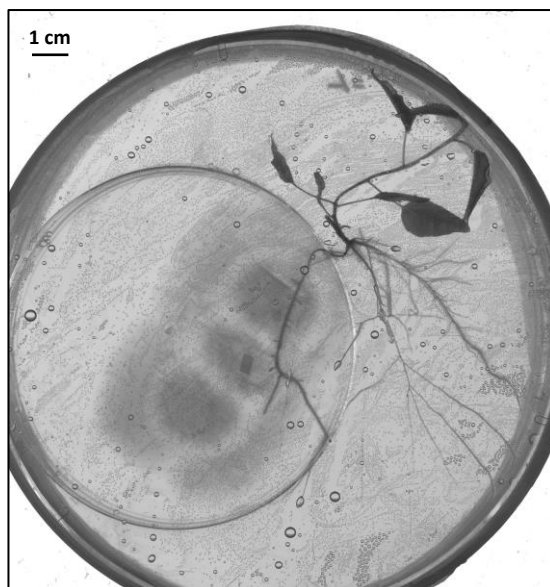




## NUTRESYM



### **Signaux nutritionnels impliqués dans la régulation de la croissance racinaire et le développement de l'ectomycorhize chez le Peuplier** **Nutrient signals in forest Trees Regulating Root growth and Ecto- mycorrhizae SYMBiosis**

Responsable scientifique : Clémence Bonnot, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM)

Partenaires Labex : Annegret KOHLER (IAM), Marie-Béatrice BOGEAT (EEF), Pascale MAILLARD (EEF), Dominique GERANT (EEF), Francis MARTIN (IAM)

Collaborations : Paul Abraham Oak Ridge National Laboratory (USA)

*Actions thématiques concernées :* WP1 (1.1 and 1.2)

---

**Contexte** — Dans les sols naturels et notamment forestiers, les éléments minéraux biodisponibles sont peu abondants et distribués de manière hétérogène dans les horizons du sol (Attiwill and Adams, 1993). Pour les absorber, les plantes investissent de l'énergie dans la croissance et le fonctionnement d'organes d'acquisition, racines ou organes spécifiques permettant leurs associations symbiotiques avec divers micro-organismes mutualistes. C'est le cas des arbres qui forment avec les champignons ectomychoriziens (ECM) des racines symbiotiques, les ectomycorhizes (ECM). La croissance et le maintien de ces organes représentent un fort coût carboné pour la plante (Hodge et al., 2009; Nehls et al., 2016; Farrar and Jones 2000). De ce fait, dans des zones du sol ayant une forte biodisponibilité en éléments minéraux, leur formation en trop grand nombre a des effets délétères sur la biomasse des plantes.

Pour maintenir une croissance optimale et investir leurs ressources efficacement, les plantes doivent donc intégrer les informations nutritionnelles de leur environnement et métabolisme afin de réguler adéquatement la formation et le fonctionnement de ces organes (Nouri et al., 2014; Evans et al., 2001). Dans de nombreuses plantes herbacées, plusieurs types de petites protéines sécrétées (SSP) ont été identifiés signaux nutritionnels locaux et systémiques régulant la croissance racinaire et la formation de symbioses à nodosités (de Bang et al., 2017; Bisseling and Scheres, 2014; Gutiérrez-Alanís et al., 2017). Les mécanismes moléculaires permettant aux arbres ces mêmes régulations sont encore inconnus.



**Objectifs** — Différentes familles de SSP ont été identifiées chez plusieurs arbres dont le Peuplier (Ghorbani et al., 2015 ; Goad et al., 2017). Afin de mettre en évidence les mécanismes moléculaires permettant à cette espèce de réguler son développement racinaire et ses interactions symbiotiques en fonction de leur statut et environnement nutritif, nous proposons d'étudier le rôle des SSPs dans la régulation de la symbiose ECM et de l'architecture racinaire chez le peuplier en réponse à quatre stress nutritifs : la carence et l'excès de phosphate (Pi) et la carence et l'excès de nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ).

**Démarche** — Nous avons (i) caractérisé l'effet de ces stress nutritifs sur le développement du système racinaire du peuplier *Populus X Canescens* associé au champignon ECM *Laccaria bicolor*, (ii) généré le catalogue des SSP du Peuplier et caractérisé leur phylogénie, (iii) utilisé des approches de transcriptomique et protéomique pour sélectionner des SSP potentiellement impliqués dans la transduction des signaux nutritifs et (iv) vérifié l'effet direct de ces SSPs candidats sur l'architecture racinaire et la formation d'ECM.

