



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE

Ecole Doctorale SIRENa (Sciences et
Ingénierie des Ressources Naturelles)

UMR 1434 Silva



Thèse

Présentée et soutenue publiquement pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Mention : Biologie et écologie des forêts et des agrosystèmes

par **Benjamin TURC**

Sous la direction de **Pr. Yves Jolivet**

Dynamique des réponses physiologiques, structurales et moléculaires au stress O₃ dans les feuilles de peuplier

Soutenue publiquement le 10 décembre 2021

Membres du jury :

Directeur(s) de thèse	M. Yves JOLIVET	Professeur, Université de Lorraine, Nancy
Président de jury	Mme Claire FOURREY	DR, INRAE, Centre INRAE Grand Est-Nancy
Rapporteur	Mme Anne REPELLIN	Professeure, Université Paris Est Créteil, Créteil
Rapporteur	Mr Vicent CATALAYUD	DR, Mediterranean Center for Environmental Studies, Valencia
Examinateur	Mme Claire FOURREY	DR, INRAE, Centre INRAE Grand Est-Nancy
Examinateur	Mr Luis LEITAO	MCF, Université Paris Est Créteil, Créteil
Examinateur	Mme Madeleine GUNTARDT-GOERG	Dr, Institut fédéral de recherches sur la forêt, la neige et le paysage WSL
Co-supervisor	Mme Mireille CABANE	MCF, Université de Lorraine, Nancy
Co-supervisor	M. Pierre VOLLENWEIDER	DR, Institut fédéral de recherches sur la forêt, la neige et le paysage WSL

Abstract: With background concentrations having reached phytotoxic levels during the last century, tropospheric ozone (O_3) has become a key climate change agent, counteracting carbon sequestration by forest ecosystems. Impacts on vegetation includes physiological alteration, structural and ultrastructural changes and transcriptomic deregulation leading to plant growth inhibition (and yield loss). However, few studies have investigated the link between the dynamics of these events. Considering that one of the main gap for implementing the recent O_3 flux-based critical levels (CL) concerns the quantification of plant capacity to neutralize a portion of the O_3 entering the leaf, a better understanding of cellular response dynamics to O_3 is required. In this context, young poplar (*Populus tremula x alba*, 717-1b4 INRAE clone) were exposed to 80 or 100 ppb O_3 in fully controlled conditions during 30 days. All analysis were performed on two leaves differing by their developmental stage (fully expanded vs in expansion). After a latency period driven by foliar development, net CO_2 assimilation and stomatal conductance decreased in response to O_3 . Hypersensitive response-like appeared early during exposure, and showed sigmoidal-like dynamic, varying according to leaf age. Ontological evolution of HR-like lesion showed post-mortem evolution cellular material. Genes whose expression was highly correlated with HR-like were all involved in response to biotic stress, and can constitute a starting list of investigation to determine O_3 stress molecular markers. Accelerated Cell Senescence (ACS), followed through chlorophyll content, was later induced and showed monotonic dynamic. Senescence related genes were regulated early during O_3 exposure and dynamics of ACS-related microscopic changes were depending on O_3 treatments, leaf position and POD_0 . Hence, this work demonstrates the development of a complex syndrome of early reactions to O_3 stress in leaves, with distinct dynamics and mechanisms of the HR-like and ACS processes. These processes could result from distinct spatial accumulation of O_3 -induced ROS. Finally, this study also suggested that expression of genes involved in development during leaf expansion could confer higher tolerance to O_3 stress.

Résumé : Les concentrations de fond ayant atteint des niveaux phytotoxiques au cours du siècle dernier, l'ozone troposphérique (O_3) est devenu un agent clé du changement climatique, contrecarrant le piégeage du carbone par les écosystèmes forestiers. L'impact sur la végétation comprend des altérations physiologiques, des changements structuraux et ultrastructuraux, ainsi qu'une dérégulation transcriptomique qui conduisent à une inhibition de croissance (et une baisse de rendement) pour les plantes. Cependant, peu d'études ont examiné le lien entre les dynamiques de ces différents événements. Considérant que l'une des principales lacunes pour la mise en œuvre des récents niveaux critiques (CL) basés sur les flux d' O_3 concerne la quantification de la capacité des plantes à neutraliser une partie de l' O_3 entrant dans la feuille, une meilleure compréhension de la dynamique de la réponse cellulaire à l' O_3 est requise. Dans ce contexte, de jeunes peupliers (*Populus tremula x alba*, clone INRAE 717-1b4) ont été exposés à 80 ou 100 ppb O_3 dans des conditions entièrement contrôlées et pendant 30 jours. Toutes les analyses ont été effectuées sur deux feuilles différant par leur stade de développement (pleinement développé vs en expansion). Après une période de latence due au développement foliaire, l'assimilation nette de CO_2 et la conductance stomatique diminuent en réponse à l' O_3 . La réponse de type hypersensible apparaît tôt pendant l'exposition, suivant une dynamique de type sigmoïde, variant selon l'âge de la feuille. La lésion de type HR présente alors une évolution post-mortem du matériel cellulaire. Les gènes dont l'expression était fortement corrélée avec la HR-like sont tous impliqués dans la réponse au stress biotique, et peuvent constituer une liste préliminaire pour la détermination de marqueurs moléculaires du stress O_3 . La sénescence cellulaire accélérée (ACS), suivie par la teneur en chlorophylles, est induite plus tardivement et suit une dynamique monotone. Par contre, les gènes liés à la sénescence sont régulés assez tôt et la dynamique des changements microscopiques liés à l'ACS varie en fonction du traitements O_3 , de la position des feuilles et du POD_0 . En conséquence, ce travail démontre le développement d'un syndrome complexe de réactions précoces au stress O_3 dans les feuilles, avec des dynamiques et des mécanismes distincts du HR-like et de l'ACS. Le développement de ces deux processus pourrait résulter d'une accumulation spatiale distincte des ROS induits par l' O_3 . Enfin, cette étude suggère également que l'expression des gènes impliqués dans le développement lors de l'expansion des feuilles pourrait conférer à la plante une plus grande tolérance au stress O_3 .