



HAL
open science

La surexpression du transporteur de phosphate HcPT1.1 chez *Hebeloma cylindrosporum* confirme sa capacité de transfert de P dans les ectomycorhizes

Laurie K Amenc, Adeline Becquer, Carlos Trives-Segura, Sabine Zimmermann, Kevin Garcia, Claude Plassard

► To cite this version:

Laurie K Amenc, Adeline Becquer, Carlos Trives-Segura, Sabine Zimmermann, Kevin Garcia, et al.. La surexpression du transporteur de phosphate HcPT1.1 chez *Hebeloma cylindrosporum* confirme sa capacité de transfert de P dans les ectomycorhizes. 12ème JST, Nov 2023, Montpellier, France. hal-04485241

HAL Id: hal-04485241

<https://hal.inrae.fr/hal-04485241>

Submitted on 1 Mar 2024

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.

LA SUREXPRESSION DU TRANSPORTEUR DE PHOSPHATE HcPT1.1 CHEZ *HEBELOMA CYLINDROSPORUM* CONFIRME SA CAPACITÉ DE TRANSFERT DE P DANS LES ECTOMYCORHIZES

Laurie Amenc^a, Adeline Becquer^a, Carlos Trives-Segura^a, Sabine D. Zimmermann^b, Kevin Garcia^c, Claude Plassard^a

^aEco&Sols, ^bIPSiM, Montpellier - ^cDpt of Crop and Soil Sciences, North Carolina State Univ., USA

*laurie.amenc@inrae.fr

INTRODUCTION

On sait que les champignons ectomycorhiziens associés aux espèces ligneuses les aident à acquérir du phosphore (P). Cependant, les mécanismes moléculaires responsables du transfert de P du champignon à la plante dans les ectomycorhizes (ECM) sont encore mal compris. Nous avons montré précédemment que le champignon ectomycorhizien *Hebeloma cylindrosporum* possède trois symporteurs H⁺:Pi [1] mais que 1) seuls deux d'entre eux (HcPT1.1 et HcPT2) sont exprimés dans les ectomycorhizes formées avec le Pin maritime (*Pinus pinaster*) [2] et 2) que HcPT2 est un excellent candidat pour assurer le transfert de P dans les ectomycorhizes [1]. Cependant, PT2 est absent du génome de certaines espèces fongiques ECM, contrairement à PT1 qui est toujours présent [3], interrogeant sur le rôle possible de PT1 dans le transfert de P dans les ectomycorhizes.

Dans ce travail, nous avons surexprimé artificiellement HcPT1.1 par agrotransformation fongique et nous avons quantifié les effets de la surexpression sur 1/ la distribution des protéines HcPT1.1 et HcPT2 dans les ectomycorhizes par immunolocalisation, après avoir vérifié la spécificité des anticorps sur levures, 2/ l'accumulation de P par les plantes et 3/ l'efflux de ³²P dans un système expérimental imitant les hyphes du réseau de Hartig, compartiment interne des ECMs.

MATÉRIELS & MÉTHODES

Quatre souches monocaryotiques de *H. cylindrosporum* ont été utilisées : la souche sauvage h7, la souche transformée par le vecteur vide Ctl et 2 souches surexprimant HcPT1.1 OE PT1-9 et OE PT1-10. La transformation a été effectuée via *Agrobacterium tumefaciens*. Chaque souche a ensuite été associée au Pin maritime (*Pinus pinaster*) en tubes pendant 2 mois puis les plantes mycorhizées (M) ou non (NM) ont été cultivées 70 jours en boîte de Petri avec du sol soit très pauvre en P ou enrichi en P (Fig. 1). A la récolte des plantes pour mesurer leur P total, env. 20 ectomycorhizes ont été prélevées, fixées et incluses en paraffine. Des coupes de 7 µm ont été utilisées pour immunolocaliser HcPT1.1 et HcPT2. La présence des transporteurs sur les coupes a été quantifiée par ImageJ. La spécificité des anticorps anti-HcPT1.1 et HcPT2 a été vérifiée en exprimant chaque gène dans la levure EY917 et en les immunolocalisant. L'efflux de ³²P à partir de mycelia préalablement marqués a été quantifié dans un milieu d'interaction mimant l'espace apoplasmique du réseau de Hartig des ectomycorhizes [4].



