



HAL
open science

Association préférentielle entre les mycorhizes à arbuscules et les pseudomonas saprophytes présentant des systèmes de sécrétion de type III

Amandine Viollet, Thérèse Corberand, Agnès Robin, Christophe Mougel,
Philippe P. Lemanceau, Sylvie S. Mazurier

► To cite this version:

Amandine Viollet, Thérèse Corberand, Agnès Robin, Christophe Mougel, Philippe P. Lemanceau, et al.. Association préférentielle entre les mycorhizes à arbuscules et les pseudomonas saprophytes présentant des systèmes de sécrétion de type III. Journées Francophones Mycorhizes, Sep 2008, Dijon, France. 47 p. hal-02757118

HAL Id: hal-02757118

<https://hal.inrae.fr/hal-02757118>

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.



Journées Francophones



Mycorhizes



Dijon, France

4 & 5 septembre 2008



Salle du Conseil Régional

de Bourgogne

17 boulevard de la Trémouille, Dijon



Institut Buffon



Nous voudrions remercier les organisations et personnes suivantes pour leur aide dans l'organisation de ces « Journées Francophones Mycorhizes »

- Le Conseil Régional de Bourgogne
- La Fédération de Recherche « Institut Buffon »
- Le programme BQR de l'Université de Bourgogne
- Le secrétariat de l'UMR PME et plus particulièrement Isabelle Garcia et Sophie Nollot

Le comité d'organisation : Vivienne Gianinazzi-Pearson, Silvio Gianinazzi, Eliane Dumas-Gaudot, Pascale Seddas & Daniel Wipf

UMR INRA 1088/CNRS 5184/ Université de Bourgogne Plante–Microbe-Environnement
BP 86510, 21065 DIJON Cedex France
<http://www2.dijon.inra.fr/pme/>

Sommaire

Programme du Jeudi 4 septembre 2008.....	2
Programme du Vendredi 5 septembre 2008.....	4
<u>Communications orales</u>	5
✓ Session 1 : Biotechnologies.....	6
✓ Session 2 : Ecologie – Biodiversité.....	9
✓ Session 3 : Biologie moléculaire et cellulaire.....	15
✓ Session 4 : Stress biotiques et abiotiques.....	20
Posters.....	25
Liste des participants.....	48
Notes.....	53

Jeudi 4 septembre 2008

Accueil à partir de 12h (Accueil/Poster)

13h20 – 13h40 :

Introduction

13h40 – 14h20 :

Conférence plénière Silvio Gianinazzi

Recherches sur les mycorhizes en France : Flash historique

Session 1 : Biotechnologies

14h20 – 14h40 : Armelle Gollotte

La biotisation pour une production de petits fruits de qualité

14h40 – 15h10 : Daniel Mousain

Impacts de l'inoculation par un isolat de *Pisolithus arrhizus* sur la mycorhization et l'écophysiole de plants de *Quercus suber* dans un dispositif expérimental des Albères (Pyrénées-Orientales)

15h10-15h30 :

Pause & Posters

Session 2 : Ecologie - Biodiversité

16h00 – 16h20 : Marc-André Selosse

Vivre différemment sous les tropiques ! Le cas des plante myco-hétérotrophes tropicales: leurs associations mycorhiziennes et leurs sources de carbone différent des espèces tempérées.

16h20 – 16h40 : Claude Murat

Identification des microsatellites dans le génome de la truffe noire du Périgord

16h40 – 17h00 : Monique Gardes

Identification moléculaire et phylogénétique des communautés de champignons ectomycorhiziens

17h00 – 17h20 :

Pause & Posters

17h20 – 17h40 : Patricia Jargeat

Reconnaissance phylogénétique de 2 espèces cryptiques chez le champignon ectomycorhizien *Tricholoma scalpturatum*

18H00 – 18H20 : Laurence Fraissinet-Tachet

Effet de l'essence forestière sur la diversité fonctionnelle et taxonomique des communautés fongiques ectomycorhiziennes

18h20 – 18h40 : Pierre Emmanuel Courty

Les ectomycorhizes de *Lactarius quietus* – *Quercus* sp. Etude par des approches d'écologie fonctionnelle et d'écogénomique

Vendredi 5 septembre 2008

Session 3 : Biologie moléculaire et cellulaire

8h30 – 8h50 : Mireille Chabaud

Colonisation de la plante hôte par les champignons endomycorhiziens : étude par une approche cellulaire

8h50 – 9h10 : Hermann Sylvie

Dialogue entre plante hôte et mycobionte en phase pré-mycorhizienne dans le système de mycorhization contrôlée *Quercus robur* - *Piloderma croceum*

9h10 – 9h30 : Marie Tollot

Rôle du facteur de transcription fongique GintSTE dans l'établissement de la symbiose mycorhizienne à arbuscules

9h30 – 9h50 : Zeina Daher

Les plastes de racines : des acteurs indispensables au processus de mycorhization

9h50 - 10H20

Pause & Posters

Session 4 : Stress biotiques et abiotiques

10H20 – 10H40 : Djouher Debiane

Rôle de l'endomycorhization dans la tolérance au stress oxydatif induit par les hydrocarbures polyaromatiques

10h40 – 11h00 : Annemie Elsen

AMF-induced bioprotection against plant-parasitic nematodes : which mechanisms are responsible ?

11h00 – 11h20 : Paul Olivier Redon

Contribution des champignons mycorhiziens à arbuscules au transfert de cadmium à la plante

11h20 – 11h40 : Didier Doillon

Métaux lourds et champignons ectomycorhiziens : mécanismes moléculaires impliqués dans la tolérance

11h40 – 12h00 :

Compte-rendu des sessions posters

12h00 – 12h30 :

Bilan, Discussion : futur des JFM

Communications

Orales

Jeudi 4 septembre 2008

**Session 1 :
Biotechnologies**

14h20 – 15h30

14h20 – 14h40 :

Armelle Gollotte

La biotisation pour une production de petits fruits de qualité

14h40 – 15h10 :

Daniel Mousain

Impacts de l'inoculation par un isolat de *Pisolithus arrhizus* sur la mycorhization et l'écophysiologie de plants de *Quercus suber* dans un dispositif expérimental des Albères (Pyrénées-Orientales)

LA BIOTISATION POUR UNE PRODUCTION DE PETITS FRUITS DE QUALITE

Armelle GOLLOTTE¹, Louis MERCY¹, Benjamin SECCO¹, Julie LAURENT¹, Michel PROST², Silvio GIANINAZZI³ et Marie-Claude LEMOINE¹

1. CRITT AgroEnvironnement, 17 rue Sully, 21065 Dijon Cedex, France,
golotte@dijon.inra.fr

2. LARA Spiral, 3 rue des Mardors, 21560 Couternon, France

3. UMR Plante-Microbe-Environnement, INRA/CMSE, 17 rue Sully, 21065 Dijon Cedex,
France

La demande en petits fruits est en forte croissance suite à la découverte des effets bénéfiques de leurs molécules anti-oxydantes (MAO) sur la santé humaine, avec en particulier une diminution des risques de cancer, de maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives et de diabète. Cependant, les producteurs sont confrontés à des problèmes de production liés à des agents pathogènes comme *Phytophthora fragariae* qui sont particulièrement ravageurs et contre lesquels il n'existe pas de fongicide efficace. Des expériences de laboratoire ont montré que la biotisation augmente la tolérance des plantes à des stress biotiques et abiotiques (Lemoine et al. 2000, Gianinazzi et al. 2003). Des travaux sont en cours pour intégrer la biotisation dans le système de production de plants de framboisiers, cassissiers et fraisiers afin d'améliorer la croissance et la santé des plantes. Pour cela, nous optimisons les méthodes de biotisation en sélectionnant des inocula de qualité et en identifiant des conditions de culture compatibles avec une combinaison judicieuse des substrats de culture et des engrais apportés. En parallèle, l'effet de la biotisation sur la synthèse des MAO est déterminée. De plus, pour évaluer la qualité phytosanitaire des plants biotisés, nous développons des tests moléculaires permettant de vérifier la présence des champignons mycorrhizogènes inoculés et l'absence de champignons pathogènes.

Références

- Gianinazzi S., Oubaha L., Chahbandar M., Blal B., Lemoine M.C. 2004. Biotization of microplants for improved performance. Dans „ Proceedings of the XXVI International Horticultural Congress: Biotechnology in horticultural crop improvement: achievement, opportunities and limitations“, Hammerschlag FA, Saxena P (eds). ISHS, Acta Horticulturae, Belgique, 625: 165-172.
- Lemoine M.C., Cordier C., Gianinazzi S., Jaubertie J.P., Alabouvette C. 2000. Biological control in raspberry: promising results and potential use to control *Phytophthora fragariae* var. *rubi*. L'arboriculture fruitière 538: 19-23.

IMPACTS DE L'INOCULATION PAR UN ISOLAT DE *PISOLITHUS ARRHZUS* SUR LA MYCORHIZATION ET L'ECOPHYSIOLOGIE DE PLANTS DE *QUERCUS SUBER* DANS UN DISPOSITIF EXPERIMENTAL DES ALBERES (PYRENEES-ORIENTALES)

Daniel Mousain, Hassan Boukcim, Roselyne Lumaret, Christine Delaruelle, Guy Ruiz, Elvire Legname, Catherine Pernot, et Salaheddine Bakkali Yakhlef
mousain@supagro.inra.fr

Les impacts de l'inoculation contrôlée de plants de Chêne-liège (*Quercus suber* L.) en pépinière sur (i) la colonisation ectomycorhizienne et la persistance de la souche inoculée sur les racines, et (ii) la croissance, le développement et l'écophysiologie de ces plants, sont étudiés dans un dispositif établi à Montesquieu-des-Albères (Pyrénées-Orientales) [Contrat UE CREOAK (QLK5-CT2002-01594)]. Quatre modes expérimentaux ont été mis en place selon l'absence d'inoculation des plants (NI) ou leur mycorhization (M) par *Pisolithus arrhizus* (Scop. : Pers.) Rauschert (isolat F43), et la provenance phylogéographique des semis [Pyrénées-Orientales (P-O) et Sardaigne (SAR) où les chênes-lièges sont respectivement "introgressés" et "non-introgressés" avec le Chêne vert, au niveau cytoplasmique (Lumaret *et al.*, 2005)] : P-O.NI, SAR.NI, P-O.M, SAR.M.

