

Projet Termitofuel: les termites et leurs symbiotes pour mieux valoriser la biomasse ligno-cellulosique

Bauwens Julien¹, Tarayre Cédric², Mattéotti Christel³, Brasseur Catherine⁴, Destain Jacqueline², Vandenberghe Micheline³, Portet Daniel³, Thonart Philippe², De Pauw Edwin⁴, Haubruge Eric¹ and Francis Frédéric¹.

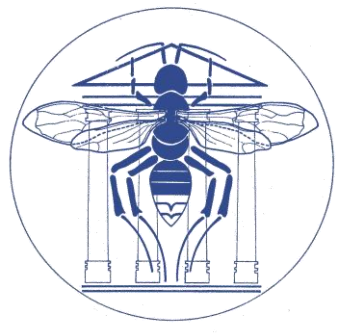
1: Functional and evolutionary entomology unit – University of Liege Gembloux Agro-Bio Tech

2: Bio-Industries unit – University of Liege Gembloux Agro-Bio Tech

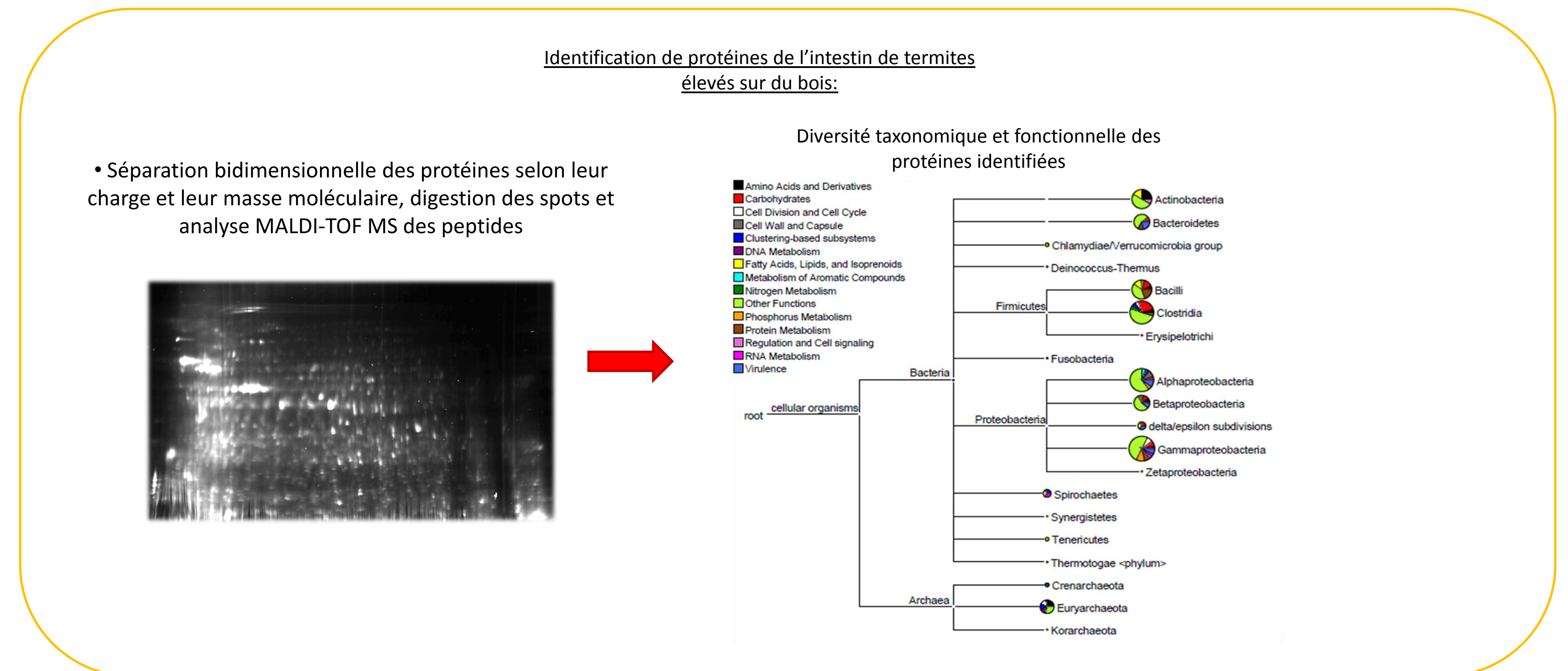
3: Animal and microbial biology unit – University of Liege Gembloux Agro-Bio Tech

