



**HAL**  
open science

## Diversité des champignons mycorrhizogènes à arbuscules (Glomeromycota) dans des systèmes agricoles analysée par pyroséquençage

Herbert Stockinger, Marie-Lara Bouffaud, Marine Peyret Guzzon, Diederik van Tuinen, Dirk Redecker

### ► To cite this version:

Herbert Stockinger, Marie-Lara Bouffaud, Marine Peyret Guzzon, Diederik van Tuinen, Dirk Redecker. Diversité des champignons mycorrhizogènes à arbuscules (Glomeromycota) dans des systèmes agricoles analysée par pyroséquençage. 3. Journées Francophones Mycorhizes, Sep 2012, Nancy, France. hal-02746667

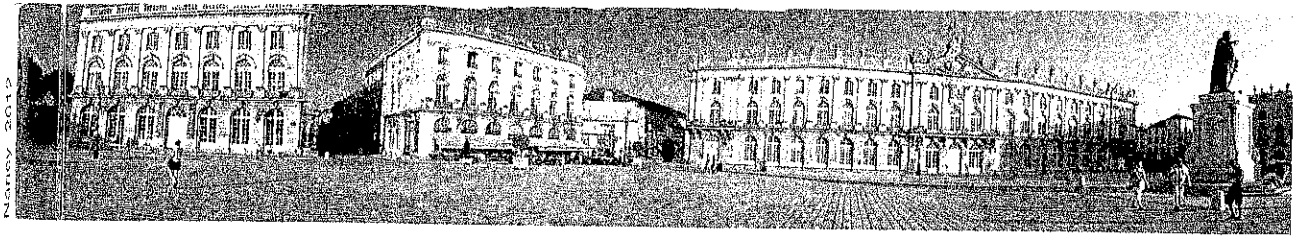
**HAL Id: hal-02746667**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02746667>**

Submitted on 3 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.

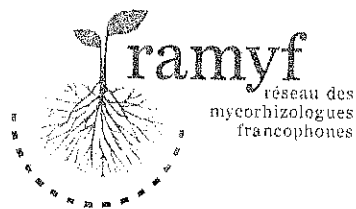
L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



PROGRAMME ET RÉSUMÉS

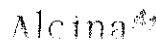
JOURNÉES FRANCOPHONES MYCORHIZES  
TROISIÈME ÉDITION

5 – 7 Septembre 2012  
Nancy



3, REDEUER

CR



**Mercredi 5 Septembre 2012**

**Session 1 : Développement et fonctionnement de la symbiose**  
(Chaires : Pierre-Emmanuel Courty & Annick Brun)

14h00 – 14h40	Andrea Genre : Fungal accommodation in arbuscular mycorrhizas : presymbiotic signalling and interface compartment biogenesis
14h40 – 15h00	Yohann Daguerre : Caractérisation fonctionnelle de petites protéines secrétées (MISSPs) par le champignon ectomycorrhizien <i>Laccaria bicolor</i> lors du développement symbiotique
15h00 – 15h20	Alice Vayssières : Manipulation de l'architecture racinaire du peuplier en réponse au champignon ECM <i>Laccaria bicolor</i> : contrôle de l'auxine
15h20 – 15h40	Sally Koegel : SbAMT3;1 et SbAMT4 : deux transporteurs d'ammonium du <i>Sorgho</i> indults localement lors de la mycorrhization

15h40 – 16h10	Pause
16h10 – 16h30	Hesham Aslan Attar : Relationship between phosphorus status and nitrogen fixation by common beans ( <i>Phaseolus vulgaris</i> L.) under drip irrigation
16h30 – 16h50	Kevin Garcia : Localisation et analyse des systèmes de transport fongiques impliqués dans le transfert du potassium au sein du modèle ectomycorrhizien <i>Hebeloma cylindrosporum</i> - <i>Pinus pinaster</i> .
16h50 – 17h10	Adeline Becquer : Recherche des mécanismes moléculaires responsables des efflux de phosphate dans la symbiose ectomycorrhizienne
17h10 – 17h30	Gilles Gay : Gènes fongiques jouant un rôle clé dans la différenciation des ectomycorrhizes

18h30 – 20h00 Visite libre du Jardin Botanique du Montet  
20h00 Cocktail de bienvenue au Jardin Botanique

**Jeudi 6 Septembre 2012 (matin)**

**Session 2 : Biodiversité, écologie fonctionnelle et génétique des populations** (Chaires : Dirk Redecker & Marc Buée)

9h00 – 9h40	Annegret Kohler : The 25 mycorrhizal genome project: Towards the understanding of mycorrhiza development and functioning by using genomic and transcriptomic approaches
9h40 – 10h00	Thibaut Payen : Détection de SNPs et d'indels par re-séquençage d'isolats de truffes noirs du Périgord
10h00 – 10h20	François Rineau : Le champignon mycorrhizien <i>P. involutus</i> modifie la matière organique par un mécanisme similaire à celui de la pourriture brune
10h20 – 10h40	Alessandra Pontiroli : Recherche d'indicateurs microbiens associés à la production de <i>Tuber melanosporum</i> par une approche de génomique environnementale