Deux ans après l'établissement de la plantation, si le degré de mycorhization des plants ne différait pas significativement d'un mode à l'autre, seuls ceux inoculés en pépinière portaient des ectomycorhizes "Pisolithes-ressemblant" dont les séquences ITS ADN se sont révélées homologues de celle de l'isolat F43. Cet isolat a donc persisté et s'est disséminé sur les racines des chênes-lièges inoculés, alors qu'aucune ectomycorhize "Pisolithes-ressemblant" n'a été détectée sur les plants non inoculés en dépit de l'apparition périodique de basidiomes de *Pisolithus* sp. dans le même site. Après un an d'expérience, la mycorhization avec *P. arrhizus* F43 a significativement (i) stimulé l'élongation des parties aériennes chez les plants originaires des P-O seulement, cet effet étant dû à l'accroissement de la branchaison et de la longueur des branches fines, et (ii) abaissé les valeurs moyennes de la discrimination isotopique du C des feuilles ($\Delta^{13}\text{C}$), indépendamment de l'origine phylogéographique des chênes-lièges. Les valeurs de $\Delta^{13}\text{C}$ étant inversement corrélées à l'efficacité intrinsèque de l'eau (*Water Use Efficiency*, WUE) à l'échelle d'une saison de croissance (Farquahr *et al.*, 1989), le résultat précédent suggère que les ectomycorhizes de *P. arrhizus* ont augmenté WUE dans les plants de Chêne-liège. Les effets de la mycorhization avec *P. arrhizus* F43, enregistrés après 1 an sur la croissance et le développement des plants, et la discrimination isotopique du C des feuilles, ont aussi été observés après 2 ans d'expérience.

Ces résultats offrent de réelles perspectives d'utilisation de l'inoculation contrôlée des plants par des champignons ectomycorhiziens efficaces et compétitifs, afin de favoriser l'établissement des chênes-lièges dans des sites soumis à de fortes contraintes pédoclimatiques.

Références

Farquahr G.D., Ehleringer J.R., Hubick K.T. 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol. & Plant Mol. Biol.*, 40, 503-537.
Lumaret R., Tryphon-Dionnet M., Michaud H., Sanuy A., Ipotesi E., Born C., Mir C. 2005. Phylogeographical Variation of Chloroplast DNA in Cork Oak (*Quercus suber*). *Ann. Bot.*, 96, 853-861.

Session 2 : Ecologie – Biodiversité

16h00 – 18h40

16h00 – 16h20 :

Marc-André Selosse

Vivre différemment sous les tropiques ! Le cas des plante myco-hétérotrophes tropicales : leurs associations mycorhiziennes et leurs sources de carbone diffèrent des espèces tempérées.

16h20 – 16h40 :

Claude Murat

Identification des microsattellites dans le génome de la truffe noire du Périgord

16h40 – 17h00 :

Monique Gardes

Identification moléculaire et phylogénétique des communautés de champignons ectomycorhiziens

17h00 – 17h20 :

Pause & Posters

17h20 – 17h40 :

Patricia Jargeat

Reconnaissance phylogénétique de 2 espèces cryptiques chez le champignon ectomycorhizien *Tricholoma scalpturatum*

18h00 – 18h20 :

Pierre Emmanuel Courty

Les ectomycorhizes de *Lactarius quietus* – *Quercus* sp. Etude par des approches d'écologie fonctionnelle et d'écogénomique

TROPICS CHANGE THE RULE! HETEROTROPHIC PLANTS USING CARBON FROM SOIL FUNGI (MYCO-HETEROTROPHY): CONTRASTING STRATEGIES IN FUNGAL ASSOCIATION AND CARBON SOURCE BETWEEN TEMPERATE AND TROPICAL REGIONS

Marc-Andre Selosse, Melanie Roy, Florent Martos

Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, CNRS, 19 Route de Mende, 34293

Montpellier cedex 5, France ; ma.selosse@wanadoo.fr

Most plant ecophysiology is shaped by symbioses in which plant roots associate with soil fungi to form mycorrhizae. Fungi exploit soil mineral nutrients that are shared with the plant, and receive carbon as a reward. Moreover, several forest-understorey achlorophyllous plants, once thought to be saprophytic, are now shown to receive carbon from their mycorrhizal fungi and are therefore called mycoheterotrophs (MH). In the many investigated temperate MH species, including many orchids, the associated fungi in turn form mycorrhizae with surrounding plants that are the ultimate carbon source of the entire system. Direct and indirect evidences support the latter point, especially isotopic methods (^{13}C contents are similar to mycorrhizal fungi and ^{15}N contents suggest a high position in trophic chains, above fungi). The ability of mycorrhizal fungi to link different plants therefore allows sufficient inter-plant carbon transfers to support MH growth. Furthermore, all temperate species studied so far indicate a high specificity of each MH species to a narrow fungal clade. However, most MH plants live under the tropics. Here, we investigate tropical MH orchids to (i) identify their mycorrhizal partners, using molecular methods and (ii) confirm their carbon source, using stable isotopes.

We studied six tropical orchid species from Asia, Africa and the Caribbean islands, including several populations for each of them. They revealed contrasting features as compared to the 'temperate rule'. Species from Asian Dipterocarpaceae forest shared diverse ectomycorrhizal species with the later trees; their isotopic content clearly indicated that, exactly as temperate models, they received carbon from this source. However, they were not specific, and had up to four different partner species per individual (and eight per population). The other models from Africa and the Caribbean islands, from forests devoid of the mycorrhizal fungal species usually colonizing MH orchids, associate with saprobic fungi. Together with the identity of the fungi, isotopic studies showed that the ultimate carbon source was, respectively, dead wood and dead leaves. These examples, obtained in the same phylogenetic context as the models studied in temperate regions, are unlikely to represent specific idiosyncrasies, but rather emphasize functional differences of tropical ecosystems, especially for fungi. We hypothesize that (1) a wetter climate allows saprophytic fungi to be sufficiently active over the rain season to provide carbon to MH plants and (2) a higher availability of photosynthates for tropical mycorrhizal fungi reduce arm race with exploiting MH orchids, and thus evolution toward specificity.

IDENTIFICATION DES MICROSATELLITES DANS LE GENOME DE LA TRUFFE NOIRE DU PERIGORD

**Claude Murat (1), Jessy Labbé (1), François Le Tacon (1), Paola Bonfante (2),
Francis Martin (1), Patrick Winckler (3) et Génoscope**

(1) UMR 1136, INRA-Nancy Université, Interactions Arbres/Microorganismes, INRA-Nancy, 54280 Champenoux-France ; (2) Dipartimento Biologia Vegetale et CNR-IPP, Viale Mattioli 25, 10125 Torino-talie ; (3) Centre National de Séquençage-Génoscope, 2 rue Gaston Crémieux CP5706 91057 Evry cedex-France
email: claudio.murat@nancy.inra.fr

Depuis plusieurs années, à Nancy et à Turin, nous nous sommes intéressés à la diversité génétique des truffes et en particulier de la truffe noire du Périgord (*Tuber melanosporum* Vittad.). Jusqu'à présent, les analyses qui ont été réalisées se limitaient au séquençage systématique de quelques régions génomique (ITS, SCARs) et de quelques loci microsatellites. Grâce aux efforts du *Tuber* Genome Consortium et du Génoscope, nous disposons depuis cette année du génome de *T. melanosporum*. L'objectif de notre étude est l'utilisation de l'assemblage du génome de *T. melanosporum* pour identifier les régions microsatellites ou SSRs (Simple-Sequence Repeats) et ensuite d'utiliser ces SSRs pour caractériser les populations de cette truffe. En utilisant les logiciels MISA et Arlequin, 22 425 SSRs (mono-, di-, tri-, tetra-, penta-, hexa-nucleotides) ont été identifiés dans le génome de la truffe. Pour identifier les microsatellites polymorphes, 122 SSRs correspondant à des motifs tri-, tetra-, penta- et hexa-nucleotidique répétés plus de 12 fois ont été sélectionnés. Pour chaque SSR, un couple d'amorce a été défini et utilisé pour amplifier l'ADN d'ascocarpes de *T. melanosporum*. Les premiers résultats montrent que 50 % de ces SSRs sont polymorphes. Cet important taux de polymorphisme est surprenant étant donné que *T. melanosporum* est considérée comme une espèce possédant un faible niveau de polymorphisme génétique. Ces SSRs polymorphes sont actuellement utilisés pour analyser plusieurs centaines d'échantillons provenant de France, d'Italie et d'Espagne. Cette analyse devrait nous permettre de caractériser la structure génétique des populations locales de *T. melanosporum*, ainsi que de caractériser les flux de gènes entre les populations sur toute l'aire de distribution naturelle de cette truffe.

Remerciements : Nous tenons à remercier tous les trufficulteurs ainsi que nos collègues Français, Italiens et Espagnols qui nous ont fourni les échantillons de *T. melanosporum*. Cette étude n'aurait pu être possible sans les efforts réalisés par le Génoscope. Ces analyses ont été financées par le projet EVOLTREE à l'INRA de Nancy et par la Région Piémont et la Compagnie San Paolo à Turin.

