



HAL
open science

Cartographie élémentaire du P et du K par fluorescence X : premiers résultats sur les échanges de P dans les racines ectomycorhizées

Claude Plassard, Camille Rivard, Laurie Amenc, Carlos Trives Segura, B
Lassalle

► To cite this version:

Claude Plassard, Camille Rivard, Laurie Amenc, Carlos Trives Segura, B Lassalle. Cartographie élémentaire du P et du K par fluorescence X : premiers résultats sur les échanges de P dans les racines ectomycorhizées. 8. Journées Scientifiques et Techniques du Réseau des Microscopistes de l'INRA, Nov 2018, Theix, France. , 2018. hal-02735064

HAL Id: hal-02735064

<https://hal.inrae.fr/hal-02735064v1>

Submitted on 2 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Cartographie élémentaire du P et du K par fluorescence X :

premiers résultats sur les échanges de P dans les racines ectomycorhizées



C. Plassard¹, C. Rivard^{2,3}, L. Amenc¹, C. Trives¹, B. Lassalle³
 claude.plassard@inra.fr camille.rivard@synchrotron-soleil.fr laurie.amenc@inra.fr
 1. Eco&Sols, INRA-IRD-CIRAD-SupAgro, 34060 Montpellier
 2. CEPIA, INRA, 44300 Nantes
 3. Synchrotron SOLEIL, 91190 Gif-sur-Yvette