10h40 – 11h10	Pause
11h10 – 11h30	Marie-Lara Bouffaud : Diversité des champignons mycorrhizogènes à arbuscules (Glomeromycota) dans des systèmes agricoles analysée par pyroséquençage.
11h30 – 11h50	Mélanie Roy : Coévolution des aulnes et de leurs champignons mycorrhiziens : une histoire de couples et de communautés
11h50 – 12h10	Helvynne Michaëlla Ebenye : Cortège ectomycorrhizien de <i>Gilbertiodendron deweyrei</i> dans une forêt tropicale humide du Dja au sud-est du Cameroun
12h10 – 12h30	Simon Gensous : Les mycorrhizes à arbuscules des sols ultramafiques de N.-Calédonie : Particularités et intérêt
12h30 – 12h50	Amadou Dieng : Impact de la monoculture de l'agrocarburant <i>Jatropha curcas</i> L. au Sénégal sur la croissance d'espèces locales et leur statut mycorrhizien

12h50 – 14h20 Buffet – Session Posters

**Jeudi 6 Septembre 2012 (après-midi)**

**Session 3 : Stress biotiques et abiotiques**  
(Chaires : Corinne Leyval & Damien Blaudez)

14h20 – 14h40	Philippe Binet : Impact d'une élévation de la température sur les interactions entre <i>Sphagnum fallax</i> et mycorrhizes éricoïdes dans une tourbière à sphaignes
14h40 – 15h00	Imene Boudiaf : Comportement du chêne-llège et son cortège ectomycorrhizien dans un écosystème envahi par un arbre exotique
15h00 – 15h20	Driss Bouhraoua : Effet des Rhizobactéries sur la mycorrhization arbusculaire de l'arachide ( <i>Arachis hypogaea</i> L.)
15h20 – 15h40	Thierry Beguiristain : Suivi à long terme de la colonisation mycorrhizienne de plantes provenant d'un site multicontaminé
15h40 – 16h00	Marc Ducousso : L'inoculation par <i>Pisolithus albus</i> améliore la tolérance au nickel d' <i>Acacia spirorbis</i> et d' <i>Eucalyptus globulus</i> cultivés sur substrat ultrabasique

16h00 – 16h30	Pause
16h30 – 16h50	Sonia Labidi : Apport de la phytostabilisation assistée dans la viabilité microbienne d'un sol contaminé par des éléments traces métalliques
16h50 – 17h10	Laurence Lacercat : Characterization of ZIP and CDF genes involved in the uptake and sequestration of trace elements in the ectomycorrhizal fungus <i>Laccaria bicolor</i>
17h10 – 17h30	Maryline Calonne : Les HAPs inhibent le développement des CMA: mécanismes biochimiques et moléculaires affectés?
17h30 – 17h50	Clarisse Majorel : Réponse adaptative du transcriptome d'isolats tolérants et sensibles au nickel de <i>Pisolithus albus</i> isolés de sols ultramafiques

20h00 Dîner de gala, Nancy centre

**Vendredi 7 Septembre 2012**

**Session 4 : Applications, transfert**

(Chaires : Stéphane Declercq & Claude Murat)

9h10 – 9h30	Robin Duponnols : Des plantes facilitatrices vectrices de propagation des champignons mycorrhiziens : des outils pour optimiser durablement les opérations de réhabilitation en milieu méditerranéen et tropical
9h30 – 9h50	Emilia Akroume : Compétition intraspécifique entre individus de truffe noire du Périgord sous deux noisetiers producteurs: importance des gènes de compatibilité sexuelle
9h50 – 10h10	Ismahen Lalaymia : Préservation à ultra-basse température des champignons mycorrhiziens à arbuscule cultivés in vitro par encapsulation-déshydratation
10h10 – 10h30	Cosette Abdallah : Protéome membranaire en réponse à la symbiose mycorrhizienne à arbuscules par GeLC-MS/MS

10h30 – 11h00	Pause
11h00 – 11h45	Clôture et présentations des projets d'organisation des futures JFM 2014
12h00 – 19h00	Visite de la Maison de la Truffe et de la Trufficulture à Boncourt-sur-Meuse



6, rue du Doyen Marcel Roubault - 54500 Vandœuvre les Nancy  
Tél : +33(0)3 83 68 53 20 - Mel : dlogist-repro-montet@univ-lorraine.fr

Direction de la Logistique  
Atelier Central de Reprographie  
Plateforme du Montet

