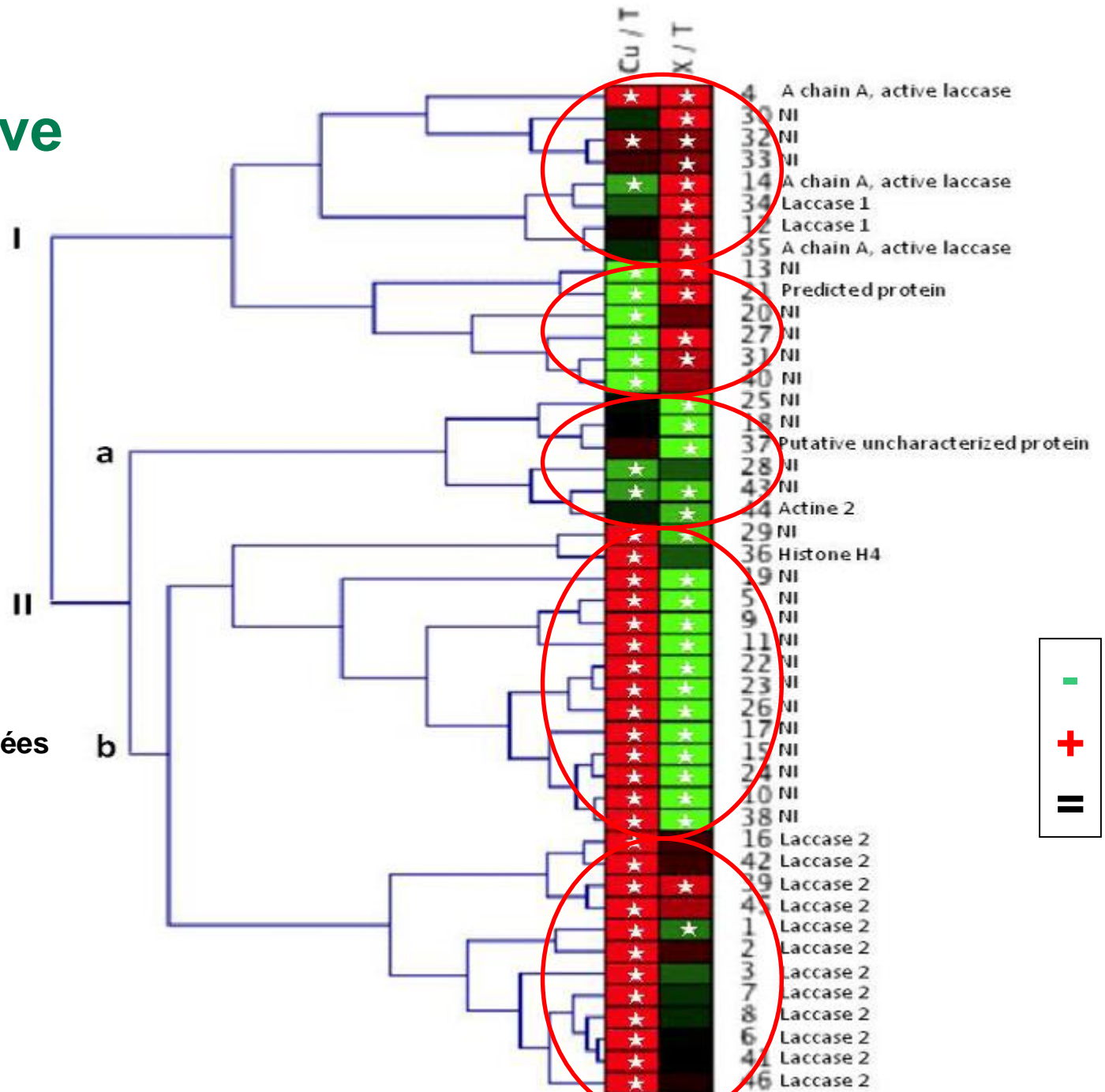


Sécrétome de *T. versicolor* en cultures liquides



L'exposition de *T. versicolor* à des contaminants chimiques métalliques ou organiques modifie de façon sélective les profils électrophorétiques