**IDENTIFICATION MOLÉCULAIRE ET PHYLOGÉNÉTIQUE DES COMMUNAUTÉS DE
CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS**

Monique Gardes

Equipe Symbiose Mycorhizienne et Evolution des Champignons », UMR 5174 UPS – CNRS Evolution et Diversité Biologique, Université Paul Sabatier – Toulouse 3, 118 route de Narbonne, 31000 Toulouse

L'identification moléculaire des champignons ectomycorhiziens connaît aujourd'hui un nouvel essor grâce aux avancées technologiques dans le séquençage à haut débit, l'augmentation des puissances informatiques et les progrès réalisés dans l'analyse phylogénétique. Dans cet exposé, nous expliquerons comment la phylogénie moléculaire est une des solutions aux problèmes d'inventaire de la biodiversité fongique parce qu'elle est une aide à la taxinomie, une mesure de la diversité des communautés et une source d'information écologique et évolutive sur l'origine des assemblages fongiques et leur dynamique. Des exemples seront pris parmi les modèles étudiés dans l'équipe « Symbiose Mycorhizienne et Evolution des champignons » (UMR 5174 EDB, Université Toulouse 3), particulièrement le modèle aulne-champignons ectomycorhiziens.

RECONNAISSANCE PHYLOGENETIQUE DE 2 ESPECES CRYPTIQUES
CHEZ LE CHAMPIGNON ECTOMYCORHIZIEN *TRICHOLOMA*
SCALPTURATUM

Patricia JARGEAT

Laboratoire Evolution et Diversité Biologique (EDB), UMR5174 Université Paul Sabatier

/ CNRS / ENFA, 31062 Toulouse cedex 9 jargeat@cict.fr

La délimitation des espèces chez les champignons se heurte à de nombreuses contraintes liées aux modes de vie et à la morphologie de ces organismes. La difficulté d'appliquer les méthodes classiques de reconnaissance des espèces a conduit à un manque crucial d'informations sur la diversité réelle des champignons et sur leur mode de spéciation. Les outils moléculaires permettent aujourd'hui d'accéder à cette composante de la biodiversité. Une méthode phylogénétique telle que la "concordance de généalogies de gènes non liés" s'avère particulièrement intéressante pour délimiter les espèces (Taylor *et al* 2000). Les champignons mycorhiziens ayant évolué au travers des interactions qu'ils entretiennent avec leurs plantes-hôtes constituent un modèle original pour étudier la spéciation chez les champignons. *Tricholoma scalpturatum* est un champignon ectomycorhizien cosmopolite à large spectre d'hôtes. Des approches populationnelles ont mis en évidence 2 groupes génétiques au sein de ce taxon (Gryta *et al* 2006; Carriconde *et al* 2008). Une approche phylogénétique, basée sur 3 marqueurs nucléaires non liés (ITS, GPD, TEF1- α) a été mise en oeuvre et a permis de mettre en évidence plusieurs clades fortement soutenus. L'utilisation de marqueurs mitochondriaux (domaines V6 et V9) confirme cette séparation en plusieurs clades (Mouhamadou *et al* 2008). *T. scalpturatum* constitue donc un très bon modèle pour appréhender les questions relatives à la compréhension des modes de spéciation chez les champignons ectomycorhiziens. Une approche fonctionnelle permettra de comprendre pourquoi ces espèces cryptiques, vivant souvent en sympatrie, sont sélectionnées par la plante.

Références

- Carriconde F., Gardes M., Jargeat P., Heilmann-Clausen J., Mouhamadou B., Gryta H. 2008. Population evidence of cryptic species and geographical structure in the cosmopolitan ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma scalpturatum*. *Microb. Ecol.*, DOI: 10.1007/s00248-008-9370-2.
- Gryta H., Carriconde F., Charcosset J.Y., Jargeat P., Gardes M. 2006. Population dynamics of the ectomycorrhizal fungal species *Tricholoma populinum* and *Tricholoma scalpturatum* associated with black poplar under differing environmental conditions. *Envir. Microbiol.*, 8, 773-786.
- Mouhamadou B., Carriconde F., Gryta H., Jargeat P., Manzi S., Gardes M. 2008. Molecular evolution of mitochondrial ribosomal DNA in the fungal genus *Tricholoma*: barcoding implications. *FGB*, sous presse
- Taylor J.W., Jacobson D.J., Kroken S., Kasuga T., Geiser D.M., Hibbet D.S., Fischer M.C. 2000. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *FGB*, 31, 21-32

LES ECTOMYCORHIZES DE *LACTARIUS QUIETUS* – *QUERCUS* SP. ETUDE PAR DES APPROCHES D'ÉCOLOGIE FONCTIONNELLE ET D'ÉCOGÉNOMIQUE

P.-E. Courty (1), A. Franc (2), N. Bréda (3), F. Martin (1), J. Garbaye (1)

(1) INRA Nancy, UMR 1136 Université Nancy - INRA Interactions Arbres Microorganismes, route de l'arboretum, 54280 Champenoux, France

(2) INRA Pierroton, UMR Biodiversité, Gènes et Communautés, route d'Arcachon, 33612 Cestas, France

(3) INRA Nancy, UMR 1137 Université Nancy – INRA Ecologie et Ecophysiologie Forestière, route de l'arboretum, 54280 Champenoux, France

Corresponding author : courty@nancy.inra.fr

L'évolution de la structure d'une communauté d'ectomycorhizes (ECM) a été suivie dans une chênaie (*Quercus robur*, *Quercus petraea*) du nord-est de la France pendant plus d'une année. Au sein de cette communauté, une espèce, *Lactarius quietus*, décrite comme associée principalement aux espèces de chêne, forme des ECMs tout au long de l'année. Dans cet exposé, nous vous présentons les résultats obtenus par différentes approches pour étudier l'écologie fonctionnelle des ECMs de *L. quietus* – *Quercus* sp.

Chaque mois et pendant plus d'un an, nous avons à la fois suivi l'abondance des ECMs mais aussi mesuré successivement sur sept apex l'activité de huit enzymes relatives à la mobilisation des nutriments du sol. Les profils d'activités ainsi que l'abondance des ECMs changent au cours des saisons. En avril, au début du printemps et au moment du débourrement, un pic d'abondance et d'activité a été détecté. Les variations de l'activité laccase et glucuronidase sont synchrones de la variation de paramètres phénologiques (débourrement, reprise de croissance). Au vu de ces résultats, nous avons émis l'hypothèse que *L. quietus* pourrait transférer du carbone à l'arbre durant cette période pendant laquelle la photosynthèse n'est pas active et où le carbone mobilisé provient des réserves glucidiques. Le chêne se comporterait alors pour partie comme des plantes sans chlorophylles, appelées mycohétérotrophes, et dont le carbone ne provient que du symbiote mycorhizien.

Deux sources potentielles de carbone potentielles sont disponibles pour les ECMs de *L. quietus* : le sol et l'arbre. Le suivi du $\delta^{13}\text{C}$ des ECMs de *L. quietus* au cours du temps montre que la proportion de carbone provenant de ces deux sources varie au cours des saisons. En hiver et au cours du débourrement, la majeure partie du carbone provient du sol. Au contraire, pendant la saison de végétation, le carbone provient presque exclusivement de l'arbre hôte.

Après construction d'une banque d'ADNc à partir d'ectomycorhizes récoltées *in situ* et séquençage de 960 fragments d'ADNc (ESTs), nous avons étudié le profil d'expression de gènes impliqués dans la mobilisation de la matière organique ou du métabolisme primaire (ex : laccase, chitinase) de *L. quietus* au niveau des apex ectomycorhiziens mais aussi au niveau du sol ectomycorhizosphérique qui contient le mycélium extramatriciel. L'activité des gènes est similaire dans ces deux compartiments. En ce qui concerne le gène codant pour une laccase, nous avons (1) comparé sa séquence avec celles de *Laccaria bicolor*, premier champignon ectomycorhizien dont le génome a été séquencé (2) et immunolocalisé la protéine dans les différents compartiments de l'ECM.

Vendredi 5 septembre

Session 3 :
Biologie moléculaire et cellulaire
8h30 – 10h20

8h30 – 8h50 :

Mireille Chabaud

Colonisation de la plante hôte par les champignons endomycorhiziens : étude par une approche cellulaire

8h50 – 9h10 :

Hermann Sylvie

Dialogue entre plante hôte et mycobionte en phase pré-mycorhizienne dans le système de mycorhization contrôlée *Quercus robur* - *Piloderma croceum*

9h10 – 9h30 :

Marie Tollot

Rôle du facteur de transcription fongique GintSTE dans l'établissement de la symbiose mycorhizienne à arbuscules

9h30 – 9h50 :

Zeina Daher

Les plastes de racines : des acteurs indispensables au processus de mycorhization

**COLONISATION DE LA PLANTE HOTE PAR LES CHAMPIGNONS
ENDOMYCORHIZIENS : ETUDE PAR UNE APPROCHE CELLULAIRE**

Mireille Chabaud et David G. Barker

mireille.chabaud@toulouse.inra.fr

Laboratoire des Interactions Plantes-Microorganismes, (UMR INRA-CNRS), F-31320

Castanet Tolosan, France.

Notre équipe s'intéresse, chez *Medicago truncatula*, au processus d'infection par des champignons endomycorhiziens à arbuscules. Nous avons mis au point une approche de microscopie confocale *in vivo* à l'aide d'explants de racines transformées par *Agrobacterium rhizogenes* et exprimant différents marqueurs fluorescents (cytosquelette, reticulum endoplasmique ou membranaire). Grâce à des champignons naturellement fluorescents (*G. rosea* ou *G. gigantea*) il est possible de suivre l'ensemble de la colonisation racinaire au microscope confocal. En collaboration avec A. Genre et P. Bonfante (Université de Turin, Italie), nous avons pu démontrer que les cellules de la plante hôte anticipent et préparent l'infection intracellulaire par la mise en place d'un pont cytoplasmique transitoire que nous avons appelé le PPA (Pre-Penetration Apparatus ; Genre et al. 2005, 2008). Le PPA définit le chemin suivi par l'hyphe infectieuse à travers la cellule végétale et nos résultats suggèrent fortement que le PPA est directement impliqué dans la fabrication de l'interface membrane/matrice extracellulaire qui sépare l'hyphe du cytoplasme. Des études comparatives entre *M. truncatula* (profil de colonisation de type Arum) et *Daucus carota* (profil de type Paris) ont démontré l'universalité de ce mécanisme d'infection intracellulaire endomycorhizienne.