4: Mass spectrometry laboratory – University of Liege

julien.bauwens@ulg.ac.be

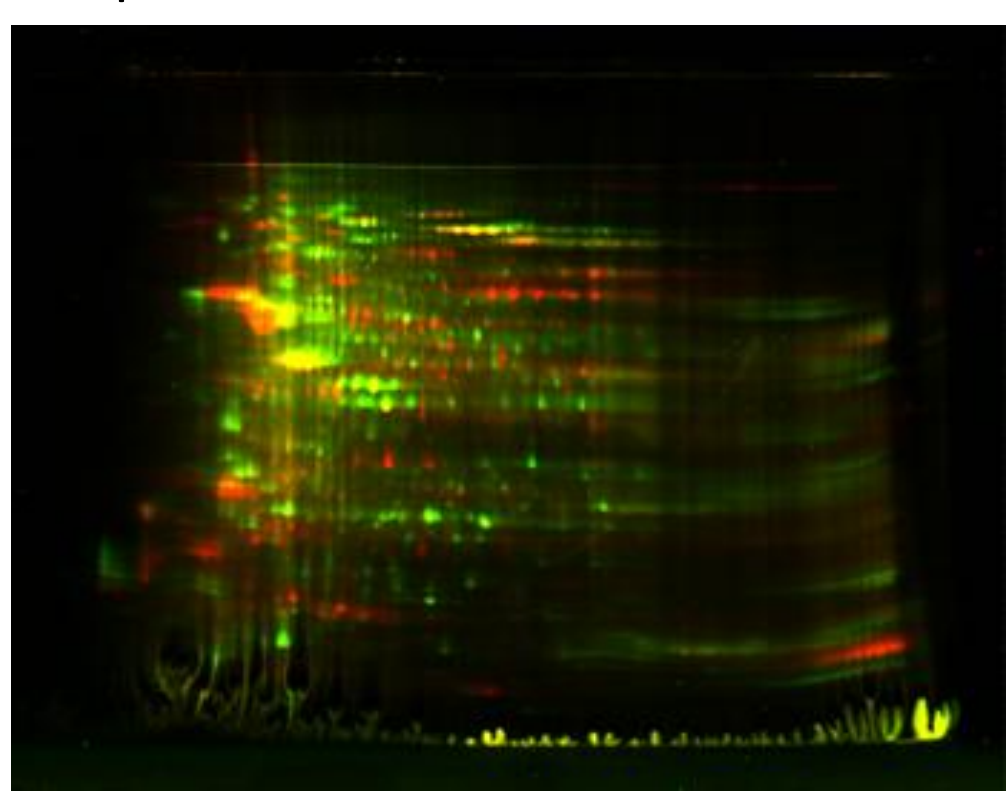


L'exploitation actuelle de la biomasse ligno-cellulosique, extrêmement abondante sur Terre, est liée à la production de déchets relativement peu valorisables. C'est pourquoi le projet TERMITOFUEL étudie la digestion du bois chez les termites, grâce à une approche pluridisciplinaire, en vue d'améliorer la production de bioéthanol de seconde génération. Au sein de l'Unité d'Entomologie Fonctionnelle et Evolutive, l'approche protéomique est employée afin d'identifier les micro-organismes présents dans le tube digestif des termites et caractériser les activités enzymatiques.



