

## DIPLÔME NATIONAL DE DOCTORAT

(Arrêté du 25 mai 2016)

Date de la soutenance : **16 décembre 2024**

Nom de famille et prénom de l'auteur. e : **Monsieur Adrien HAMANDJIAN**

Titre de la thèse : Caractérisation des vésicules de sécrétion chez le phytopathogène *Botrytis cinerea* : étude de leur contenu et dynamiques spatio-temporelles

### Résumé



Du monde bactérien aux neurones, l'élongation cellulaire polarisée se retrouve dans tous les règnes du vivant. Il s'agit d'une croissance unidirectionnelle qui est particulièrement marquée chez les champignons filamenteux, dont elle est l'une des caractéristiques majeures de leur règne. L'élongation des hyphes fongiques repose sur l'extension coordonnée, à leur extrémité seulement, de la membrane plasmique et de la paroi qui l'entoure. Cette extension est alimentée par l'exocytose de vésicules de sécrétion apportant des lipides à la membranes plasmique et les enzymes membranaires et solubles nécessaires à la synthèse, la maturation et la modification de la paroi. L'exocytose conduit aussi à la sécrétion de protéines solubles qui modulent les interactions de l'organisme avec son environnement, y compris des facteurs de virulence chez les espèces pathogènes. Cette thèse avait pour objectif premier d'identifier le contenu protéique des vésicules de sécrétion chez le champignon phytopathogène *Botrytis cinerea*, agent responsable de la pourriture grise chez des centaines de plantes, notamment la vigne et la tomate. Deux stratégies ont été explorées pour isoler ces vésicules à partir d'extraits cellulaires : un enrichissement basé sur la densité en utilisant un gradient de densité discontinu, et un enrichissement basé sur l'immunocapture en ciblant des protéines modifiées de la surface des vésicules de sécrétion. La microscopie électronique à transmission a confirmé la récupération de vésicules, puis l'analyse protéomique a confirmé la présence de protéines connues pour être transportées par la voie de sécrétion des cellules eucaryotes (des protéines impliquées dans la biosynthèse de la paroi cellulaire, l'acquisition de nutriments, et la virulence). Le second objectif de la thèse était d'étudier la dynamique des vésicules de sécrétion à l'extrémité des filaments en croissance. Des acquisitions en time-lapse par microscopie confocale ont été réalisées sur des hyphes produisant une version fluorescente d'une chitine synthase de classe III (protéine connue pour être transportée par des vésicules de sécrétion chez les champignons filamenteux). Pour exploiter ces acquisitions, des outils d'analyse d'images et de signaux ont été développés afin d'identifier la dynamique spatiale et temporelle de ces vésicules. Ce travail a démontré la coexistence de deux modalités d'organisation

des vésicules de sécrétion à l'apex des hyphes en croissance : 1) la formation d'un spitzenkörper, une structure connue des filaments fongiques, et 2) une structure en forme de croissant, peu documentée, et que nous avons appelé le croissant. De plus, une analyse plus approfondie a révélé une accumulation périodique des vésicules au spitzenkörper, dynamique qui n'a pas été détectée dans le croissant. À notre connaissance, cette étude fournit la première analyse protéomique des vésicules de sécrétion de *B. cinerea*. Les méthodes établies pour leur collecte ouvrent la voie vers une meilleure compréhension de leur composition, leur biogenèse et à la découverte potentielle de nouveaux facteurs de virulence. Ce travail contribue également à une meilleure compréhension de la dynamique des vésicules de sécrétion chez les champignons filamenteux, un aspect de la biologie fongique pour lequel beaucoup reste à découvrir.

**Mots-clés :** Vésicules, Champignons, Microbiologie, Mycologie, Sécrétion,