Références

- Genre A., Chabaud M., Timmers T., Bonfante P., Barker D.G. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *Plant Cell* 17: 3489–3499.
- Genre A., Chabaud M., Faccio A., Barker D.G., Bonfante P. 2008. Prepenetration apparatus assembly precedes and predicts the colonization patterns of arbuscular mycorrhizal fungi within the root cortex of both *Medicago truncatula* and *Daucus carota*. *Plant Cell* (in press).

**DIALOGUE ENTRE PLANTE HOTE ET MYCOBIONTE EN PHASE PRE-MYCORHIZIENNE DANS LE SYSTEME DE MYCORHIZATION CONTROLEE
QUERCUS ROBUR - PILODERMA CROCEUM**

Sylvie Herrmann⁽¹⁾, Patrick Frettinger⁽²⁾, François Buscot

⁽¹⁾ Helmholtz-Centre for Environmental Research (UFZ), Department of Biocenosis Research, Theodor-Lieser-Strasse 4, D-06120 Halle (Germany) sylvie.herrmann@ufz.de; ⁽²⁾ Gembloux Agricultural University Plant Biology Unit Passage des Déportés, 2 B-5030 Gembloux Belgium frettinger@yahoo.fr; ⁽³⁾ Helmholtz-Centre for Environmental Research (UFZ), Department of Soil Ecology, Theodor-Lieser-Strasse 4, D-06120 Halle (Germany) francois.buscot@ufz.de

Le modèle ectomycorhizien Chêne-Piloderma a été étudié en phase pré-mycorhizienne, où un effet symbiotique est tangible sans que les structures d'apposition mycorhiziennes ne soient déjà différenciées. Le système expérimental comporte une essence forestière micropropagée qui est caractérisée par une croissance rythmique et un champignon ectomycorhizien à forte demande en allocation carbonée. La régulation génique diverge entre les racines à fonction d'encrage et les racines potentiellement mycorhiziennes impliquées dans la mobilisation des nutriments. L'impact de la « *carying capacity* » (capacité de soutien) des plants micropropagés sur le développement du champignon et des mycorhizes est examiné. Le pigment jaune corticrocin caractéristique de *Piloderma croceum* est utilisé comme indicateur des échanges nutritifs de la plante vers le champignon. Un cas particulier de réponse du système symbiotique à l'adjonction d'un flavonoïde est présenté.

ROLE DU FACTEUR DE TRANSCRIPTION FONGIQUE GINTSTE DANS L'ETABLISSEMENT DE LA SYMBIOSE MYCORHIZIENNE A ARBUSCULES.

Tollot M., Wong Sak Hoi J., Van Tuinen D., Gianinazzi-Pearson V. et Seddas P.

UMR INRA/CNRS/U. Bourgogne Plante-Microbe-Environnement, CMSE-INRA, BP

86510, 21065 Dijon Cedex, France marie.tollot@dijon.inra.fr

Les champignons mycorhizogènes à arbuscules (MA), appartenant aux Gloméromycètes, forment une association mutualiste avec la plupart des plantes terrestres. Le programme génétique fongique contrôlant les étapes précoces de cette interaction est très peu connu. Le but de ce travail est donc de comprendre comment la relation symbiotique est initiée, et en particulier, comment les signaux émis par la plante hôte sont perçus par le champignon immédiatement après contact.

Les Gloméromycètes sont des biotrophes obligatoires qui ne peuvent pas se développer en l'absence d'une plante hôte. Il n'existe pas de système de transformation génétique stable adapté à ces champignons, c'est pourquoi la caractérisation fonctionnelle de leurs gènes ne peut se faire que par l'intermédiaire de systèmes hétérologues. Les champignons pathogènes hémibiotrophes (*Colletotrichum* spp., *M. grisea*) sont caractérisés par une phase initiale biotrophe présentant plusieurs étapes communes avec le développement des Gloméromycètes (pénétration des tissus hôtes à partir d'appressoria, formation d'haustoria). Ainsi, ils peuvent constituer des modèles pour la caractérisation des gènes fongiques MA.

La pénétration des tissus végétaux par les champignons phytopathogènes hémibiotrophes dépend de l'activité d'un facteur de transcription (FT) homologue du facteur STE12 de *S. cerevisiae*. Nous avons isolé un gène *STE12*-like (*GintSTE*) chez le champignon MA *Glomus intraradices*. Ce gène code un facteur de transcription fonctionnel capable de compléter un mutant *Ste12Δ* de levure. D'autres champignons MA possèdent ce gène, il s'agirait donc d'un élément de régulation commun aux Gloméromycètes. L'étude de l'expression de *GintSTE* au cours de l'interaction de *G. intraradices* avec un génotype sauvage de *Medicago truncatula* et son mutant déficient pour la mycorhization, par RT-PCR quantitative et RT-PCR *in situ*, suggère une possible implication de *GintSTE* dans la pénétration des racines par le champignon symbiotique. Cette hypothèse est soutenue par le fait que *GintSTE* restaure la capacité de pénétration d'un mutant *clste12Δ* de *Colletotrichum lindemuthianum*.

LES PLASTES DE RACINES : DES ACTEURS INDISPENSABLES AU PROCESSUS DE MYCORHIZATION

Zeina DAHER, Dominique MORANDI, Benoît SCHOEFS, Eliane DUMAS-GAUDOT

UMR 1088 INRA/CNRS 5184/U. de Bourgogne (Plante-Microbe-Environnement) INRA-CMSE.
BP 86510. 21065 Dijon Cedex France;

zdaher@dijon.inra.fr

Au cours de la symbiose mycorhizienne à arbuscules (MA), les plastes de racines présentent des changements morpho-physiologiques importants culminant avec la formation de réseaux de plastes entourant les arbuscules (Fester et al. 2001). Ces réseaux constituent des structures très dynamiques qui se modifient parallèlement à la formation et la dégradation des arbuscules. Ces réseaux seraient responsables de la biosynthèse d'une multitude de composés intervenant dans l'établissement et le fonctionnement de la symbiose.

L'activation de la biosynthèse des caroténoïdes et apocaroténoïdes secondaires, telle que la « mycorradicin », constitue un fait marquant de la réponse à la colonisation MA. Cette molécule a été décrite comme le chromophore du pigment jaune chez le maïs (Klingner et al. 1995a) et le blé (Walter et al. 2000).

Afin de mieux comprendre le rôle de la « mycorradicin » dans la symbiose MA, deux approches complémentaires ont été mises en place.

La première approche a pour objectif de relier la quantité de ce composé à l'intensité de la colonisation MA. Pour cela, des mutants hypo- et hyper-mycorhiziens de *Medicago truncatula* (Morandi et al. 2005), ont été inoculés par *Glomus intraradices* (DAOM 181602) ou par *G. mosseae* (Beg 12). Après dosage par HPLC de la « mycorradicin » dans les racines des différents mutants et évaluation des paramètres de mycorhization selon Trouvelot et al. (1986), il apparaît clairement que le taux de « mycorradicin » est corrélé à l'abondance des arbuscules. Afin de préciser la relation entre ces deux facteurs, une approche pharmacologique utilisant le Norflurazon un inhibiteur de la phytoène désaturase (Pds), enzyme de la voie de biosynthèse des caroténoïdes, a été mise en place chez le génotype sauvage de *M. truncatula* Jemalong J5 inoculé par *G. intraradices*. Outre l'effet sur la physiologie de la symbiose entraînant l'accélération de la formation des vésicules intra-radicales, l'étude protéomique a montré une régulation différentielle de certaines protéines parmi lesquelles des protéines de plastes comme l'isopentényl pyrophosphate isomérase, une autre enzyme de la voie de biosynthèse des caroténoïdes, dont la quantité est réduite en présence du Norflurazon.

Les résultats obtenus grâce à l'utilisation de ces 2 stratégies, confirment d'une part la relation existante entre l'abondance en arbuscules et la teneur en « mycorradicin » et d'autre part ils démontrent l'implication des plastes dans le déroulement du processus symbiotique.

Fester, T., Strack, D. and Hause, B. (2001) Reorganization of tobacco root plastids during arbuscule development. *Planta* 213: 864–868.

Klingner, A., Bothe, H., Wray, V. and Marner, F.J. (1995a) Identification of a yellow pigment formed in maize roots upon mycorrhizal colonization. *Phytochemistry* 38: 53–55.

Morandi D, Prado E, Sagan M, Duc G. (2005). Characterisation of new symbiotic *Medicago truncatula* (Gaertn.) mutants, and phenotypic or genotypic complementary information on previously described mutants, *Mycorrhiza* 15, 283-289.

Trouvelot, A., Kough, J. L., Gianinazzi-Pearson, V., in: Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S. (1986) (Eds.), *Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle*, Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae, INRA, France, 217-221

Walter, M.H., Fester, T. and Strack, D. (2000). Arbuscular mycorrhizal fungi induce the non-mevalonate methylerythritol phosphate pathway of isoprenoid biosynthesis correlated with accumulation of the 'yellow pigment' and other apocarotenoids. *Plant J.* 21: 571–578.

Session 4 :

Stress biotiques et abiotiques
10h20 – 12h30

10H20 – 10H40 :

Djouher Debiane

Rôle de l'endomycorhization dans la tolérance au stress oxydatif induit par les hydrocarbures polyaromatiques

10h40 – 11h00 :

Annemie Elsen

AMF-induced bioprotection against plant-parasitic nematodes : which mechanisms are responsible ?