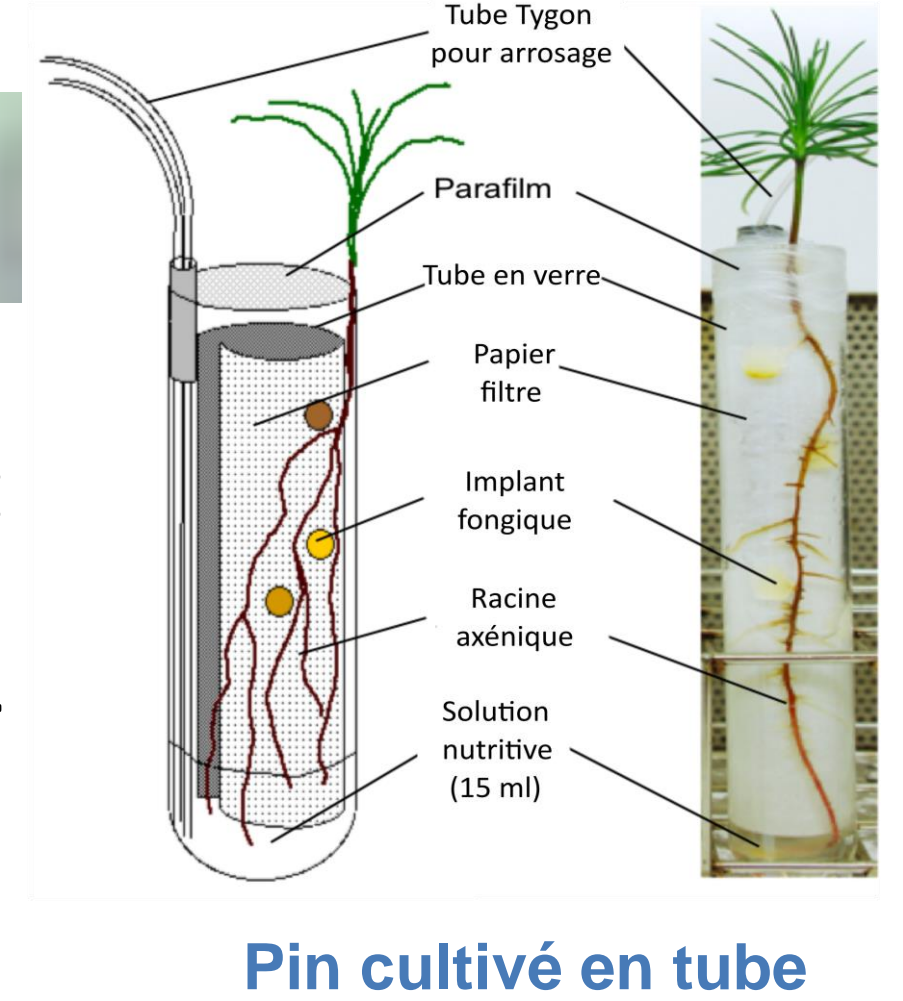


Contexte et objectif de l'étude

On sait que les champignons ectomycorhiziens (**ECM**) améliorent la nutrition de leur plante hôte en leur apportant des éléments limitants et particulièrement le phosphore inorganique (**Pi**). Toutefois, les mécanismes moléculaires pilotant le transfert de Pi du champignon à la plante hôte sont très peu connus. L'objectif de cette étude est de chercher à établir le rôle d'un transporteur de Pi fongique nommé **HcPT2** car il est un très bon candidat pour fonctionner comme un transporteur d'efflux de Pi dans l'association ectomycorhizienne entre *Pinus pinaster* et le basidiomycète *Hebeloma cylindrosporum*. Pour remplir cet objectif, nous avons comparé la distribution du P dans les racines des plantes non mycorhizées (**NM**) avec celles trouvées dans les ectomycorhizes associées à une souche fongique précédemment transformée avec un vecteur de surexpression, soit ne contenant aucun gène (**Ctrl**) ou notre gène candidat (**OE-PT2**).

