



Figure 1. Analyse de redondance (RDA) présentant la distribution des communautés fongiques en fonction d'un gradient de stress hydrique et de l'état de santé du hêtre. Les vecteurs indiquent les variables et les espèces significatives structurant les communautés microbiennes après des analyses de régression multiple et 1000 permutations ($n = 8-10$, FDR corrigé, $p_{adj} \leq 0.01$). Les effets significatifs des variables environnementales et de l'état de santé du hêtre ont été évalués par PERMANOVA après 1000 permutations ($p_{adj} \leq 0.01$).

Le sauvetage du hêtre par des partenaires fongiques mycorhiziens bien adaptés - Les interactions symbiotiques confèrent-elles une capacité d'adaptation aux conditions de sécheresse ?

Responsable scientifique : KOHLER Annegret, UMR Interactions Arbres/Micro-organismes (IAM) 1136

Partenaires Labex : ARBRE-SwissForestLab proposal

Collaborations : Benjamin Dauphin, Swiss Federal Research Institute WSL, Biodiversity and Conservation Biology (Co-Porteur WSL), Felix Gugerli, Swiss Federal Research Institute WSL, Biodiversity and Conservation Biology, Martina Peter, Swiss Federal Research Institute WSL, Biodiversity and Conservation Biology, Francis Martin, UMR "Tree-Microbe Interactions", Claire Veneault-Fourrey, UMR "Tree-Microbe Interactions", Lorenz Walthert, Swiss Federal Research Institute WSL, Forest Soils and Biogeochemistry, Huayong Wang, PhD student INRAE UMR "Tree-Microbe Interactions", Félix Fracchia, INRAE/WSL Post-doc hired for the project (12 months INRAE/6 months WSL)

Action thématique concernée : WP1

Contexte

Les récents événements climatiques extrêmes, tels que les périodes de sécheresse prolongées, représentent de graves menaces sur le fonctionnement des écosystèmes forestiers.



Les arbres forestiers, comme le hêtre, sont des espèces à longue durée de vie qui jouent un rôle essentiel dans leur écosystème. À ce jour, le rôle des interactions symbiotiques plante-champignon en réponse à la sécheresse est mal compris et son évaluation nécessite une approche intégrative reliant les données génotypiques, phénotypiques et environnementales issues de populations naturelles ainsi que la validation expérimentale des observations *in situ*.

Objectifs

Des études récentes ont montré que la sélection affecte les phénotypes et les gènes des populations naturelles de hêtres, conduisant à une adaptation aux conditions de sécheresse. Notre objectif est d'élargir ces connaissances aux processus d'adaptation souterrains. En particulier, pour comprendre le fonctionnement et la résilience des forêts, nous devons savoir si les principaux partenaires mutualistes des arbres forestiers sont adaptés à leur habitat local et si, l'arbre et les champignons forment un complexe de co-adaptation qui pourrait conférer des avantages en matière d'approvisionnement en nutriments et en eau pendant les périodes de sécheresse prolongées. Notre projet fera le lien entre la génomique et l'écologie pour aider à prédire le sort des forêts de hêtres en Europe dans le contexte du changement climatique en tenant compte de leurs partenaires mycorhiziens.

Dans le WP1, nous visons à identifier les réseaux de gènes responsables de l'adaptation des hêtres individuels à une faible disponibilité en eau et à des températures élevées et à déterminer le rôle que les communautés fongiques ectomycorhiziennes (ECM) associées jouent dans ces processus d'adaptation en étudiant les hêtres affectés par la sécheresse sur des sites d'étude secs. Dans le WP2, nous recherchons des modèles d'adaptation locale chez le principal symbiote ECM du hêtre, *Cenococcum geophilum*, en isolant et en séquençant le génome entier d'environ 250 souches provenant de forêts de hêtres situées sur un gradient de disponibilité en eau à travers la Suisse. Enfin, dans le WP3, nous voulons développer des systèmes de mycorhization simplifiés avec des plantules de hêtre et *C. geophilum* en laboratoire afin de pouvoir tester et comprendre les effets de différentes souches adaptées à la sécheresse sur les interactions avec le hêtre dans diverses conditions.

Démarche

Dans le WP1, nous comparerons des paires physiquement très proches, de hêtres juvéniles sains et dépérissant, échantillonnés après la sécheresse sévère de 2018 sur six sites d'étude secs à travers la Suisse. Nous utiliserons le séquençage génomique de ces hêtres et les marqueurs taxonomiques moléculaires des communautés ECM pour étudier les associations significatives entre le génotype de l'arbre et la composition de la communauté fongique ECM sur six sites d'étude le long d'un gradient de sécheresse. Dans le WP2, nous utiliserons le séquençage génomique des souches de *C. geophilum* pour évaluer les fréquences des allèles et les génotypes de la population et les relier à la variation environnementale en utilisant des analyses d'association. Dans le WP3, nous évaluerons l'adaptation des souches de *C. geophilum* du WP1 en utilisant du polyéthylène glycol pour imposer un stress hydrique. Nous testerons ensuite la capacité de mycorhization de certaines souches de *C. geophilum* tolérantes et sensibles à la sécheresse avec le hêtre, soit en serre, soit à l'aide d'un système *in vitro* stérile, et nous séquencerons un premier ensemble de transcriptomes de référence de *C. geophilum* et de hêtre en utilisant le séquençage de l'ARN.