11h00 – 11h20 :

Paul Olivier Redon

Contribution des champignons mycorhiziens à arbuscules au transfert de cadmium à la plante

11h20 – 11h40 :

Didier Doillon

Métaux lourds et champignons ectomycorhiziens : mécanismes moléculaires impliqués dans la tolérance

**ROLE DE L' ENDOMYCORHIZATION DANS LA TOLÉRANCE
AU STRESS OXYDATIF INDUIT PAR LES HYDROCARBURES POLYAROMATIQUES**

Djouher Debiane^a, Guillaume Garçon^b, Anthony Verdin^b, Joël Fontaine^a, Roger Durand^a, Pirouz Shirali^b, Anne Grandmougin-Ferjani^a and Anissa Lounès-Hadj Sahraoui^{a*}

a. Laboratoire de Mycologie/Phytopathologie/Environnement, Université du Littoral Côte d'Opale (ULCO), 17 avenue Blériot, BP 699, 62228 Calais Cedex, France

b. Laboratoire de Recherche en Toxicologie Industrielle et Environnementale, ULCO, LCE-EA2598, 189A avenue Maurice Schumann, 59140 Dunkerque, France

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), d'origine anthropique ou naturelle, forment une classe de polluants organiques ubiquistes, rémanents dans l'environnement et récalcitrants à la biodégradation. Ce sont des composés nocifs aussi bien pour l'Homme que pour l'environnement, en particulier pour les plantes. En effet, ils inhibent la germination des graines et diminuent le rendement de certaines plantes agricoles. A l'échelle cellulaire, un stress oxydatif et une perte dans l'efficacité de la photosynthèse ont été décrits.

Parmi les techniques de dépollution et de réhabilitation des sols pollués par les HAP, la phytoremédiation présente l'avantage d'être à la fois économique et écologique. Cette méthode utilise la capacité naturelle des plantes à contenir, biodégrader ou minéraliser les polluants. Les racines stimulent l'activité microbienne et modifient les propriétés physico-chimiques dans la rhizosphère. Parmi les microorganismes qui influencent les processus rhizosphériques figurent les champignons mycorhiziens à arbuscules. L'intérêt d'utiliser les endomycorhizes dans la remédiation des sols pollués est double : d'une part, elles atténuent la phytotoxicité ; d'autre part, elles améliorent l'efficacité de la dépollution des sols contaminés.

Cependant, le rôle joué par la symbiose endomycorhizienne dans la tolérance aux HAP ainsi que les cibles cellulaires affectées par ces derniers, sont peu connus. C'est pourquoi, l'impact de concentrations croissantes de deux HAP fréquemment recensés dans les sites et sols pollués, l'anthracène (HAP léger) et le benzo[a]pyrène (HAP lourd), sur l'association symbiotique : racines de chicorée transformées et cultivées *in vitro*, mycorhizées ou non par *Glomus intraradices*, a été étudié et les effets délétères de ces deux HAP a été recherché à deux niveaux : (i) morphologique par l'évaluation de la croissance racinaire (longueur racinaire et biomasse) et du développement fongique (taux de mycorhization, longueur hyphale et sporulation), et (ii) cellulaire par la recherche d'altération des membranes via la peroxydation des lipides (malondialdéhyde, MDA) et du génome via la fragmentation de l'ADN (DNA Ladder) et la formation d'adduits à l'ADN (8-hydroxy-2'-désoxyguanosine, 8-OHdG). Le dosage des enzymes du système antioxydant (peroxydases et superoxyde dismutases) a été également entrepris.

Nos résultats ont montré que les deux HAP réduisent le taux de mycorhization des racines de chicorée par *G. intraradices* ainsi que la longueur des hyphes extra-racinaires et la sporulation de façon significative. La mycorhization améliore la croissance des racines cultivées en présence du polluant suggérant une contribution positive du champignon mycorhizien à arbuscules dans la tolérance des racines aux HAP. L'endomycorhization apporterait une meilleure tolérance des racines de chicorée à ce stress abiotique en atténuant le stress oxydatif et notamment en limitant les altérations des membranes et du génome via les réductions de la peroxydation des lipides (MDA) et de la formation d'adduits à l'ADN (8-OHdG).

Mots clés : endomycorhize, *Cichorium intybus*, *Glomus intraradices*, cultures monoxéniques, anthracène, benzo[a]pyrène, HAP, stress oxydant, peroxydation lipidique, MDA, 8-OHdG

AMF-INDUCED BIOPROTECTION AGAINST PLANT-PARASITIC NEMATODES: WHICH MECHANISMS ARE RESPONSIBLE?

Annemie Elsen, Christine Vos, Dennice Gervacio, Rony Swennen & Dirk De Waele
Laboratory of Tropical Crop Production, Department of Biosystems, K.U. Leuven

Kasteelpark Arenberg 13, 3001 Leuven, Belgium

annemie.elsen@biw.kuleuven.be

Plants with a mycorrhized root system benefit from improved water and nutrient uptake, which results in enhanced growth and survival. In addition AMF can reduce the occurrence and impact of several soil pathogens and plant-parasitic nematodes. The AMF-induced bioprotection has been reported for many nematode species in a wide range of agricultural crops, but until now the mechanisms involved have seldomly been investigated for AMF-nematode interactions. In the presented study the interaction was considered between the migratory nematode *Radopholus similis* and the banana plant *Musa* cv. Grande Naine, colonized by the AMF *Glomus intraradices* or *G. mosseae*. By using a split-root experimental set-up in the first part of this study it was shown that not only a local mechanism is responsible for the bioprotective effect, but also a systemic plant response. In the second part, a step-by-step analysis based on the different nematode infection phases was used to reveal the mechanisms responsible for the AMF-bioprotective effect. First, attraction of the nematodes toward plant roots was studied in both *in vitro* and *in vivo* root exudate experiments, for which exudates were collected from mycorrhized and non-mycorrhized plants. In both experiments the non-mycorrhized exudates resulted in a neutral to attracted nematode movement while nematodes were repelled by the mycorrhized exudates. Secondly, in the penetration experiment a significantly lower *R. similis* penetration was observed in mycorrhized banana roots. Considering the results of the root exudate experiments, a changed root exudation in mycorrhized plants seems to be at least partially responsible. Finally, the nematode reproduction was studied. After 8 weeks, the final population was significantly higher in control plants, while the reproduction ratio was significantly higher in mycorrhized plants.

CONTRIBUTION DES CHAMPIGNONS MYCORHIZIENS À ARBUSCULES AU TRANSFERT DE CADMIUM À LA PLANTE

Paul-Olivier Redon, Thierry Béguiristain, Corinne Leyval

LIMOS, Laboratoire des Interactions Microorganismes-Minéraux-Matière Organique dans les Sols, UMR 7137, Nancy-Université, CNRS ; Faculté des Sciences, BP 239, 54506 Vandœuvre-lès-Nancy, Cedex, France.

Paul-Olivier.Redon@limos.uhp-nancy.fr

Parmi les éléments traces métalliques, le cadmium (Cd) peut atteindre des concentrations anormalement élevées dans certains sols de sites pollués. Or, ce métal, relativement mobile dans les sols, est toxique pour les être vivants et est de ce fait dangereux pour la santé humaine. Le transfert sol- plante du Cd et des métaux traces (éléments non dégradables et donc persistants dans l'environnement) doit donc être surveillé pour éviter toute contamination de la chaîne alimentaire et/ou envisager une dépollution des sols. Le comportement des métaux dans les sols et leur passage dans la plante dépend des propriétés du sol mais aussi des microorganismes présents dans la rhizosphère. Ainsi, les champignons mycorhiziens à arbuscules (MA) peuvent influencer le transfert des métaux à la plante. Des études ont déjà montré que ces champignons peuvent transporter différents éléments et immobiliser les métaux, dont le Cd, dans la rhizosphère. Ces champignons sont aussi connus pour leur protection vis-à-vis du stress métallique, favorisant le développement de la plante hôte sur des sites contaminés. En prenant comme plante modèle la légumineuse *Medicago truncatula*, l'effet d'un champignon MA (*Glomus intraradices*) sur le bilan de Cd (i.e. la quantité de métal exportée dans la plante et celle transférée dans les percolats) a été étudié. Une culture en pot sur différents sols contaminés en métaux a mis en évidence une capacité du champignon à accroître largement la biomasse aérienne de la plante cultivée et ainsi à augmenter la quantité de Cd exportée vers les parties aériennes même si les concentrations en Cd dans les plantes mycorhizées étaient plus faibles que dans les plantes non mycorhizées. Ainsi la mycorhization, tout en améliorant la tolérance de la plante à la toxicité des métaux, en réduisant leur concentration, permettrait d'améliorer la phytoextraction. Il est apparu que cette contribution du champignon est variable selon les caractéristiques physico-chimiques du sol. Dans une autre expérience, la comparaison de *Glomus intraradices* avec d'autres espèces et isolats de champignon MA a montré que l'effet mycorhization sur la biomasse de la plante et sur le transfert de Cd dépend aussi du champignon inoculé. Par ailleurs, des dispositifs à compartiment ont été utilisés pour séparer le champignon des racines et mesurer la capacité de plantes mycorhizées ou non à, d'une part, absorber du Cd¹⁰⁹ en solution ou, d'autre part, à accéder à différentes phases porteuses de Cd.