Culture des plantes et préparation des échantillons

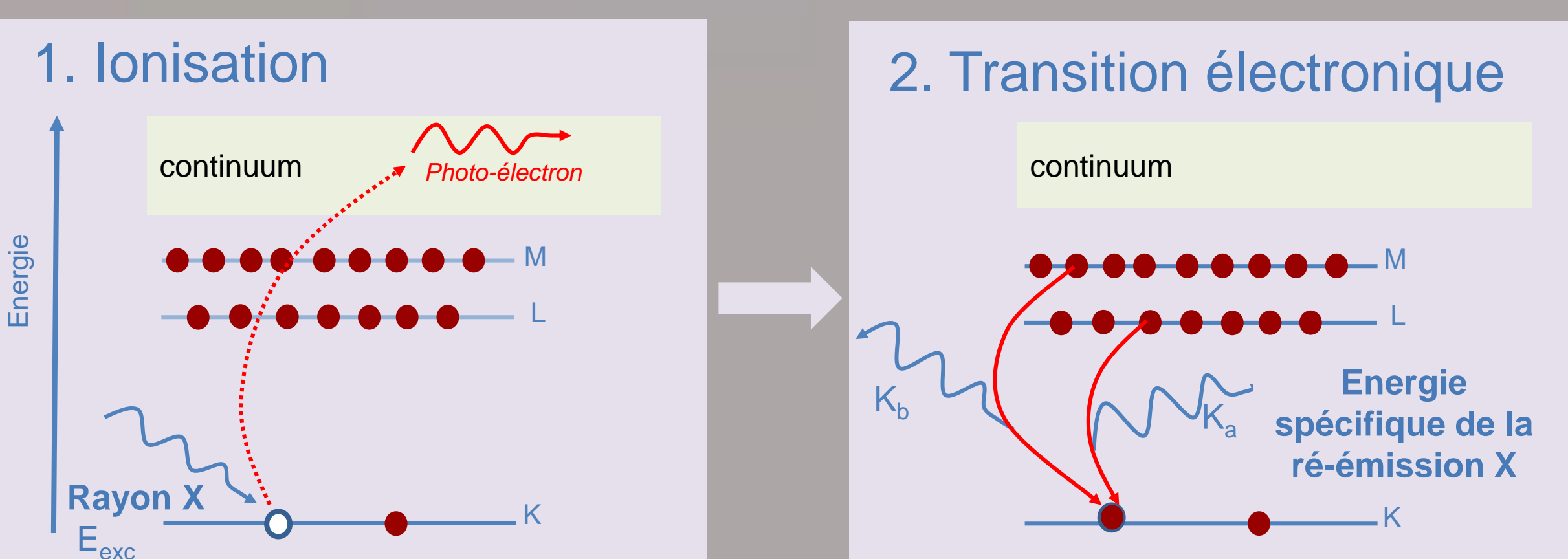
Les plantes sont cultivées en tube pendant 2 mois, inoculées ou non avec des souches fongiques Ctrl ou OE-PT2. Une solution nutritive contenant du nitrate (1 mM) et du Pi (0,1 mM) est régulièrement ajoutée pendant toute la culture. Les plantes sont extraites des tubes et le système racinaire rincé dans l'eau. Les racines courtes sont coupées sous un stéréomicroscope, incorporées dans un cryo protecteur et immédiatement plongées dans l'isopentane refroidi par de l'azote liquide pour fixer les cellules et leur contenu. Des coupes cryo de 20 µm sont préparées à l'aide d'un cryotome et analysées au synchrotron SOLEIL sur la ligne de lumière micro-focalisée LUCIA, équipée d'un cryostat à l'azote liquide.