## *Comité d'Organisation*

*Le Comité d'organisation est composé des personnes suivantes :*

- Thierry BEGUIRISTAIN (CNRS - UMR LIMOS)
- Damien BLAUDEZ (UL - UMR IAM)
- Annick BRUN-JACOB (UL - UMR IAM)
- Marc BUEE (INRA - UMR IAM)
- Corinne LEYVAL (CNRS - UMR LIMOS)
- Claude MURAT (INRA - UMR IAM)
- Agnès DIDIER (INRA-UMR IAM)

*Membres extérieurs du Comité scientifique (sélection des communications) :*

- Stephane DECLERCK (Université de Louvain)
- Dirk REDECKER (INRA-Dijon)
- Pierre-Emmanuel COURTY (Université de Bâle)
- Annegret KOHLER (INRA-Nancy)

*Avec le soutien des équipes de recherche des UMR IAM et LIMOS*



UNIVERSITÉ  
DE LORRAINE



## Partenaires et sponsors

Le Comité d'Organisation des Troisièmes Journées Francophones Mycorhizes souhaite vivement remercier l'ensemble de ses partenaires, sans lesquels cet événement n'aurait pu avoir lieu.



Alcina 



S1.4

### ***SbAMT3;1* et *SbAMT4* : deux transporteurs d'ammonium du Sorgho induits localement lors de la mycorhization**

Sally Koegel<sup>(1)</sup>, Nassima Ait Lahmidi<sup>(2)</sup>, Christine Arnould<sup>(2)</sup>, Thomas Boller<sup>(1)</sup>, Daniel Wipf<sup>(2)</sup>, Andres Wiemken<sup>(1)</sup> and Pierre-Emmanuel Courty<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Zurich-Basel Plant Science Center, Botanical Institute, University of Basel, Hebelstrasse 14056 Basel

<sup>(2)</sup> UMR INRA 1347 / Agrosup / U Bourgogne Agroecology, ERL IPM 6300 CNRS, 17 Rue Sully - BP 86510, 21065 Dijon

Le sorgho commun (*Sorghum bicolor*) est une plante herbacée annuelle de la famille des Poaceae (Graminées), originaire du nord-est de l'Afrique tropicale. Le sorgho, cinquième céréale mondiale, après le maïs, le riz, le blé et l'orge, est un aliment de base important, surtout dans les régions tropicales semi-arides d'Afrique et d'Asie. Il représente également un aliment pour le bétail, tant en grain qu'en fourrage, dans les Amériques et en Australie. D'un point de vue écologique, le sorgho est une plante particulièrement adaptée à la sécheresse (plante en C4) ainsi qu'aux sols pauvres. En champ, le sorgho est associé à des champignons mycorhiziens à arbuscules qui participent à la mobilisation, à l'assimilation et au transfert d'éléments azotés du sol à la plante. Le séquençage du génome du sorgho (Paterson *et al.*, 2009) offre l'opportunité de caractériser les gènes impliqués dans ces fonctions d'assimilation et de transfert d'éléments azotés. Des études récentes suggèrent que l'azote serait transféré du mycélium à la plante sous forme d'ammonium par des transporteurs spécifiques au niveau de la membrane periarbusculaire (Tian *et al.*, 2010). Dans cette étude, nous avons décrit les huit transporteurs d'ammonium du Sorgho et leur expression dans les différents tissus de la plante en réponse à deux champignons mycorhiziens (*Glomus mosseae* et *Glomus intraradices*) et à différentes sources d'azote. Des analyses par RT-qPCR ont montré que deux transporteurs (*SbAMT3;1* et *SbAMT4*) sont induits par la mycorhization. Leur niveau d'expression a été mesuré dans des cellules contenant des arbuscules après microdissection laser ainsi que dans des racines de plantes où le système racinaire a été séparé en deux et placé dans des conditions azotées et de mycorhization différentes. Ces analyses ont montré une expression locale et non-systémique de *SbAMT3;1* et *SbAMT4* dans les racines mycorhizées. La protéine *SbAMT3;1* a été localisée au niveau des arbuscules par immunolocalisation et sa caractérisation fonctionnelle est en cours. Nous avons également caractérisé des homologues de *SbAMT3;1* et de *SbAMT4* dans les génomes d'autres céréales. Nous avons montré que ces gènes sont également induits par la mycorhization.

Paterson AH, Bowers JE, Bruggmann R, Dubchak I, Grimwood J, Gundlach H, Haberer G, Hellsten U, Mitros T, Poliakov A, Schmutz J, Spannagl M, Tang HB, Wang XY, Wicker T, Bharti AK, Chapman J, Feltus FA, Gowik U, Grigoriev IV, Lyons E, Maher CA, Martis M, Narechania A, Otiillar RP, Penning BW, Salamov AA, Wang Y, Zhang LF, Carpita NC, Freeling M, Gingle AR, Hash CT, Keller B, Klein P, Kresovich S, McCann MC, Ming R, Peterson DG, Mehboob ur R, Ware D, Westhoff P, Mayer KFX, Messing J, Rokhsar DS. 2009. The sorghum bicolor genome and the diversification of grasses. *Nature* 457: 551-556.