MÉTAUX LOURDS ET CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS : MÉCANISMES MOLÉCULAIRES IMPLIQUÉS DANS LA TOLÉRANCE

Didier Doillon, Michel Chalot & Damien Blaudez

UMR 1136 INRA UHP Interactions Arbres-Microorganismes, Faculté des Sciences, Nancy

Université, BP 239, 54506 Vandoeuvre les Nancy

La pollution des sols par les métaux lourds réduit très fortement la croissance et le développement des plantes. Cependant certaines plantes sont capables de se développer sur de tels sols, notamment grâce à la présence de symbiotes mycorhiziens. Outre une meilleure alimentation minérale pour la plante dans ces conditions de stress, cette association permet également à la plante hôte de résister aux effets délétères des métaux. Cette protection est généralement due à un transfert moindre de métaux vers les tissus des plantes ectomycorhizées, conséquence d'une adsorption et/ou accumulation très importante de métaux lourds au niveau des hyphes. Face à cette accumulation de métaux, les cellules fongiques doivent posséder des voies de détoxification efficaces (efflux, chélation, séquestration intracellulaire). Contrairement à *S. cerevisiae*, les mécanismes de tolérance aux métaux sont très peu étudiés au niveau moléculaire chez les champignons filamenteux.

Ainsi, une double stratégie (approche holistique via un criblage d'une banque de cDNA et une approche ciblée) a été employée et a mis en évidence des gènes impliqués dans la tolérance aux métaux lourds à la fois chez les champignons ectomycorhiziens et le peuplier (refs ci dessous). La fonction et la localisation de ces protéines seront présentées. De plus, un programme de métatranscriptomique de sols pollués a été initié récemment afin d'identifier de nouveaux gènes/fonctions impliqués dans la tolérance aux métaux lourds.

Références

Montanini B, Blaudez D, Jeandroz S, Sanders D, Chalot M (2007) Phylogenetic and functional analysis of the Cation Diffusion Facilitator (CDF) family: improved signature and prediction of substrate specificity. *BMC Genomics*. 8, 107.

Peiter E, Montanini B, Gobert A, Pedas P, Husted S, Maathuis JM, Blaudez D, Chalot M, Sanders D (2007) A secretory pathway-localized cation diffusion facilitator confers plant manganese tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 104, 8532-8537.

Bellion M, Courbot M, Jacob C, Guinet F, Blaudez D, Chalot M (2007) Metal induction of a *Paxillus involutus* metallothionein and its heterologous expression in *Hebeloma cylindrosporum*. *New Phytologist*, 174, 151-158.

Bellion M, Jacob C, Courbot M, Blaudez D, Chalot M (2006) Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Letters* 254, 173-181.

Kohler A, Blaudez D, Chalot M, Martin F (2004) Cloning and expression of multiple metallothioneins from hybrid poplar. *New Phytologist* 164, 83-93.

Blaudez D, Kohler A, Martin F, Sanders D & Chalot M (2003) Poplar Metal Tolerance Protein 1 confers zinc tolerance and is an oligomeric vacuolar zinc transporter with an essential leucine zipper motif. *The Plant Cell* 15: 2911-2928.

Posters

Poster 1 :

Importance des mycorhizes sous climat méditerranéen. Exemple de l'*Eucalyptus*

Djamila Adjoud-Sadadou et Rosa Halli-Hargas
adjoudjamila@yahoo.fr
halli-hargasrosa@yahoo.fr

Le climat méditerranéen est caractérisé par de longues périodes de sécheresse. L'utilisation des mycorhizes est un moyen efficace pour induire la tolérance des végétaux supérieurs aux contraintes hydriques. Cette étude est réalisée dans une plantation d'*Eucalyptus* située au nord de l'Algérie. La mycorhization d'arbres appartenant à plusieurs espèces différentes a été suivie pendant plusieurs années consécutives. Pour chaque espèce, les prélèvements de racines ont été effectués pendant toute l'année et plus particulièrement, à intervalles rapprochés, pendant les périodes les plus sèches. La mycorhization a été également quantifiée. Certaines mycorhizes sont observées même pendant les périodes les plus sèches. Les partenaires fongiques impliqués sont identifiés. Ces champignons sont isolés et serviront à la mycorhization de jeunes plants.

Références

- Walker C., Błaszkowski J., Schwazott D., Schüßler A. 2004. *Gerdemannia* gen. nov., a genus separated from *Glomus*, and Gerdemanniaceae fam. nov., a new family in the Diversisporales based on the former *Glomus scintillans*. Mycol. Res. 108(6), 707-718.
- Walker C., Schüßler A. 2004. Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota. Mycol. Res., 108, 981-982.

Poster 2 :

Effets protecteurs de la symbiose mycorhizienne à arbuscule vis-à-vis du cadmium: identification des protéines potentiellement impliquées et quantification de deux transcrits

Aloui A.^{1,2,*}, Smiti S.², Recorbet G.¹, Gollotte A.¹, Robert F.¹, Dumas-Gaudot E.¹

¹UMR 1088 INRA/CNRS 5184/UB. (*Plante-Microbe-Environnement*) INRA-CMSE. BP 86510. 21065 Dijon CEDEX, FRANCE

²Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de Tunis, Campus universitaire, 1060 Tunis, Tunisie

La symbiose mycorhizienne à arbuscules (MA) est l'une des stratégies biologiques et naturelles utilisées par les plantes pour s'acclimater ou tolérer plusieurs types de stress environnementaux parmi lesquels, la contamination des sols par le cadmium. Le cadmium (Cd) en particulier est un métal lourd très toxique pour tous les organismes même à faible concentration. Ce métal s'accumule dans l'environnement agricole, *via* les activités industrielles et humaines, incluant l'utilisation des engrais phosphatés et l'irrigation par les eaux usées. L'accumulation du Cd entrave les processus métaboliques et physiologiques de la plante. Dans le présent travail, l'effet protecteur du champignon *Glomus intraradices* sur la plante modèle *Medicago truncatula* contre la toxicité du Cd a été étudié à trois niveaux : (1) étude physiologique concernant la production de la biomasse et le développement de *G. intraradices* dans les racines, (2) étude protéomique des racines et (3) analyse de l'expression

de transcrits

La concentration de Cd de 2 ppm induit une réduction de la croissance des racines qui est atténuée chez les plantes colonisées par le champignon MA. Par ailleurs, ce métal affecte tous les paramètres de colonisation du champignon *G. intraradices*. Les changements globaux de l'accumulation des protéines des racines au cours de l'interaction symbiotique *M. truncatula*/*G. intraradices* avec ou sans traitement cadmique, sont révélés par une approche de protéomique comparative. Cette approche a montré la capacité du champignon *G. intraradices* à réduire l'accumulation des protéines induites par le cadmium, ainsi que l'augmentation de l'accumulation des protéines qui interviennent dans la limitation de la toxicité de ce dernier. Cette régulation *via* la symbiose MA est basée sur l'activation de voies de signalisations et du métabolisme, ainsi que sur la modulation de certaines protéines de défense de la plante. L'analyse par PCR quantitative ciblée sur 2 gènes codant des protéines identifiées à l'issue de l'approche protéomique (superoxyde dismutase et la thaumatin-like) dont les niveaux d'accumulation sont apparus modulés par la symbiose MA vient confirmer leur régulation au niveau génomique dans cette interaction plante-champignon-cadmium.

Poster 3 :

LOCALISATION DE L'EXPRESSION DE GENES FONGIQUES LORS DES DIFFERENTES ETAPES DE LA MYCORHIZATION : DEVELOPPEMENT DE LA METHODE DE RT-PCR *IN SITU*

Christine Arnould, Marie Tollot, Vivienne Gianinazzi-Pearson et Pascale Seddas

UMR 1088 INRA/CNRS 5184/UB. (*Plante-Microbe-Environnement*) INRA-CMSE. BP 86510. 21065
Dijon CEDEX, FRANCE
courriel arnould@diyon.inra.fr

Il n'existe pas encore actuellement de système de transformation stable pour les Gloméromycètes qui sont des symbiotes obligatoires et qui ne sont pas cultivables *in vitro*. Ainsi, les gènes fongiques impliqués dans les mécanismes moléculaires de la mise en place puis le fonctionnement de la symbiose restent encore mal connus, et l'identification de certains s'appuie sur des études d'expression *in vitro* (qPCR, RT-PCR) et d'analyses de comparaison de séquences. Du fait de l'imbrication des structures fongiques au sein des cellules végétales, peu de méthodologies permettent l'étude de la localisation des produits des gènes fongiques (immunocytochimie, hybridation *in situ*). Nous avons développé une nouvelle méthode de localisation *in situ* de gènes fongiques, la RT-PCR *in situ* fluorescente, qui est basée sur l'amplification de transcrits à l'aide d'amorces spécifiques marquées au Texas Red dans les structures fongiques et l'observation par microscopie confocale.

Cette méthode a été mise au point sur la localisation de l'accumulation des transcrits correspondant à la grande sous-unité ribosomique (*LSU-25S*) chez *Glomus intraradices*. Elle a ensuite permis de localiser l'expression, lors des différents stades de développement du champignon en interaction avec les racines de *Medicago truncatula*, de gènes fongiques intervenant dans le métabolisme des lipides (stéaroyl-CoA désaturase, *DESAT*), des protéines (péptidyl-prolyl-isomérase, *PEPISOM*) et des réactions au stress (superoxyde dismutase, *SOD*).

Grâce à cette technique nous avons pu détecter l'expression des gènes non seulement à l'intérieur des structures fongiques externes à la racine (spores, mycélium extra-radiculaire, appressoria) mais encore dans celui des structures intra-radiculaires (vésicules, arbuscules). De plus, elle a permis de mettre en évidence une expression différentielle de la *SOD* suggérant une spécialisation des tissus fongiques intra-radiculaire.

Ainsi, la méthode de RT-PCR *in situ* permet pour la première fois de relier l'expression des gènes fongiques aux structures morphologiques. Elle représente un outil fort intéressant dans la

perspective d'exploiter les données du séquençage de *G. intraradices* afin de déterminer les mécanismes moléculaires impliqués dans la symbiose mycorrhizienne.