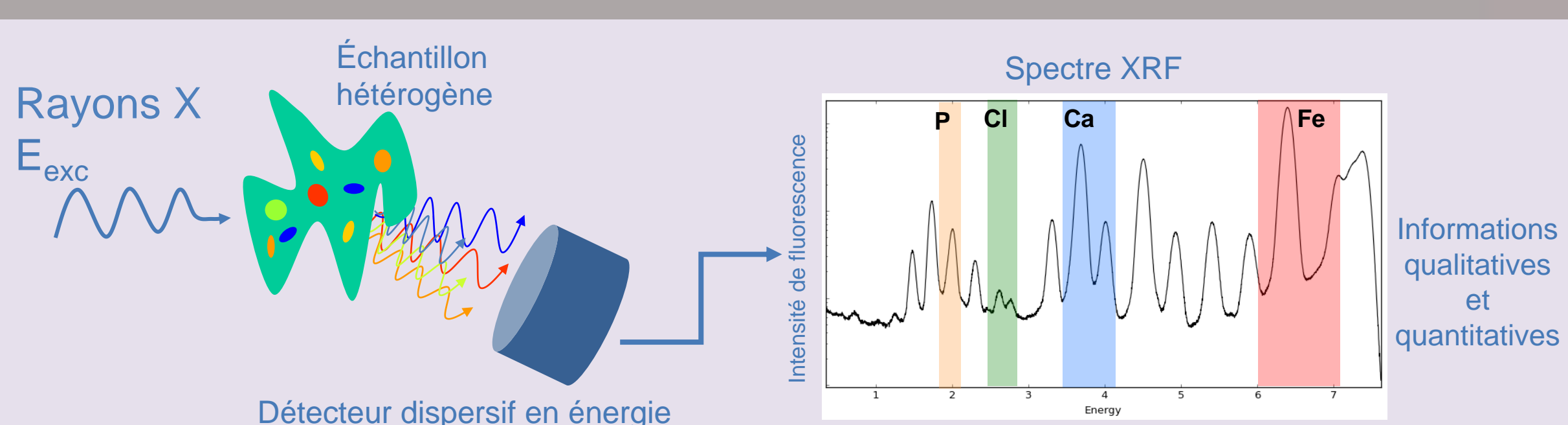
Pin cultivé en tube

Cartographie élémentaire par micro-fluorescence X (µXRF) sur la ligne LUCIA

Principe de la spectrométrie de fluorescence X

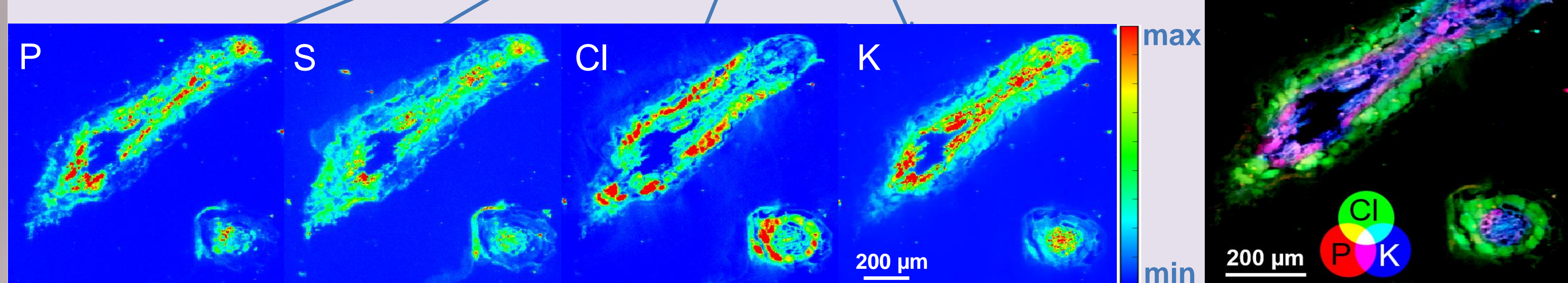
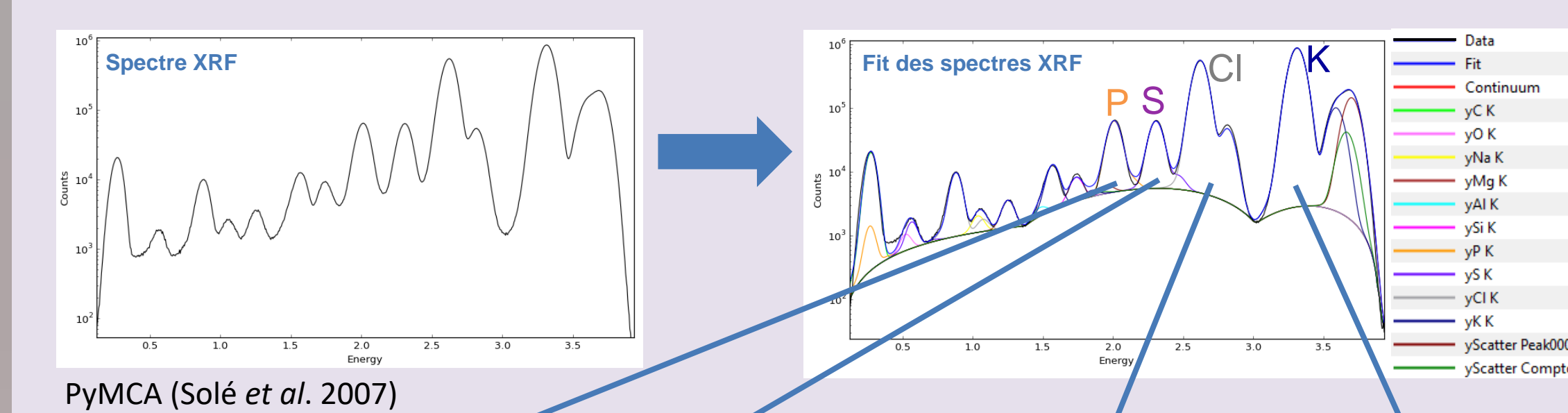


→ Détermination de la composition élémentaire



Cartographie élémentaire

Les échantillons sont déplacés par rapport au faisceau focalisé pour balayer la zone d'intérêt et un spectre XRF est enregistré en chaque pixel de la carte. Les cartes XRF sont enregistrées en utilisant un pixel de 3 x 3 µm² à 3,7 keV pour collecter le signal des éléments K, Cl, S, P, Si, Al et Mg.