Tian CJ, Kasiborski B, Koul R, Lammers PJ, Bucking H, Shachar-Hill Y. 2010. Regulation of the nitrogen transfer pathway in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Gene characterization and the coordination of expression with nitrogen flux. *Plant Physiology* 153: 1175-1187.

Mots-clés : Transporteurs d'ammonium, céréales, microdissection, immunolocalisation

S2.5

**Diversité des champignons mycorrhizogènes à arbuscules (*Glomeromycota*) dans des systèmes agricoles analysée par pyroséquençage**

Stockinger H, Bouffaud M-L, Peyret-Guzzon M, van Tuinen D, Redecker D

UMR 1347 Agroécologie, AgroSup/INRA/uB - Pôle Interactions Plantes-Microorganismes - ERL CNRS 6300  
BP 86510, 17 rue Sully, 21065 Dijon cedex, France

Les champignons mycorrhizogènes à arbuscules (CMA) apportent des fonctions écologiques essentielles dans les écosystèmes naturels et anthropisés. Généralement, les activités humaines comme l'agriculture semblent avoir un effet négatif sur la diversité des espèces de CMA, entraînant une perte possible de fonctions écologiques. Les nouvelles technologies de séquençage permettent maintenant d'évaluer la diversité de ces CMA avec plus de profondeur et sur une échelle beaucoup plus grande que précédemment. Plusieurs études en cours seront présentées pour aborder la question de la diversité des CMA dans les systèmes agricoles, en analysant l'effet du labour sur la diversité des CMA dans un champ de maïs et l'influence de la perturbation et de la fertilisation dans une prairie temporaire. Des gènes ribosomiques ont été utilisés, comme les ITS (*Internal Transcribed Spacers*, récemment identifiés comme marqueurs standards pour les champignons, Schoch *et al.* 2012), ainsi qu'une région du gène *rpb1* qui est utilisé pour la première fois pour l'étude de la diversité des *Glomeromycota* au champ.

Schoch C. L., Seifert K. A., Huhndorf S., Robert V., Spouge J. L., Levesque C. A., Chen W. and Fungal Barcoding Consortium. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for *Fungi*. PNAS, 109: 6241-6246.

*Mots-clés* : Diversité des mycorhizes à arbuscules, Pyroséquençage, ITS, *rpb1*, agriculture.

S2.6

Coévo  
de cou

Mélanie  
Pierre-A

<sup>(1)</sup> Laborat

TOULOU

<sup>(2)</sup> UFR de

94010 Cré

<sup>(3)</sup> Laborat

Cedex, FR

La spéc

ectomyc

rassem

différen

Rochet

commu

sites dif

plus ou

Kenned

étudiés

spécifiq

d'assoc

géograp

biologic

défense

préférer

commu

plutôt i

compar

différen

décrites

champi

représei

différen

taxons :

un asse

différen

conserv

coévolu

hôtes-sy

Kennedy PC

hypothesis ar

Kennedy PC

*Ecology* 3 : 1

Molina R. J

Moreno P-A

sequences wi

Rochet J, M

Lactarius (B)

Tedersoo L,

determinants

Mots-clés : e

S4.4

**Protéome membranaire en réponse à la symbiose mycorhizienne à arbuscules par GeLC-MS/MS.**Cosette Abdallah<sup>1,2</sup>, Jenny Renaut<sup>1</sup>, Benoît Valot<sup>3</sup>, Michel Zivy<sup>3</sup>, Ghislaine Recorbet<sup>2</sup>, Daniel Wipf<sup>2</sup>, Eliane Dumas-Gaudot<sup>2</sup>.<sup>1</sup>Centre de Recherche Public Gabriel Lippmann, Department of Environment and Agrobiotechnologies (EVA), Proteomics Platform, L-4422, Belvaux, Luxembourg, <sup>2</sup>UMR 1088 Plante-Microbe-Environnement (PME), INRA, BP 86510, 21065 Dijon Cedex, France, <sup>3</sup>Plateforme d'Analyse Protéomique de Paris Sud-Ouest (PAPPSO), Ferme du Moulon, 91190 Gif sur Yvette, France.