Références

P. Seddas, C. Arnould, M. Tollot, C.M. Arias, et V. Gianinazzi-Pearson (2008) Spatial monitoring of gene activity in extraradical and intraradical developmental stages of arbuscular mycorrhizal fungi by direct fluorescent in situ RT-PCR. Fung. Gen. Biol. sous presse X

Poster 4 :

ANALYSE PHÉNOTYPIQUE ET MOLÉCULAIRE DU POTENTIEL MYCORHIZOGÈNE *IN SITU* DES CISTES ASSOCIÉS AU CHÊNE-LIÈGE AU MAROC

Salaheddine Bakkali Yakhlef., Sanae Chakir, Benaïssa Kerdouh, Daniel Mousain, Robin Duponnois et Mohamed Abourouh

Service de Sylviculture et Santé des Forêts, Centre de Recherche Forestière, Rabat, Maroc
Bakkali_yse@yahoo.fr

Au Maroc, les subéraies connaissent une régression de plus en plus inquiétante due à des contraintes comme la sécheresse et le surpâturage. La gestion du potentiel mycorhizogène « *in situ* » de la couverture végétale de cet écosystème, en l'occurrence des espèces du genre *Cistus*, pourrait promouvoir la mycorhization des jeunes plants de Chêne-liège et en conséquence améliorer leur établissement après transplantation sur le terrain. Nos recherches ont montré que les différentes espèces du genre *Cistus* -*C. salviifolius*, *C. crispus* et *C monspeliensis*- ont un statut mycorhizien double, endo- et ectomycorhizien.

L'analyse phénotypique des ectomycorhizes observées a montré l'existence de 15 morphotypes (MT) différents dont l'abondance est fortement dépendante du degré du recouvrement du milieu par la strate arborée et arbustive. Tous les MT s'observent aussi bien chez le Chêne-liège que chez les cistes.

Les 15 MT ont fait l'objet d'une analyse moléculaire par PCR/RFLP. Le produit d'amplification de l'ITS a révélé la présence d'une bande électrophorétique de poids moléculaire compris entre 600 et 800 bp. L'analyse des profils de restriction, obtenus avec les enzymes *EcoRI*, *HinfI* et *TaqI*, a permis de différencier 13 groupes au lieu de 15; les MT 8 et 10 et les MT 11 et 12 étant identiques. La comparaison des profils RFLP obtenus avec ceux des basidiomes des champignons ectomycorhiziens des subéraies déjà identifiés n'a pas permis l'identification des partenaires fongiques. Une étape supplémentaire de séquençage de l'ITS des différents MT est donc nécessaire.

Mots clés : ectomycorhizes, cistes, subéraie, ITS, PCR/RFLP.

Références

Walker C., Błaszkowski J., Schwazott D., Schüßler A. 2004. *Gerdemannia gen. nov.*, a genus separated from *Glomus*, and Gerdemanniaceae fam. nov., a new family in the Diversisporales based on the former *Glomus scintillans*. Mycol. Res. 108(6), 707-718.

Walker C., Schüßler A. 2004. Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota. Mycol. Res., 108, 981-982.

Poster 5 :

REPONSE DE L'OLEASTRE (*Olea oleaster* (Hoofg. et Link.)) ET DU SORGHO (*Sorghum vulgare* (L.)) A L'INOCULATION PAR QUELQUES MORPHOTYPES DU GENRE *Glomus* EXTRAITS DE SOLS ALGERIENS

Arifa Beddiar, Mohamed Nacer Mekahlia et Amel Meddad-Hamza

Laboratoire de Biologie végétale et environnement
université Badji Mokhtar, BP 12, 23000 Annaba, Algérie

A partir de la rhizosphère de l'oléastre (*Olea oleaster* (Hoofg. et Link.)) se développant dans quatre stations du Nord-est algérien, nous avons évalué la diversité sporale des champignons endomycorhiziens à arbuscules et extraits le morphotype le plus dominant de chaque station. Les quatre isolats ainsi obtenus appartenant au genre *Glomus* ont été inoculés sous forme de spores à des plantules de Sorgho (*Sorghum vulgare* (L.)) issues de graines prégermées axéniquement. Les racines colonisées de Sorgho ont servi à leur tour à l'inoculation des plantules d'oléastre. Parallèlement, un traitement inoculé par *Glomus claroideum* (souche de la B.E.G. 23) et un traitement non inoculé ont été prévus.

Après 5 semaines de croissance pour le Sorgho et 5 mois pour l'oléastre, l'estimation de la colonisation endomycorhizienne à arbuscules et la mesure des paramètres de croissance ont révélé des différences très hautement significatives par rapport au témoin et entre les différents inoculats. Ils traduisent de ce fait l'importance du rôle des endomycorhizes arbusculaires dans la croissance de ces plantes et suggèrent de multiplier les tests d'inoculation afin de sélectionner les souches les plus performantes en matière de production végétale.

Poster 6 :

MÉTAUX LOURDS ET CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS : MÉCANISMES MOLÉCULAIRES IMPLIQUÉS DANS LA TOLÉRANCE

Didier Doillon, Michel Chalot & Damien Blaudez

UMR 1136 INRA UHP Interactions Arbres-Microorganismes, Faculté des Sciences, Nancy
Université, BP 239, 54506 Vandoeuvre les Nancy

La pollution des sols par les métaux lourds réduit très fortement la croissance et le développement des plantes. Cependant certaines plantes sont capables de se développer sur de tels sols, notamment grâce à la présence de symbiotes mycorhiziens. Outre une meilleure alimentation minérale pour la plante dans ces conditions de stress, cette association permet également à la plante hôte de résister aux effets délétères des métaux. Cette protection est généralement due à un transfert moindre de métaux vers les tissus des plantes ectomycorhizées, conséquence d'une adsorption et/ou accumulation très importante de métaux lourds au niveau des hyphes. Face à cette accumulation de métaux, les cellules fongiques doivent posséder des voies de détoxification efficaces (efflux, chélation, séquestration intracellulaire). Contrairement à *S. cerevisiae*, les mécanismes de tolérance aux métaux sont très peu étudiés au niveau moléculaire chez les champignons filamenteux.

Ainsi, une double stratégie (approche holistique via un criblage d'une banque de cDNA et une approche ciblée) a été employée et a mis en évidence des gènes impliqués dans la tolérance aux métaux lourds à la fois chez les champignons ectomycorhiziens et le peuplier (refs ci dessous). La fonction et la localisation de ces protéines seront présentées. De plus, un programme de

métatranscriptomique de sols pollués a été initié récemment afin d'identifier de nouveaux gènes/fonctions impliqués dans la tolérance aux métaux lourds.

Références

- Montanini B, Blaudez D, Jeandroz S, Sanders D, Chalot M (2007) Phylogenetic and functional analysis of the Cation Diffusion Facilitator (CDF) family: improved signature and prediction of substrate specificity. *BMC Genomics*. 8, 107.
- Peiter E, Montanini B, Gobert A, Pendas P, Husted S, Maathuis JM, Blaudez D, Chalot M, Sanders D (2007) A secretory pathway-localized cation diffusion facilitator confers plant manganese tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 104, 8532-8537.
- Bellion M, Courbot M, Jacob C, Guinet F, Blaudez D, Chalot M (2007) Metal induction of a Paxillus involutus metallothionein and its heterologous expression in *Hebeloma cylindrosporum*. *New Phytologist*, 174, 151-158.
- Bellion M, Jacob C, Courbot M, Blaudez D, Chalot M (2006) Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Letters* 254, 173-181.
- Kohler A, Blaudez D, Chalot M, Martin F (2004) Cloning and expression of multiple metallothioneins from hybrid poplar. *New Phytologist* 164, 83-93.
- Blaudez D, Kohler A, Martin F, Sanders D & Chalot M (2003) Poplar Metal Tolerance Protein 1 confers zinc tolerance and is an oligomeric vacuolar zinc transporter with an essential leucine zipper motif. *The Plant Cell* 15: 2911-2928.

Poster 7 :

MODIFICATIONS PAR LE FENPROPIMORPHE DU METABOLISME STEROLIQUE DES PARTENAIRE DE LA SYMBIOSE ENDOMYCORHIZIENNE ARBUSCULAIRE.

Campagnac E., Fontaine J., Lounès-Hadj Sahraoui A., Durand R., Grandmougin A.

Laboratoire de Mycologie-Phytopathologie-Environnement Université du Littoral CALAIS
joel.fontaine@univ-littoral.fr

Les fongicides sont largement utilisés en agriculture pour préserver les plantes des maladies fongiques. Leur utilisation répétée provoque leur accumulation dans les sols qui, à terme, peut avoir des conséquences néfastes sur les organismes non-cibles tels que les champignons mycorhiziens à arbuscules et sur la croissance des plantes par limitation du bon fonctionnement de la symbiose. L'impact de ces pesticides sur la symbiose endomycorrhizienne a déjà été largement étudié mais les résultats décrits présentent de grandes disparités, principalement dues à la diversité des conditions expérimentales utilisées. L'utilisation des cultures monoxéniques offre de nombreux avantages et en particulier, la standardisation de l'application des produits testés ainsi que l'accessibilité au champignon extraracinaire sans destruction du matériel biologique.

S'appuyant sur ce système de culture, l'objectif de ce travail était de mesurer l'impact d'un fongicide inhibiteur de la biosynthèse des stérols (IBS), le fenpropimorphe, sur la symbiose endomycorrhizienne et de mettre en relation cet impact avec d'éventuelles modifications du métabolisme stérolique cible.

Le fenpropimorphe, directement ajouté au milieu de culture à différentes concentrations (0,02 ; 0,2 et 2 mg.L⁻¹) a été testé soit (i) en boîte mono-compartmentée sur des racines de carotte (*Daucus carota*) transformées par *Agrobacterium rhizogenes* et colonisées ou non par *Glomus intraradices*, soit (ii) en boîte bi-compartmentée, sur uniquement le champignon extraracinaire.