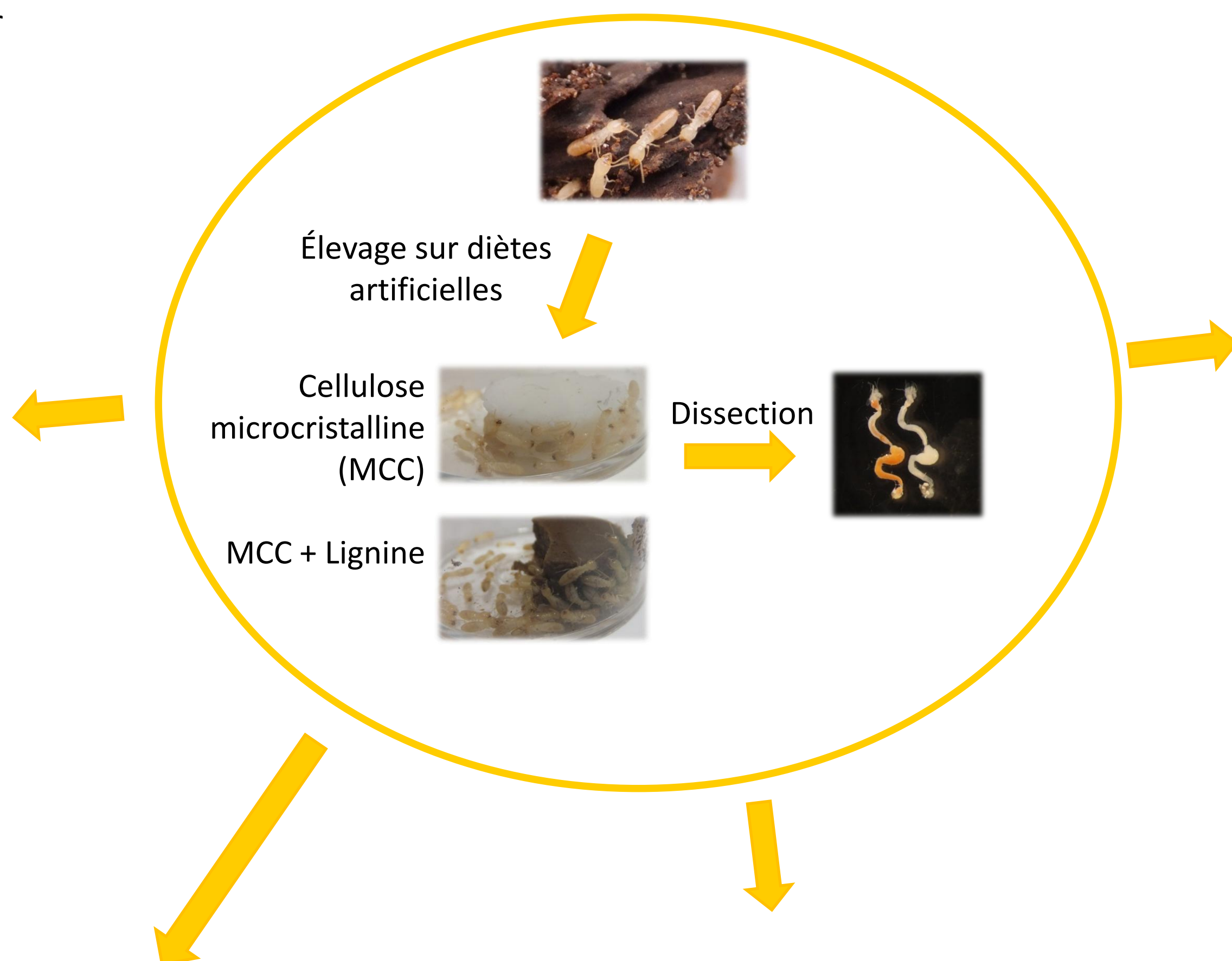
La **cellulose**, constituée de longues chaînes linéaires de glucose est le composant majeur de la biomasse végétale. Ces chaînes peuvent être découpées par des enzymes globalement appelées cellulases. Une fois ces chaînes suffisamment fragmentées, il est possible de produire du **bioéthanol** par fermentation. Les **hémicelluloses** sont des polymères, notamment de pentoses, plus complexes et plus difficilement fermentescibles. La **lignine** représente pour l'instant une barrière à la valorisation de la biomasse ligno-cellulosique en bioéthanol. Afin de mieux caractériser les rôles des diverses populations symbiotiques vis-à-vis de ces 3 composants principaux, nous avons développé une approche basée sur l'élevage de termites sur diètes artificielles.