La mise en place de la symbiose mycorhizienne à arbuscules (SMA) est caractérisée par des remaniements membranaires qui jouent un rôle crucial dans le fonctionnement de la SMA à la fois chez le microsymbiote et l'hôte végétal. L'électrophorèse bidimensionnelle (2-DE) a longtemps été l'unique méthode d'analyse du protéome. Malgré sa puissance, cette technique présente un certain nombre de limites pour la détection de protéines avec un point isoélectrique ou un poids moléculaire extrême. Elle est donc mal adaptée à l'analyse des protéines membranaires. Afin d'identifier les modifications du protéome membranaire des racines de *Medicago truncatula* en réponse à la colonisation par *Rhizophagus irregularis*, la méthode « label-free » GeLC-MS/MS est adoptée. Après enrichissement en microsomes, la séparation des protéines en SDS-PAGE est suivie de la séparation par chromatographie liquide des peptides obtenus par la digestion dans le gel de différentes bandes protéiques. La quantification des protéines sans marquage est effectuée à l'aide du logiciel MassChroQ qui consiste à aligner les chromatogrammes et calculer l'aire sous le pic du signal en spectrométrie de masse. Notre approche a permis l'identification de plus de 1000 protéines dont uniquement 16 ont été expérimentalement montrées pour être localisées dans le cytosol, reflétant un enrichissement très important en protéines membranaires. Après analyse statistique, 52 protéines se révèlent différemment exprimées en réponse à la SMA, avec 29 protéines sur accumulées et 23 sous accumulées comparativement aux racines témoin. Les rôles de ces protéines dans la SMA seront discutés. Quantification par spectrométrie de masse



## Identification de transporteurs de sucres marqueurs de la mycorhize à Arbuscules

N. Ait Lahmidi<sup>1\*</sup>, L. Casieri<sup>1</sup>, L. Bonneau<sup>1</sup>, G. Lingua<sup>2</sup>, G. Berta<sup>2</sup>, D. Wipf<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> UMR Agroécologie/INRA 1347/Agrosup/Université de Bourgogne, Pole Interaction Plant Micro-organisms - ERL6300 CNRS, 17 rue de Sully BP 86510, 21065 Dijon, France

<sup>2</sup> Università degli studi del Piemonte Orientale Amedeo Avogadro, Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica, Alessandria

Ce poster présente un projet de thèse mené en cotutelle entre l'UMR Agroécologie de Dijon et le Dipartimento di Scienze e Innovazione Tecnologica d'Alessandria (Italie). Le projet comprend (i) l'identification de transporteurs de sucres régulés à l'interface symbiotique entre plante et champignon mycorhizien (*Rhizophagus irregularis*) (ii) une analyse fonctionnelle des transporteurs déterminants les flux de sucre entre les deux partenaires et (iii) la compréhension du rôle des gènes candidats dans le fonctionnement de la symbiose. Des approches complémentaires seront développées basée sur (i) l'analyse des interfaces plante/champignon en associant bioinformatique, transcriptomique et microscopie à dissection-laser, (ii) la caractérisation fonctionnelle des transporteurs d'intérêt et (iii) l'utilisation des techniques d'imagerie cellulaire afin de préciser le profil spatio-temporel de l'expression des gènes candidats et des protéines impliquées via des techniques d'analyse in situ et de protéines de fusion.

## La microdissection laser : une technique d'analyse du profil d'expression génique et protéique des types cellulaires spécifiques de la symbiose mycorrhizienne à arbuscules

Christine Arnould<sup>1</sup>, Sally Koegel<sup>2</sup>, Lucie Geay<sup>1</sup>, Michael Kälin<sup>2</sup>, Céline Henri<sup>3</sup>, Daniel Wipf<sup>1</sup>, Eliane Dumas-Gaudot<sup>1</sup>, Pierre-Emmanuel Courty<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UMR Agroecology INRA 1347 / Agrosup / U Bourgogne, Pôle IPM ERL 6300 CNRS, 17 Rue Sully - BP 86510, 21065 Dijon

<sup>2</sup>Zurich-Basel Plant Science Center, Botanical Institute, University of Basel, Hebelstrasse 1, 4056 Basel

<sup>3</sup>UMR MICALIS, PAPPSO Bat 526, Domaine de Vilvert, Jouy en Josas, 78 352

La capture de cellules par microdissection laser permet de récolter une population homogène de cellules provenant d'un même tissu. Dans l'étude de la symbiose mycorrhizienne à arbuscule, cette technique permet de comparer différentes populations cellulaires telles que les cellules contenant des arbuscules, les cellules encore non-colonisées ou les cellules de l'ectoderme. Les premières analyses afin d'étudier les modifications des profils d'expression de gènes de plantes ou de champignons ont été menées chez le lotus (*Lotus japonicus*), la tomate (*Lycopersicon esculentum*) et la luzerne (*Medicago truncatula*) (Balestrini *et al.*, 2007 ; Fiorilli *et al.*, 2009 ; Gomez *et al.*, 2009). Concernant les profils d'expression protéique, une seule étude sur des cellules contenant des arbuscules a été menée chez *M. truncatula* (Gaude *et al.*, 2012). Toutes ces études ont été conduites sur des plateformes de microdissection laser différentes avec des préparations tissulaires différentes ce qui limite la comparaison des résultats. Notre étude porte sur la mise en place d'un protocole de routine sur trois plantes modèles utilisées dans l'étude de la symbiose mycorrhizienne à arbuscules : une plante pérenne (*Populus trichocarpa*, le peuplier), une plante fourragère (*M. truncatula*, la luzerne) et une céréale (*Sorghum bicolor*, le sorgho), et ce pour une plateforme de microdissection laser de type Arcturus. Toutes ces plantes sont associées avec le même champignon, *Rhizophagus irregularis*. Nos résultats montrent que la procédure spécifique associée à l'étude de l'expression des gènes est répétable pour chaque plante et que la qualité et la quantité des ARNs extraits permettent d'étudier les changements des profils d'expression géniques. Les résultats préliminaires obtenus sur des profils protéiques de *M. truncatula* révèlent des extraits protéiques de bonne qualité, contenant des protéines membranaires, mais de faible concentration (après analyse par spectrométrie de masse), ce qui nécessite la poursuite des améliorations technologiques pour pouvoir identifier des protéines reliées à la symbiose mycorrhizienne à arbuscule.