**Résultats marquants** —

- (i) Dans les conditions de croissance sélectionnées, seule la concentration en  $\text{NO}_3^-$  du milieu affecte le système racinaire du peuplier. En effet, la carence en  $\text{NO}_3^-$  favorise la formation d'ECMs de manière locale, c'est à dire dans les zones racinaires en contact direct avec le milieu carencé, en augmentant le nombre de racines mycorhiziées, mais également la surface de la zone d'échange plante-champignon (réseau de Hartig). La formation d'un réseau de Hartig profond à l'intérieur des ECMs est un indicateur fort de leur fonctionnement (Plett et al., 2014). La carence en  $\text{NO}_3^-$  pourrait donc favoriser le fonctionnement des ECMs. Ni les stress Pi, ni les stress  $\text{NO}_3^-$  n'affectent la formation ou l'architecture racinaire du peuplier.
- (ii) 21 familles de SSP ont été identifiées chez le Peuplier dont 2 sont connues pour intervenir dans la signalisation nutritionnelle chez les légumineuses et *Arabidopsis thaliana* (CEP et CLE).
- (iii) Parmi les peptides des familles CEP et CLE, deux groupes de peptides ont été identifiés comme peptides candidats sur la base de leur réponses transcriptionnelles au  $\text{NO}_3^-$  et à l'interaction du peuplier avec différents champignons ECM (*Laccaria bicolor*, *Amanita muscaria*, *Cenococcum geophilum* et *Pisolithus microcarpus*) : les peptides régulés par le  $\text{NO}_3^-$  (Groupe A) et les peptides régulés par l'interaction ECM (Groupe B). Les peptides du groupe A pourraient être impliqués dans la conduction d'un signal de régulation de la symbiose en réponse à un stress nutritif. Les peptides du groupe B pourraient être impliqués dans la conduction de signaux d'autorégulation de la symbiose ou plus simplement dans l'établissement de celle-ci.
- (iv) *in vitro*, l'incubation de *Populus X Canescens* interagissant avec *Laccaria bicolor* par des peptides de synthèse de ces deux groupes a mis en évidence un effet inducteur des peptides du groupe B sur la formation des ECMs. Aucun effet n'a été observé sur la formation d'ECMs pour les peptides du groupe A.

**Principales conclusions incluant des points-clés de discussion** — Nos résultats suggèrent que le Peuplier régule son interaction ECM en réponse au niveau de  $\text{NO}_3^-$  mais pas en réponse au niveau de Pi. La carence et l'excès de Pi n'affectent pas la formation, ni la structure des mycorhizes. Nous ne pouvons cependant pas exclure que le Pi affecte les performances fonctionnelles des racines ECM ou que son effet soit dépendant de l'espèce fongique en symbiose avec le peuplier. La quantification des échanges réciproques C/P et C/N entre la plante et le champignon permettrait de caractériser l'effet de ces stress sur le fonctionnement de la symbiose.

Les familles de SSP identifiées dans le génome du Peuplier sont orthologues des familles de SSP caractérisées chez les plantes herbacées. C'est notamment le cas des familles CEP et CLE dont les membres les plus connus sont des signaux de stress nutritifs et hydriques chez les légumineuses et chez *Arabidopsis thaliana*.



Régulés par le  $\text{NO}_3^-$ , les peptides du groupe A pourraient être impliqués dans la conduction de signaux de carence/excès de  $\text{NO}_3^-$  induisant/réprimant l'établissement et/ou le maintien de symbioses. Ils pourraient favoriser la formation d'ECM lors d'une carence en  $\text{NO}_3^-$ .

En revanche, l'identification parmi les peptides du groupe B (induits par la symbiose ECM) de peptides capables de stimuler la formation d'ECM suggère l'implication de ces SSP dans l'établissement de l'interaction symbiotique ou la formation de la racine ECM elle-même. Leurs effets sur la physiologie de la symbiose, ainsi que sur l'interaction arbre-champignon, est actuellement caractérisée via la production de peupliers mutants.

**Perspectives** — Nos résultats montrent que les SSP ont un rôle dans la mise place des interactions symbiotiques chez le Peuplier. Certaines de ces protéines favorisent la symbiose indépendamment des conditions de carence nutritive. Leur rôle dans la mise en place de ces interactions est en cours d'étude afin de mieux comprendre à quel niveau (signal longue distance ou local) et dans quel contexte (mécanisme d'établissement de la symbiose ou manipulation de la plante par le champignon) ils interviennent. La découverte de ces peptides suggère que d'autres protéines pourraient réguler la formation de l'ectomycorhize en réponse aux signaux nutritifs. L'identification de SSP, induits ou réprimés par la concentration de  $\text{NO}_3^-$ , est en faveur de cette hypothèse. La caractérisation bioinformatique de ces petites protéines de signalisation nutritionnelle est actuellement conduite chez le Chêne..

**Valorisation** —

Publication : Villalobos Solis, M. I., Poudel, S., Bonnot, C., Shrestha, H. K., Hettich, R. L., Veneault-Fourrey, C., ... & Abraham, P. E. (2020). A viable new strategy for the discovery of peptide proteolytic cleavage products in plant-microbe interactions. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 33(10), 1177-1188.