Résultats marquants —

-WP1 : Nous avons caractérisé les communautés fongiques associées aux systèmes racinaires de hêtres sains et dépérissant, provenant de six sites d'étude à travers la Suisse. Nous avons observé que le stress hydrique avait un effet plus important sur la structuration des communautés fongiques que d'autres variables environnementales. D'autre part, nous avons identifié une communauté fongique commune, non affectée par la disponibilité en eau sur tous les sites échantillonnés (p. ex. *Cenococcum* et *Cortinarius*). En revanche, certains genres fongiques tels que *Lactarius* ont été significativement associés à des sites d'échantillonnage plus sévèrement affectés par un déficit hydrique. Enfin, nous avons observé que les espèces fongiques ectomycorhiziennes étaient significativement associées aux systèmes racinaires de hêtres sains, tandis que l'abondance relative des champignons saprotrophes augmentait dans les racines des arbres présentant un dépérissement sévère.

-WP2 : Le travail de terrain pour cette partie a été achevé à l'été 2022 et plus de 250 souches de *C. geophilum* ont été isolées du sol (collectés le long des 14 sites surveillés pour leur disponibilité en eau.) Quelques ajustements au protocole ont été nécessaires pour optimiser l'isolement du matériel fongique à partir des nombreux échantillons de sol. Des extractions d'ADN fongiques ont été réalisées et le re-séquençage des génomes a été effectué.



En parallèle, nous avons généré un nouvel assemblage du génome de référence de *C. geophilum* (au niveau chromosomique) pour les analyses en aval. E Morin (bioinformaticienne INRAE IAM) a utilisé le pipeline d'annotation JGI pour annoter cette nouvelle référence et le portail est en attente de QC pour être publié. En outre, pour 25 souches sélectionnées, des échantillons d'ADN et d'ARN ont été préparés pour le séquençage du génome au JGI, y compris *Pseudocenoococcum*.

- WP3 : Des tests préliminaires de tolérance à la sécheresse de souches de *C. geophilum* à l'aide de polyéthylène glycol pour imposer un stress de sécheresse ont été réalisés.

Pour une des souches tolérantes à la sécheresse, *C. geophilum* 1.093, une analyse du transcriptome pendant la période de stress et de récupération a été réalisée. Nous avons utilisé du polyéthylène glycol (PEG) pour imiter les effets de la sécheresse. Les mycéliums cultivés dans un milieu avec et sans PEG (-1,5 MPa) ont été échantillonnés à 6h, 24h et 48h. Après avoir prélevé une partie des cultures, les mycéliums restants ont été transférés dans un milieu sans PEG pendant 24h et 48h pour récupération. Des échantillons en trois replicats ont été congelés, l'ARN total a été extrait et séquencé par DNBSEQ (150bp pair-end).

En outre, un accord de transfert de matériel a été signé avec le CSIC en Espagne et 5 clones in vitro de *Fagus sylvatica* et *F. orientalis* ont été obtenus. Les premiers tests de mycorhization avec *C. geophilum* sont en cours.

Principales conclusions incluant des points-clés de discussion

WP1 :

- Les communautés fongiques étaient structurées principalement en fonction du site d'étude et dans une moindre mesure, en fonction de la santé de l'arbre hôte.
- Nous avons démontré que les espèces fongiques ectomycorhiziennes étaient significativement associées aux systèmes racinaires des hêtres sains, tandis que l'abondance relative des champignons saprotrophes augmentait dans les racines des arbres présentant un dépérissement sévère.
- 4 taxons fongiques étaient significativement associés à l'hôte dépérissant (les champignons saprotrophes non identifiés *Pezizula*, *Mycena*, et *Mortierella* ainsi que les Trimorphomycetaceae non identifiés), alors qu'un seul champignon était significativement associé à l'hôte sain et au site les plus secs (le champignon EcM non identifié *Lactarius*).

Perspectives

Félix Fracchia a entamé la deuxième partie de son post-doc au WSL et a commencé à analyser les données de séquençage du génome des hêtres.

Après le séquençage, il travaillera également sur les données génomiques de plus de 250 souches de *C. geophilum* en utilisant le nouveau génome de référence (annoté par E Morin (INRAE) en utilisant le pipeline d'analyse du Joint Genome Institute).

Valorisation

Le projet a été présenté au sein des équipes INRAE et WSL ainsi que lors de la réunion annuelle du réseau de recherche forestière Nancy-Freiburg-Zurich en septembre 2022 (<https://www.nfz-forestnet.eu/>). B Dauphin a présenté MAGIC via un poster lors de la conférence ECFG16 à Innsbruck/Autriche en mars 2023 (<https://www.ecfg16.org/>). Félix Fracchia présentera MAGIC cette année à l'ICOM12 à Manchester.

Un manuscrit Fracchia et al. "Prevalence of drought and soil parameters in structuring fungal communities of healthy and suffering juvenile beech trees" est en préparation.

Effet levier du projet

La réalisation d'un nouvel assemblage du génome de référence de *C. geophilum* au niveau chromosomique dans le cadre de MAGIC a déjà donné lieu à un nouveau projet avec le Joint Genome Institute consistant à séquencer 25 souches supplémentaires de *C. geophilum*. Des échantillons d'ADN et d'ARN ont été préparés et le séquençage des génomes est en cours au JGI, y compris pour *Pseudocenoococcum*.