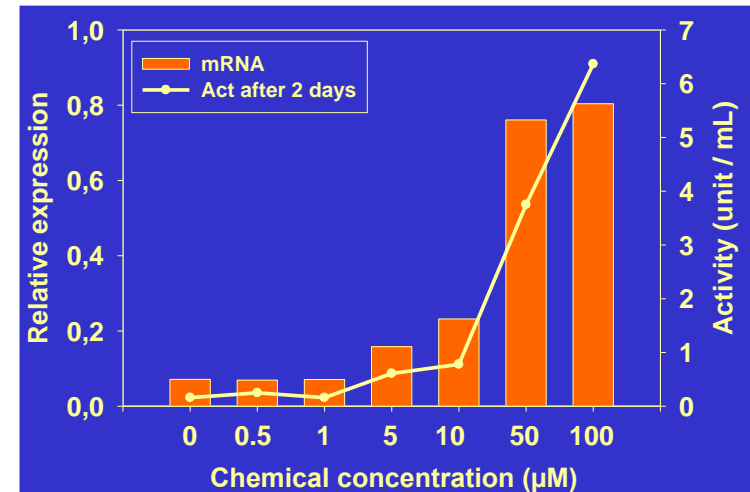
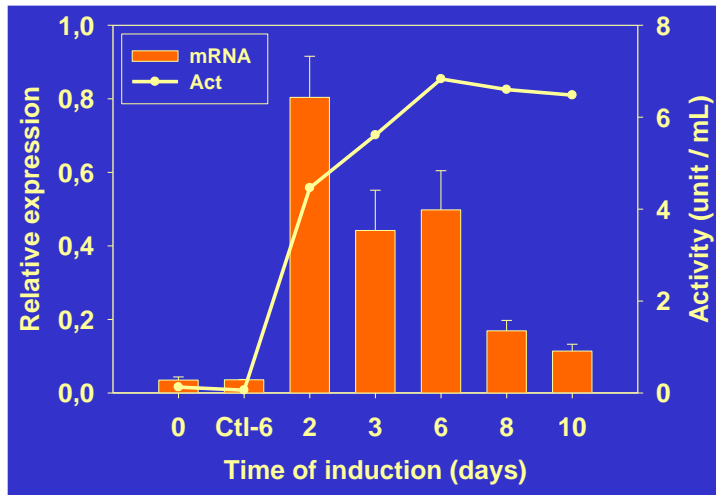
Analyse comparative



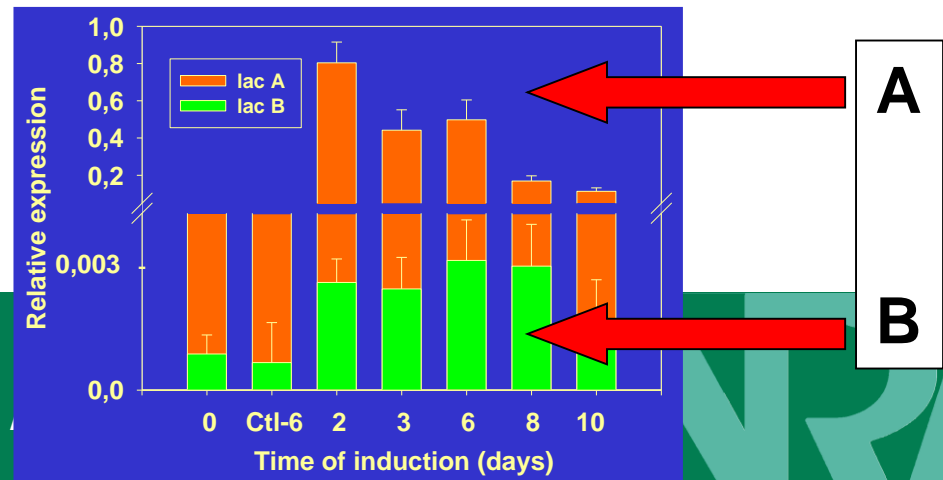
Mise en évidence de réponses différenciées

Induction des laccases de *T. versicolor*

- **type A (1)** : constitutive et inducible par xylydine, gène AF 414109



- **type B (2)** : constitutive et non inducible (Cu), gène U44430



Conclusions

- L'exposition de champignons (du sol) à des contaminants chimiques (biodisponibles) conduit à la sécrétion sélective et sensible d'enzymes exocellulaires
- Les réponses des oxydases (laccases) sont plus facilement interprétables que celles des oxydases, classiquement utilisées
- L'identification de quelques protéines candidates pour constituer un indicateur d'écotoxicité, de fonctionnement, reste à faire
- La question de l'abondance de ces protéines dans le sol est posée

Perspectives

En culture liquide

Dans les sols

Activités
enzymatiques

- Bases physiologiques de la sécrétion
 - Fenêtres d'expression
 - Induction par les métaux
 - Induction par les contaminants organiques
- *Régulation des enzymes*

- Variabilité spatio-temporelle
- Effet des pratiques agricoles, usages des sols, contaminants chimiques

Programmes Bioindicateurs ADEME

Protéines

- Protéomique ciblée sur le sécrétome de *T. versicolor* : hydrolases / oxydases
- *Protéomique sur organisme entier*

- *Extraction/quantification*
 - *Protéines endogènes*
 - *Protéines introduites*
- *Protéomique sur sols*

► Les activités enzymatiques sont-elles des biomarqueurs de l'écotoxicité des sols ?

Remerciements

Financeurs



ADEME



INRA

Merci pour votre attention



ALIMENTATION
AGRICULTURE
ENVIRONNEMENT