2D-DIGE: comparaison quantitative des niveaux d'expression de protéines selon les diètes sur lesquelles les termites ont été nourris.



Exemple d'application:

- En **VERT**: protéines de l'intestin postérieur de termites nourris avec de la cellulose
- En **ROUGE**: protéines de l'intestin postérieur de termites nourris avec de la cellulose et de la lignine
- En **JAUNE**: protéines exprimées de façon identique dans les deux échantillons

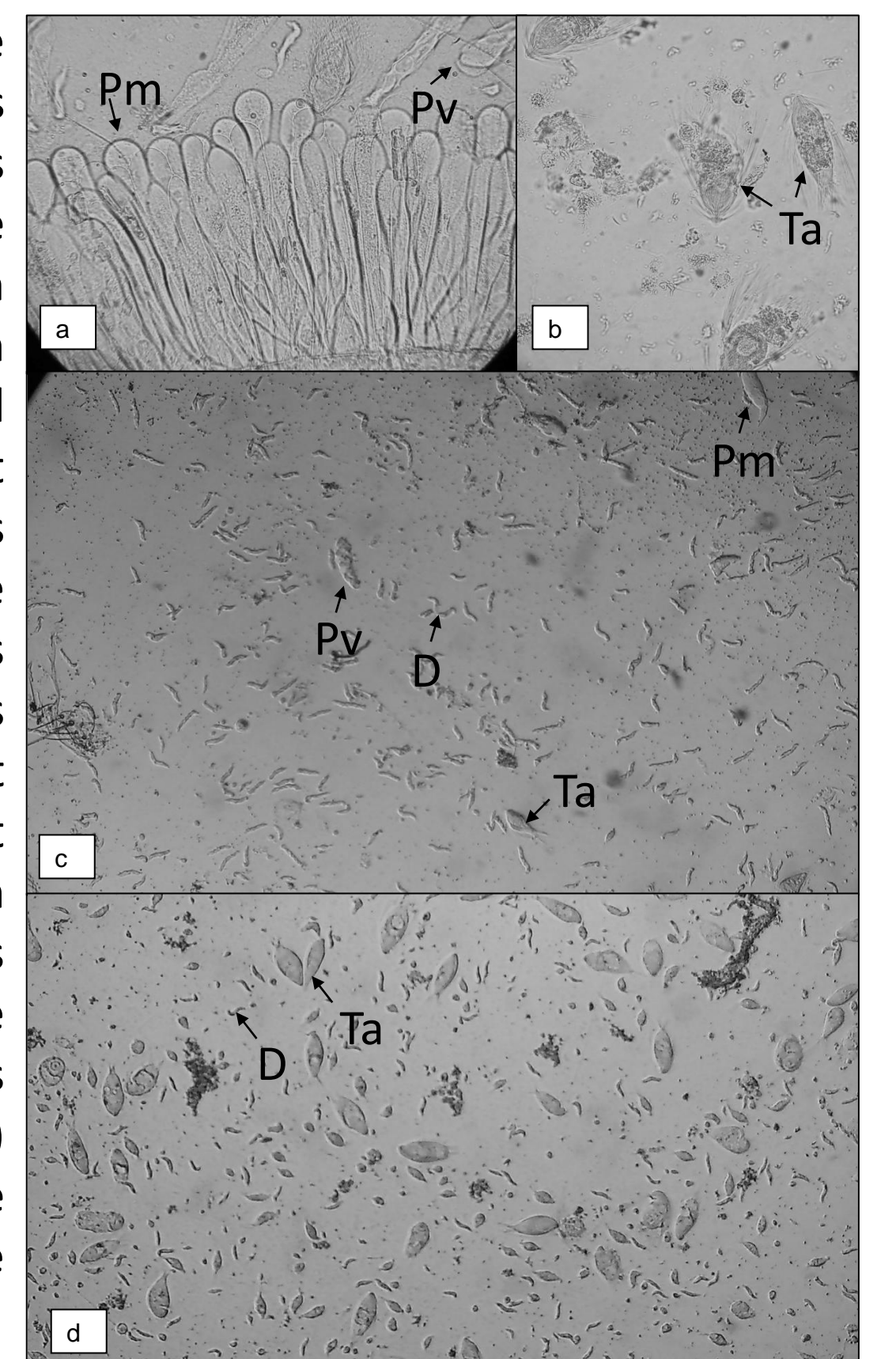


Culture de consortia microbiens dans un milieu composé des mêmes composés ligno-cellulosiques que les diètes artificielles (Unité de Bio-Industries)

Observation microscopiques des populations de Protistes et de Spirochètes



Ces observations nous permettent de mettre en évidence certaines variations dans les balances de populations symbiotiques. Ci-dessus, la complexité de la communauté microbienne de l'intestin postérieur du terme diminue lorsqu'on