Distribution de P et co-localisation avec K, Cl et Mg dans les racines de pin

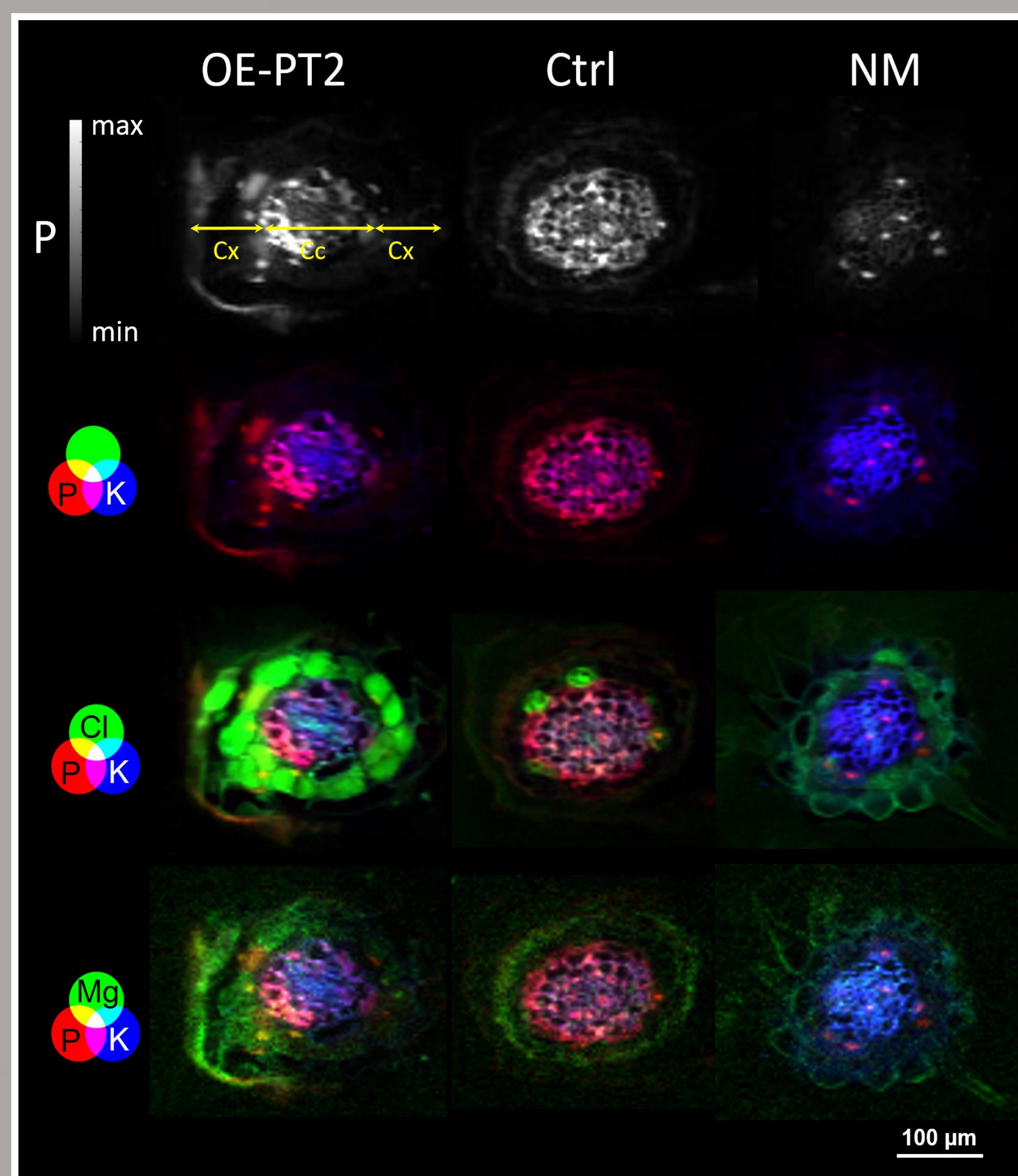


Fig. 1 : Cartes de fluorescence du P et de co-localisation avec K, Cl et Mg

Sur chaque carte élémentaire (Fig. 1) on peut distinguer plusieurs compartiments en fonction de la valeur du pixel : le fond (**BKG**), le cortex (**CX**), cylindre central (**CC**). Pour aller plus loin, nous avons tracé six profils avec ImageJ et extrait les valeurs de fluorescence X correspondant à P et K dans chaque pixel (Fig. 2). Dans les racines non mycorhizées (**NM**), on distingue les valeurs du cytosol et des vacuoles dans le cortex. De façon intéressante, dans ectomycorhizes (**ECM**), on peut aussi distinguer le cytosol du manteau fongique externe (**FS**) et des cellules fongiques appartenant au réseau de Hartig (**HN**).