Fig. 1. Pins NM et M en tubes puis sur sol

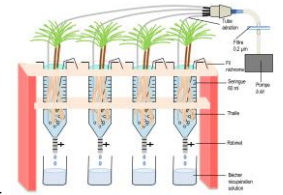


Fig. 2. Dispositif suivi efflux ³²P

RÉSULTATS

Spécificité des anticorps

Les images obtenues après application des 2 anticorps dirigés contre HcPT1.1 et HcPT2 sur la levure EY917 non transformée ou transformée par chaque gène démontre 1/ que les anticorps sont spécifiques et 2/ que les deux transporteurs sont membranaires (Fig. 3). De plus, l'application des 2 anticorps sur le pin NM ne montre pas de marquage (Fig. 4A,D), confirmant leur spécificité.

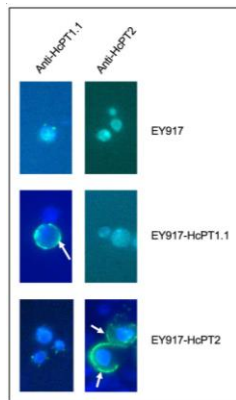


Fig. 3. Immunolocalisation (flèche blanche) des 2 transporteurs dans la levure

Distribution des transporteurs dans les ECM

La surexpression de HcPT1.1 (OE PT1-10) induit la présence du transporteur sur l'ensemble de l'ECM (Fig. 4B,C), en particulier dans le réseau de Hartig, zone d'échange plante/champignon. Elle induit aussi une très faible présence de HcPT2 dans le réseau de Hartig, alors qu'il est majoritaire chez h7 (Fig. 4E,F).

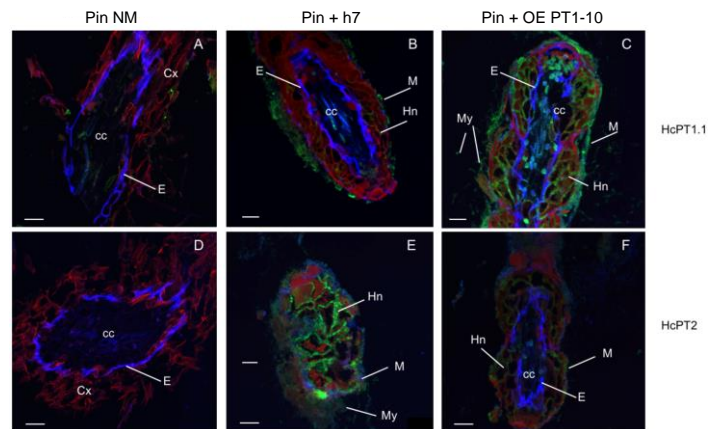


Fig. 4. Immunolocalisation (en vert) des 2 transporteurs fongiques sur racines NM ou M. cc cylindre central, Cx cortex, E endoderme, Hn réseau de Hartig, M manteau, My mycelium externe.

Nutrition P des Pins et efflux de ³²P

Toutes les souches fongiques améliorent la nutrition P de la plante (Fig. 5), même pour les surexpresseurs de HcPT1.1. La mesure des efflux de ³²P des mycelia confirme que la présence de la plante augmente fortement ces efflux qui sont plus importants pour les souches surexprimant HcPT1.1 (Fig. 6).

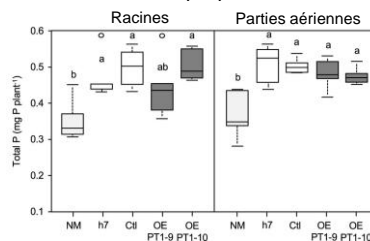


Fig. 5. Accumulation de P total des Pins en sol +P

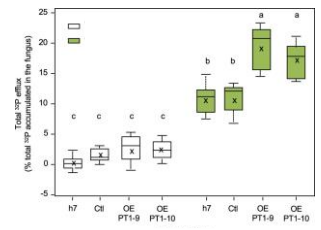


Fig. 6. Efflux de ³²P des mycelias

CONCLUSION

Ces résultats suggèrent que dans le réseau de Hartig des ectomycorhizes de pin maritime, le transporteur HcPT1.1 peut assurer le même rôle que HcPT2 dans le transfert de P des cellules fongiques aux cellules de la plante. **Ainsi, une redondance fonctionnelle entre les symporteurs H⁺:Pi de type PT1/PT2 pourrait exister pour assurer le transfert de P aux racines de la plante-hôte.**

Références

- [1] Becquer A, et al. (2018), *New Phytologist*, 220, 1185–1199.
- [2] Amenc L, et al. (2023), *Frontiers in Plant Sciences*, 14, 1135483.
- [3] Plassard et al. (2019), *Trends in Plant Science*, 24, 794–801.
- [4] Tores-Aquino et al. (2017). *Plant Cell Environment*, 40(2), 190-202.