passe d'un régime alimentaire normal (Bois) à un régime composé uniquement de cellulose. En outre, lorsqu'on nourrit les termites uniquement avec de l'amidon, le nombre d'espèces de protistes observées diminue encore. Ci-contre, les populations de *Pyronympha major* (Pm) et *Pyronympha vertens* (Pv), qui colonisent généralement la paroi de l'intestin postérieur (a, c), sont très peu représentés voire non observés lorsque la diète contient 25% de lignine (d). Par contre, les populations de *Trichonympha agilis* (Ta) sont plus importantes lorsque la diète contient de la lignine (d) que lorsqu'elle contient 100% de cellulose.



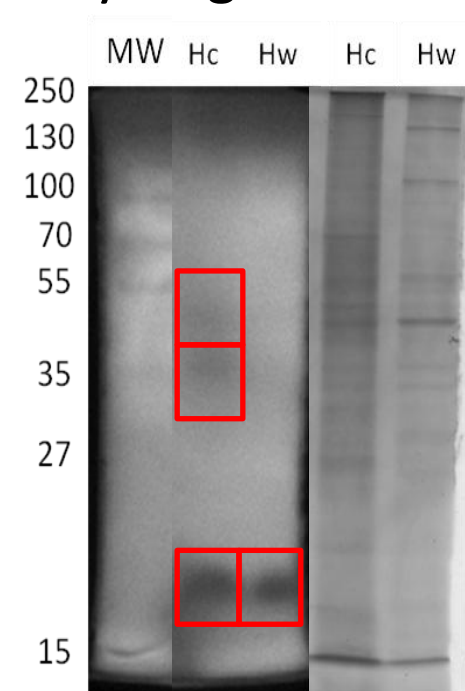
Détection d'activité enzymatique:

• Tests enzymatiques en solution

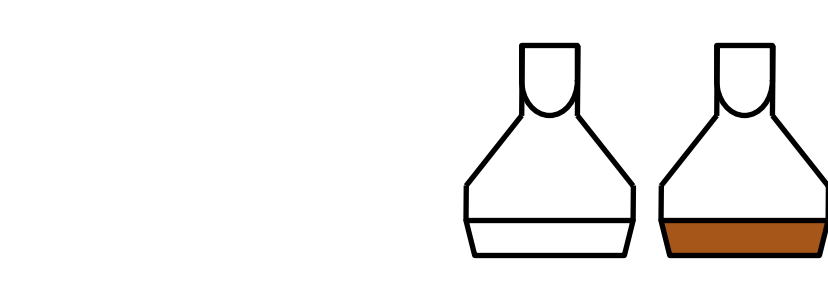


Ces tests permettent de quantifier aisément les activités enzymatiques et de comparer leurs valeurs selon la diète ou le segment de tube digestif.