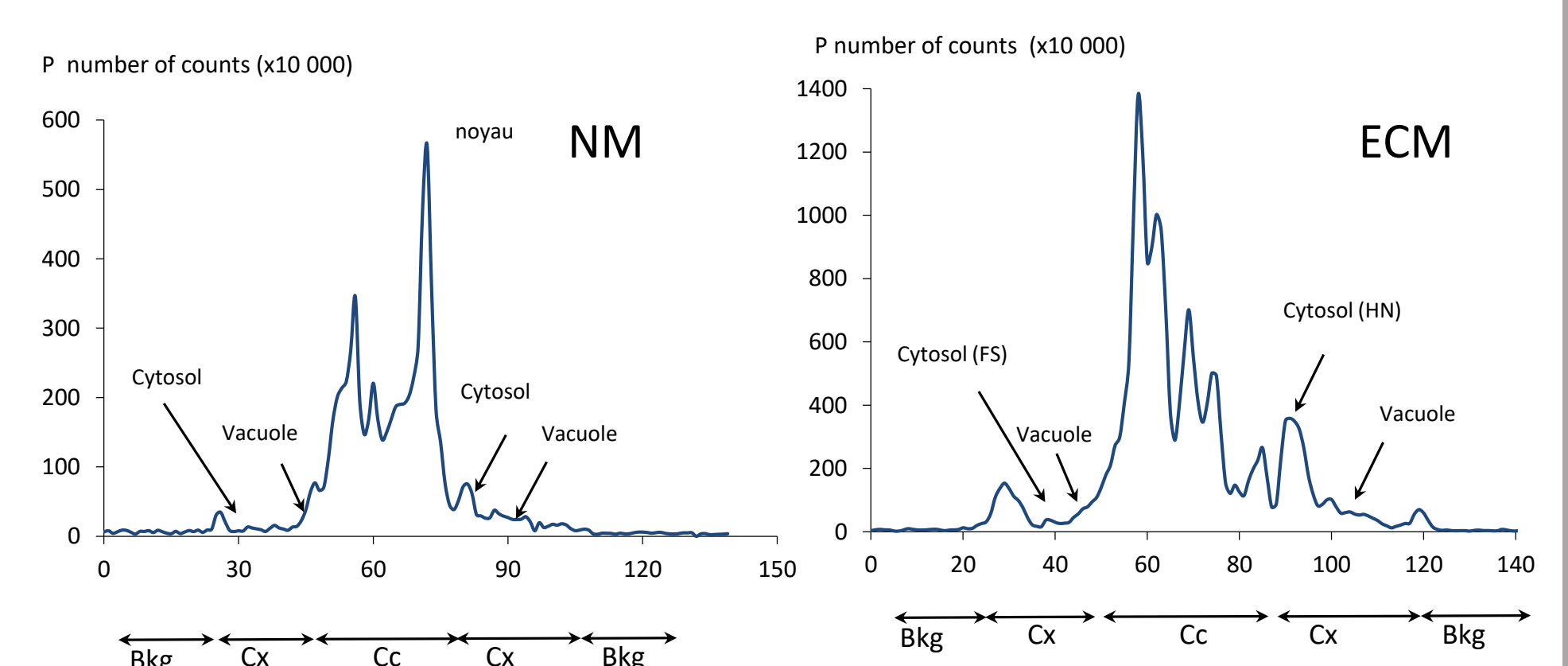


Fig. 2 : Profil du P des cartes XRF

En utilisant une référence (foie bovin NIST), les pourcentages de K et P ont été calculés dans les différentes cellules ou compartiments (Fig. 3).

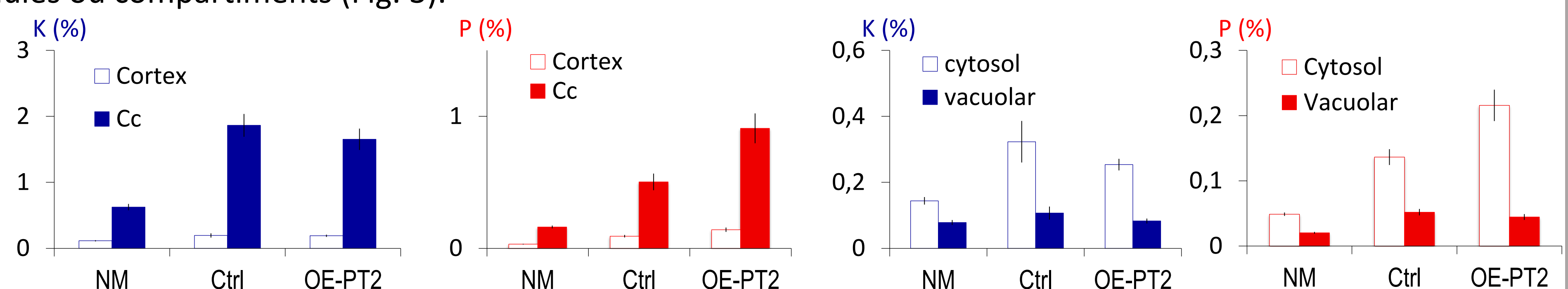


Fig. 3 : Concentration des éléments calculées grâce aux profils K et P des cartes XRF

La présence du champignon augmente toujours la quantité de K et P des cellules de la racine par rapport aux racines NM. De façon remarquable, la surexpression de HcPT2 (OE-PT2) augmente spécifiquement le contenu en P dans le cylindre central et dans le cytosol des cellules corticales des ectomycorhizes. Ces résultats sont en faveur du rôle de HcPT2 dans le mécanisme d'efflux de P à partir des cellules fongiques dans le réseau de Hartig. *In fine*, cet efflux de P augmente la teneur en P dans le xylème vers les parties aériennes.

Conclusion

La cartographie des éléments sur les coupes racinaires nous permet de mieux comprendre les mécanismes biologiques à la base du fonctionnement de la symbiose. Ces premières caractérisations des ectomycorhizes en utilisant la fluorescence X sur synchrotron sont en faveur du rôle central de HcPT2 dans l'efflux de P fongique dans le réseau de Hartig, contribuant à l'augmentation du P dans le xylème et le cylindre central à destination des parties aériennes de la plante.