Balestrini R, Gómez-Ariza J, Lanfranco L, Bonfante P. 2007. Laser microdissection reveals that transcripts for five plant and one fungal phosphate transporter genes are contemporaneously present in arbusculated Cells, *Molecular Plant-Microbe Interactions* 20, 1055-1062.

Gomez SK, Javot H, Deewatthanawong P, Torres-Jerez I, Tang Y, Blancaflor EB, Udvardi MK, Harrison MJ. 2009. *Medicago truncatula* and *Glomus intraradices* gene expression in cortical cells harboring arbuscules in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *BMC Plant Biology* 9, 10.

Fiorilli V, Catoni M, Miozzi L, Novero M, Accotto GP, Lanfranco L. 2009. Global and cell-type gene expression profiles in tomato plants colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist* 184, 975-987.

Gaude N, Schulze WX, Franken P, Krajinski F. 2012. Cell type-specific protein and transcription profiles implicate periarbuscular membrane synthesis as an important carbon sink in the mycorrhizal symbiosis. *Plant Signaling and Behaviour* 7, 461-464.

## Caractérisation de la réponse au phosphate du mutant hypermycorrhizien B9 de *Medicago truncatula*

D. Morandi<sup>(1)</sup>, L. Bonneau<sup>(1)</sup>, S. Potin<sup>(1)</sup>, S. Balzergue<sup>(2)</sup>, D. van Tuinen<sup>(1)</sup> et H.N. Truong<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>UMR Agroécologie INRA 1347/AgroSup/Université de Bourgogne, Pôle Interactions Plantes-Microorganismes ERL CNRS 6300, INRA 17 rue Sully BP 86510 21065 Dijon Cedex France

<sup>(2)</sup>Unité de Recherche en Génétique Végétale (URGV), UMR INRA 1165 – Université d'Evry Val d'Essonne - ERL CNRS 8196, 2 rue G. Crémieux, CP 5708, F-91057 Evry Cedex, France

La symbiose mycorrhizienne à arbuscules (MA) permet à la plante d'acquérir des nutriments (P, N, S...) en échange de la fourniture de carbone au champignon. Il est depuis longtemps connu que le phosphate (Pi) est un élément clé contrôlant cette symbiose qui ne se met en place que lorsque le Pi est limitant dans le milieu extérieur. Le mutant hypermycorrhizien B9, récemment identifié après mutagenèse EMS effectuée sur la lignée A17 de *Medicago truncatula*, présente un développement nettement plus faible que le génotype sauvage. En particulier ses racines ont une faible croissance avec des ramifications latérales courtes. Il présente une teneur racinaire beaucoup plus forte de l'isoflavonoïde coumestrol et contient, en outre, une forme malonyl glycosylée de cet isoflavonoïde, absente chez le type sauvage (Morandi et al. 2009). Une des caractéristiques remarquables de ce mutant, est qu'il permet une bonne colonisation MA à des teneurs en phosphate du substrat de culture qui sont fortement inhibitrices de la mycorrhization chez les plantes sauvages. Nous avons confirmé ce phénotype hypermycorrhizien du mutant B9 en analysant l'expression de gènes marqueurs de la symbiose MA chez le mutant et les plantes sauvages. Nous avons par la suite étudié la réponse au phosphate de ce mutant pour déterminer si une réponse altérée au phosphate pouvait expliquer le phénotype hypermycorrhizien de B9. Nous avons cultivé les plantes sauvages (WT) et mutantes en Pi limitant (130  $\mu$ M Pi, conditions favorables à la mycorrhization des plantes WT) et en Pi non limitant (2.6 mM Pi, conditions inhibitrices de la mycorrhization chez les WT). L'analyse par qPCR de gènes marqueurs de statut nutritionnel phosphaté et de gènes codant pour des transporteurs de Pi chez *M. truncatula* montre que le mutant B9 se comporte comme si il était plus carencé en Pi que le WT. Les dosages de Pi libre dans les racines et les feuilles confirment que le mutant B9 est perturbé dans l'homéostasie du Pi. Une analyse transcriptomique des racines de ces plantes sauvages et mutantes cultivées sur P2 et P/10 a été entreprise pour analyser de façon plus globale la réponse de ces plantes au Pi. Les premiers résultats de cette approche semblent confirmer que le phénotype hypermycorrhizien de B9 pourrait être lié à une réponse altérée au Pi.