• Zymogrammes

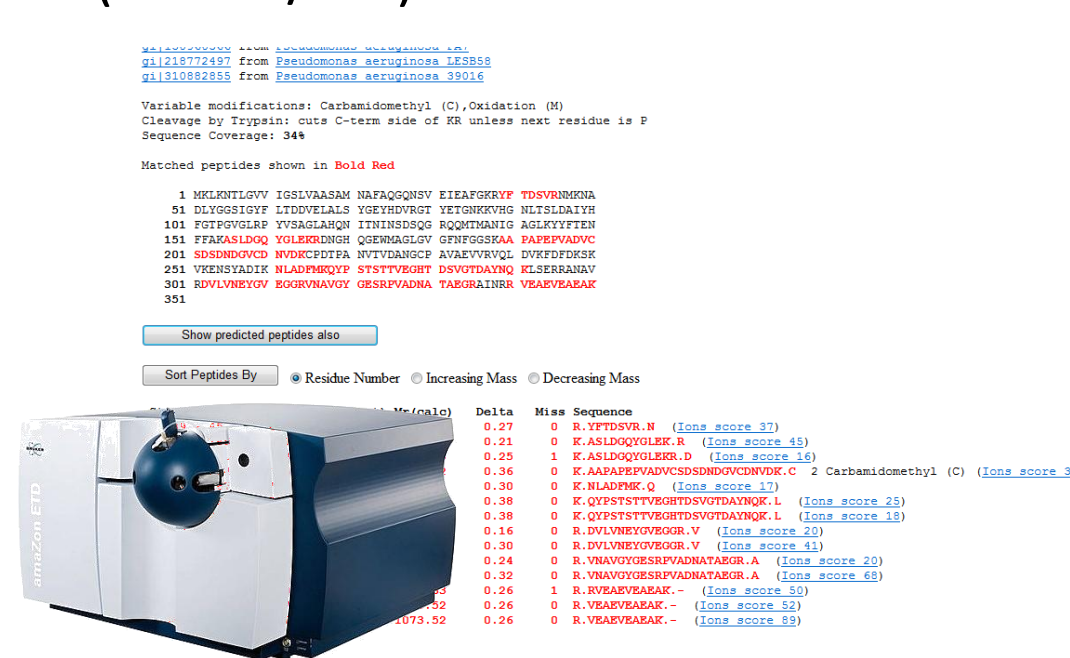


La zymographie (à gauche) est une méthode permettant la révélation d'activité enzymatique (en rouge) sur gel suite à une électrophorèse. La figure de droite correspond à la révélation des protéines totales des mêmes échantillons. Il est ainsi possible de déterminer si une certaine valeur d'activité est le résultat d'une seule (éch. Hw) ou plusieurs (éch. Hc) enzymes.