D. Morandi, C. le Signor, V. Gianfranceschi, G. Duc, 2009. A *Medicago truncatula* mutant hyper-responsive to mycorrhiza and defective for nodulation. *Mycorrhiza*, 19, 435-441

**Mots-clés :** *Medicago truncatula*; mutant hypermycorrhizien; *Glomus intraradices*; transporteurs de phosphate racinaires.

## Mise en évidence d'une activité caféoyltransférase chlorogénate-dépendante dans les racines de tomate mycorhizées

Jonathan Negrel, Francine Javelle and Dominique Morandi

UMR Agroécologie INRA 1347/AgroSup/Université de Bourgogne,  
Pôle Interactions Plantes-Microorganismes ERL CNRS 6300  
INRA 17 rue Sully BP 86510 21065 Dijon Cedex France

Il a été rapporté récemment que la colonisation des racines de tomate par des champignons mycorrhizogènes à arbuscules provoquait une diminution significative des teneurs en acide chlorogénique (acide 5-O-caféoylquinique) de ces racines (Lopez-Raez *et al.* 2010). En essayant de vérifier ce résultat nous avons observé que lorsque des racines de tomate colonisées par *Rhizophagus irregularis* (précédemment connu sous le nom de *Glomus intraradices*) sont extraites par le méthanol pendant 48 h à 6°C, l'acide chlorogénique naturellement présent dans l'extrait est lentement transestérifié en méthyl caféate, la réaction pouvant être suivie par HPLC. La réaction n'a lieu que lorsque les racines broyées sont laissées au contact de l'extrait hydro-alcoolique et lorsque la teneur en eau du mélange est de 15 à 35 %. Lorsque les racines sont extraites dans l'éthanol, l'acide chlorogénique est transformé en éthyl caféate dans les mêmes conditions. La réaction est aussi détectée dans les extraits de racines colonisées par *Glomus mosseae*. Elle peut aussi être détectée dans les extraits de racines des plantes « témoins », non colonisées, mais est de 10 à 25 fois plus faible. Par contre elle est indétectable dans les extraits des parties aériennes, qui sont aussi riches en acide chlorogénique, et ceci que la plante soit inoculée ou pas avec le champignon. Nos résultats montrent que la réaction de transestérification détectée dans les extraits racinaires est catalysée par une enzyme de la plante, dotée d'une activité caféoyltransférase chlorogénate-dépendante et qui conserve son activité dans les mélanges hydro-alcooliques. L'alcool utilisé lors de l'extraction des composés phénoliques est capable de remplacer l'accepteur de groupe acyl au niveau du site actif de l'enzyme, permettant ainsi la détection de l'activité. Cette activité caféoyltransférase est inhibée par le PMSF. Les isomères 3- et 4-caféoylquinique sont également utilisés comme substrats mais sont moins actifs que le 5-caféoylquinique. L'activité est très fortement induite dans les racines de tomates mycorhizées cultivées en condition de forte déficience minérale. Étonnamment cette activité caféoyltransférase a aussi été détectée dans les racines mycorhizées de poireau, de sorgho et de *Medicago truncatula*. La signification physiologique et biochimique de la présence de cette enzyme dans les racines est actuellement inconnue. Notre hypothèse est que l'activation du métabolisme de l'acide chlorogénique dans les racines de tomate mycorhizées pourrait être liée à son utilisation comme précurseur de composés phénoliques, en particulier pariétaux.

López-Ráez, J. A., Flors, V., García, J.M., Pozo, M.J., 2010. AM symbiosis alters phenolic acid content in tomato roots. *Plant Signaling and Behavior* 5, 1-3

Mots-clés : *Solanum lycopersicum*; *Glomus intraradices*; acide chlorogénique; acide quinique.

## Les mycorhizes de l'olivier (*Olea europaea* L.). Aspects écologiques, effet sur la croissance et exploitation en pépinière

Meddad-Hamza Amel<sup>(1)</sup>, Beddiar Arifa<sup>(1)</sup>, Gianinazzi Silvio<sup>(2)</sup>,

(1) Université Badji Mokhtar, Cité des Orangers Annaba, Algérie

(2) UMR INRA 1088/CNRS 5184/Université de Bourgogne Plante-Microbe-Environnement, BP 86510, 21065 Dijon cedex, France.

Une prospection de l'état mycorhizien de l'olivier dans des stations oléicoles aux conditions bioclimatiques différentes, passant d'un climat humide au Nord vers un climat saharien sec au Sud, a été effectuée. Des expériences ont été menées pour évaluer l'impact de la mycorhization sur la croissance des plants d'olivier afin de déterminer la meilleure combinaison « olivier-champignon mycorhizogène » en vue de l'exploitation de cette symbiose en pépinière. Des essais comparatifs des morphotypes de spores de champignons mycorhizogènes isolés de rhizosphères oléicoles algériennes, et appartenant aux genres *Glomus* et *Entrophospora*, ont été effectués. Un intérêt particulier était porté sur la comparaison de deux technologies : la mycorhization contrôlée et la fertilisation chimique, sur le niveau de résistance au stress de transplantation de jeunes plants d'oliviers issus de la micropropagation. Enfin, une approche moléculaire a été développée pour l'identification et la détection en pépinière de champignons mycorhizogènes. La prospection écologique a permis de mettre en évidence l'existence d'une communauté mycorhizienne commune aux rhizosphères oléicoles algériennes dotée d'un pouvoir mycorhizogène relativement moyen à faible et justifiant la nécessité de renforcer ce complexe mycorhizien par un inoculum choisi. L'analyse moléculaire a révélé que le genre *Glomus* est le plus dominant dans les racines du porte-greffe (oléaste) par rapport aux autres genres identifiés, *Entrophospora*, *Scutellospora*, *Gigaspora* et *Acaulospora*. L'évaluation de l'impact de différents morphotypes, isolés des zones oléicoles, a montré que 4 d'entre eux, *Glomus intraradices*, *G. mosseae*, *Glomus* sp1, *Entrophospora. infrequens* améliorent la croissance de jeunes plants d'oliviers. La combinaison *G. intraradices*- olivier s'est révélée être la meilleure, vu que ce champignon mycorhizogène s'est montré plus compétitif vis-à-vis d'autres espèces dans la colonisation des oliviers. Les résultats mettent aussi en évidence la supériorité de l'inoculation par *G. mosseae* vis-à-vis de la fertilisation chimique dans les processus de production des oliviers micropropagés lors de la transition des conditions *in vitro* à celles en pépinière. L'effet positif du champignon mycorhizogène se manifeste par l'augmentation de la biomasse des racines (environ le double par rapport à celle des plantes ayant reçu de l'engrais chimique). Ces changements confèrent à la plante une plus grande capacité à utiliser les ressources du sol et à résister au stress de transplantation et au stress hydrique.

Mots-clés : mycorhizes à arbuscules, *Olea europaea*, inoculation, transplantation, croissance.

Communa  
producteur

Claude Mura

INRA, IAM, CI

La truffe noi  
des symbios  
environ 90  
préalableme  
producteurs,  
arbres sont  
biotiques (e  
absence de  
d'Emila Al  
L'objectif d  
producteurs  
plantations  
(Nord Drôr  
du sol a ét  
extraction c  
débit (454 F  
Après netto  
024. Une a  
fongique qu  
retrouvées  
ectomycorb  
retrouvées  
arbres et s  
intéressant  
sous les ai  
provenant  
met en év  
producteur  
des espèces

Mots-clés : T

## Structuration et diversité des communautés et populations de champignons mycorrhizogènes à arbuscules (Glomeromycota) à différentes échelles

Peyret-Guzzon M., Mansuy C. Stockinger H., Redecker D.

UMR Agroécologie INRA 1347/Agrosup/Université de Bourgogne, Pôle IPM ERL CNRS 6300 CNRS, 17 rue de Sully BP 86510 21065 Dijon Cedex

L'objectif du projet est de mieux comprendre la biodiversité des champignons mycorrhizogènes à arbuscules (CMA). Pour ce faire, nous étudions les communautés et populations de CMA au sein d'habitats différents et ce à plusieurs échelles géographiques. Cette étude est centrée sur la diversité de l'espèce modèle, extrêmement répandue, *Rhizophagus irregularis* (précédemment connue sous le nom *Glomus intraradices*) et elle utilise la grande sous-unité de l'ADN ribosomique mitochondrial comme marqueur neutre. Ainsi d'une part, nous disposons d'échantillons provenant de prairies et de champs cultivés issus de la zone d'Etude de Fénay (Bourgogne), de l'Observatoire de Recherche en Environnement de Lusignan (Poitou-Charentes), et du Réseau de Mesures de la Qualité des Sols (France entière). D'autre part, des expérimentations ont été mises en place en laboratoire et sur le domaine d'Epoisses (INRA Dijon) afin de tester les effets de certains facteurs (perturbation du sol et fertilisation) pouvant influencer la dynamique de ces populations dans un contexte agricole.

*Mots clés* : champignons mycorrhiziens à arbuscules; diversité; populations; prairies; champs; *Rhizophagus irregularis*