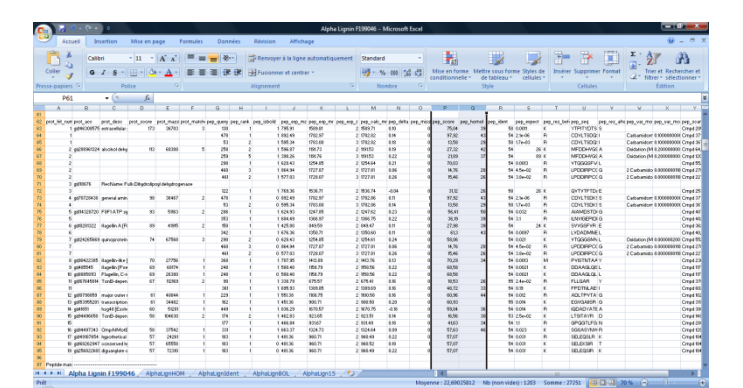


Extraction des protéines et digestion en solution

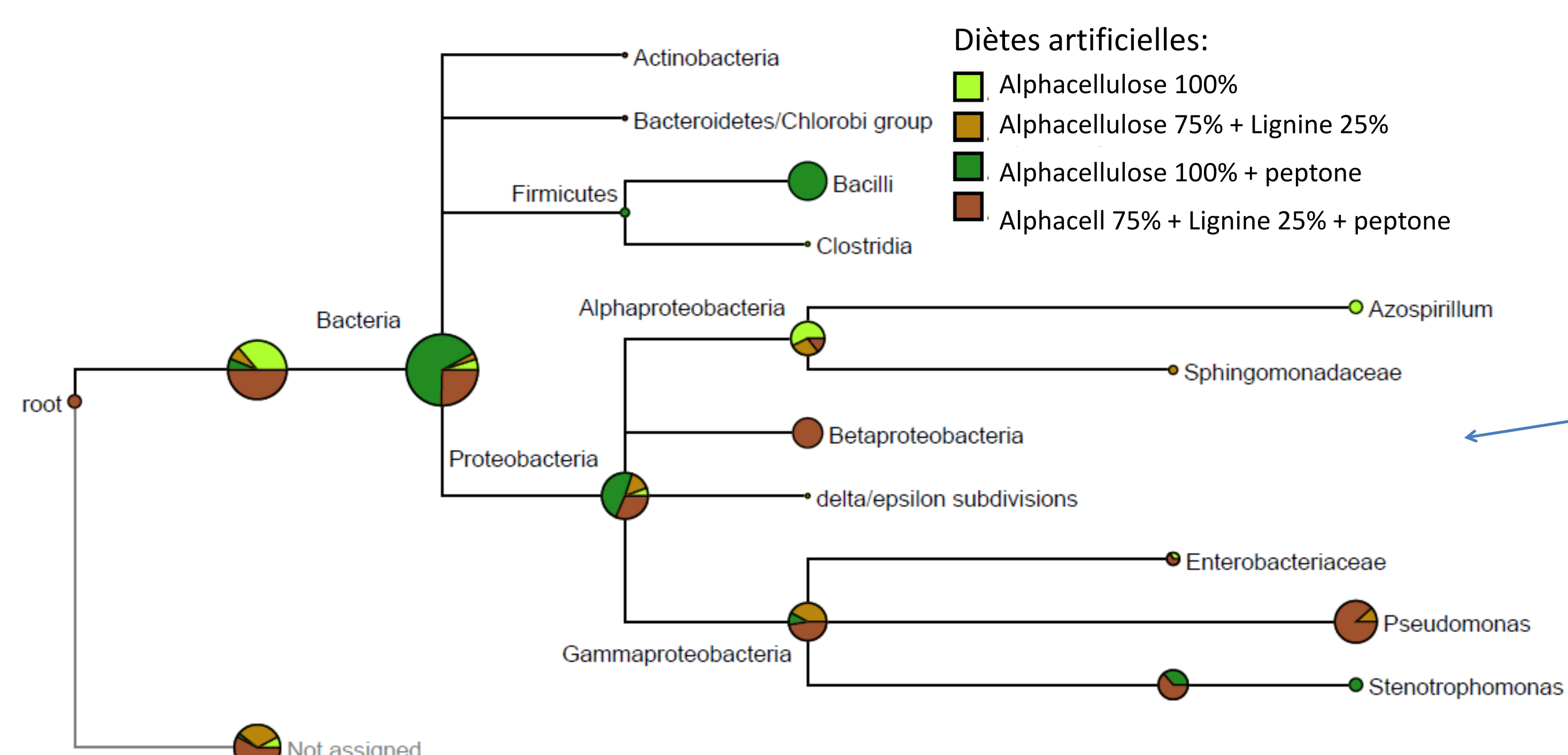
Analyse des peptides par spectrométrie de masse en tandem (ESI MS/MS) et recherche Mascot



Sélection des peptides correctement identifiés (score)



Analyse BLAST



Diètes artificielles:

- Alphacellulose 100%
- Alphacellulose 75% + Lignine 25%
- Alphacellulose 100% + peptone
- Alphacell 75% + Lignine 25% + peptone