Lorsque les racines colonisées ou non par *G. intraradices* sont cultivées en présence de fenpropimorphe, une inhibition de la croissance racinaire est observée. Cette phytotoxicité du fenpropimorphe semble être liée au remplacement des stérols de fin de chaîne (Δ^5 -stérols) par des stérols anormaux (9 α ,19-cyclopropylstérols, $\Delta^{7,8}$ -stérols, Δ^8 -stérols et Δ^7 -stérols), et à une chute

de la quantité totale de stérols. Dans ce cas, l'inhibition du développement fongique observée est probablement liée au mauvais état physiologique de la plante.

Lorsque le champignon extraracinaire est seul en contact avec le fenpropimorphe, une inhibition du développement fongique est également observée. Aucune modification du profil stérolique n'a été mise en évidence et seule une chute de la quantité totale des stérols ainsi qu'une accumulation d'un précurseur, le squalène, ont été observées. La squalène époxidase, qui n'est pas une cible habituelle du fenpropimorphe, semble être inhibée.

Poster 8 :

PROTEOMIQUE DE LA VIGNE MYCORHIZEE

Maguida Fabiana da Silva, Gabriela Claudia Cangahuala-Inocente, Diederik van Tuinen, Paolo Emilio Lovato & Eliane Dumas-Gaudot

Afin d'explorer les mécanismes moléculaires de protection intervenant lors de la colonisation de racines de *Vitis Vinifera* colonisées par des champignons mycorrhizogènes à arbuscules (MA), une analyse comparative du protéome des racines de vigne mycorrhizées ou non a été développée. Parallèlement, l'effet de la bactérie *Paenibacillus* sp. souche B2, précédemment isolée de la mycorrhizosphère de sorgho colonisés par *Glomus mosseae* [1], sur le protéome des racines de *V. vinifera*, ainsi que de son facteur antagoniste a été étudié. En effet, cette bactérie, compatible avec la colonisation MA, produit un facteur antagoniste la paeninyxine ayant un large spectre d'action vis-à-vis de bactéries et de champignons pathogènes [2] et qui se révèle donc un biopesticide polyvalent capable, dans certain cas, de stimuler la colonisation MA [1]. Une telle approche non ciblée, outre qu'elle devrait permettre d'identifier des protéines reliées à la symbiose MA et donc d'élargir nos connaissances de ces protéines à une espèce végétale ligneuse encore non étudiée (*Vitis vinifera*), pourrait conduire à identifier des protéines spécifiques de la réponse de cette plante à *Paenibacillus* sp. souche B2 et/ou à l'application de la paenimixine. Après 30 jours d'enracinement, des boutures herbacées du porte-greffe SO₄ ont été transplantées dans un substrat stérile [sol d'Époisses/ terragreen (v/v)] supplémenté ou non de l'inoculum de *G. intraradices* (DAOM 181602) ou de *G. mosseae* (BEG12). Une partie des plantes inoculées ou non par les champignons MA ont reçu une suspension de *Paenibacillus* sp. souche B2 ou une solution de paenimixine. Les plantes sont cultivées pendant 5 semaines en conditions contrôlées. L'évaluation de la biomasse des plantes et de leur colonisation ainsi que l'analyse des protéines totales des racines après leur séparation en électrophorèse 2-DE ont été réalisés. Pour les 2 isolats fongiques, la mycorrhization a des effets positifs sur la croissance des plantes, sans effet significatif de l'apport de la bactérie ou de la paenimixine. Au niveau protéique, la symbiose mycorrhizienne se traduit par l'accumulation différentielle de nombreux spots protéiques, tandis que l'interaction tripartite (racine/champignon MA/bactérie) n'affecte le protéome symbiotique que de façon limitée, avec néanmoins une augmentation du nombre de spots protéiques dont leurs volumes sont modifiés lorsque les racines ont été colonisées et traitées par *Paenibacillus* et/ou la paenimixine. A l'issue de ces analyses, 172 spots ont été prélevés pour être identifiés par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Le travail engagé représente à ce jour la plus large étude, en terme de nombre d'identification escomptées, réalisée en vue d'identifier les modifications protéiques suite à la colonisation MA d'une espèce ligneuse ayant un intérêt économique évident.

Références

Budi, S. W.; van Tuinen, D.; Martinotti, G.; Gianinazzi, S. 1999 Isolation from the *Sorghum bicolor* mycorrhizosphere of a bacterium compatible with arbuscular mycorrhiza development and antagonistic towards soilborne fungal pathogens. Applied and Environmental Microbiology, 65, 5148–5150,

Selim, S., J. Negrel, C. Govaerts, S. Gianinazzi, van. Tuinen, D.. 2005. Isolation and partial characterization of antagonistic peptides produced by *Paenibacillus* sp. strain B2 isolated from the sorghum mycorrhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 71:6501-6507.

Poster 9 :

IMPACT DU PHÉNANTHRÈNE SUR LES MICROORGANISMES SYMBIOTIQUES CHEZ LE TREFLE VIOLET (*TRIFOLIUM PRATENSE*), COMPARAISON ENTRE UNE POLLUTION LOCALISÉE DU SOL ET UNE POLLUTION ATMOSPHÉRIQUE DIFFUSE

Dorine Desalme, Philippe Binet, Geneviève Chiapusio, Nadine Bernard, Marie-Laure Toussaint, Daniel Gilbert

**UMR CNRS 6249 Chrono-Environnement, Université de Franche Comté,
4 place Tharradin, 25211 Montbéliard cedex**

ddesalme@univ-fcomte.fr

Les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) sont des polluants organiques formés de deux à six cycles aromatiques. Ils posent un réel problème environnemental et sanitaire du fait de leur caractère ubiquistes, de leur persistance dans les milieux et de leurs effets mutagènes et cancérogènes. Aussi, les contaminations en HAP peuvent être soit localisées, conséquences des activités industrielles et de l'enfouissement des déchets, soit diffuses via le transport atmosphérique sur de longues distances de ces composés. L'impact des HAP sur les écosystèmes terrestres est alors susceptible de varier en fonction de la nature de la contamination.

L'objectif de ce travail est donc de comparer l'impact de ces deux sources de contamination en HAP sur les milieux en utilisant le même système sol-plante-microorganismes symbiotiques. Pour cela, les 2 modes de contamination ont été simulés en incorporant artificiellement un HAP modèle, le phénanthrène (PHE), dans un sol agricole.

D'une part, afin de simuler une contamination industrielle, le sol a reçu 1000 mgPHE/kgMS et a été stabilisé pendant 2 mois avant de servir de support à la culture de Trèfle violet (*Trifolium pratense*) dans des pots en plastique pendant un mois. D'autre part, des pots contenant des cultures de Trèfle violet dans du sol non contaminé ont été introduits dans des enceintes parcourues par un flux d'air enrichi ou non en phénanthrène, exposant les microcosmes à une contamination atmosphérique diffuse de 0,15 mgPHE/m³.

Après l'arrêt de l'exposition, le nombre de nodules totaux et actifs a été calculé pour chaque pot, ainsi que l'intensité de l'infection des racines par les champignons endomycorhiziens à arbuscules et vésicules. Les biomasses et les concentrations en HAP dans les tissus végétaux et le sol ont également été mesurées par pot. L'infection mycorhizienne diminue de manière significative (de 10% à 0%) dans les racines des Trèfles au contact d'un sol pollué industriellement, tandis que le nombre de nodules actifs/100mgMS augmente (x 1,4) par rapport aux pots témoins (Chiapusio *et al.*, 2007). L'impact de la pollution diffuse en HAP sur les symbiontes est plus modéré, mais les premiers résultats montrent une tendance similaire dans le 1^{er} centimètre de sol. Ces premières observations mettent en évidence une sensibilité différente des deux symbiontes au phénanthrène pour les deux modes d'exposition étudiés. De plus, tandis que la biomasse des plantes n'est pas affectée par la pollution industrielle en PHE, on observe une diminution significative de la biomasse des parties aériennes dans le cas de la pollution atmosphérique diffuse.

Les futures investigations chercheront à préciser le lien entre les réponses des symbiontes

Poster 10 :

EFFET DE L'ESSENCE FORESTIERE SUR LA DIVERSITE FONCTIONNELLE ET TAXONOMIQUE DES COMMUNAUTES FONGIQUES ECTOMYCORHIZIENNES

Coralie Damon, Laurence Fraissinet-Tachet et Roland Marmeisse.

Université de Lyon, UMR CNRS 5557 USC 11 97 INRA Laboratoire d'Ecologie Microbienne, Equipe Symbiose Mycorhizienne, Bât Lwoff, 43 Bd du 11 Novembre 1918, 69622 VILLEURBANNE cedex, France. fraissin@univ-lyon1.fr

Au sein des écosystèmes forestiers, les communautés fongiques du sol jouent un rôle essentiel dans le recyclage de la matière organique et participent au cycle des nutriments, qui sont des processus fondamentaux écosystémiques. Les champignons saprotrophes dégradent les polymères végétaux de la litière, tandis que les champignons ectomycorhiziens s'associent en symbiose avec les racines des arbres. La structure taxonomique des communautés de champignons ectomycorhiziens est bien connue et se caractérise par une importante diversité taxonomique (Horton et Bruns, 2001). La diversité fonctionnelle de ces communautés est moins bien connue. La composition en arbre a un rôle important sur l'activité et la composition des communautés microbiennes du sol (Hättenschwiler *et al.*, 2005). L'objectif de notre étude est de comparer l'impact de deux essences forestières, un conifère (l'épicéa, *Picea abies*) et un feuillu (le hêtre, *Fagus sylvatica*) sur la diversité taxonomique et fonctionnelle des communautés de champignons ectomycorhiziens. L'approche utilisée est l'étude des extrémités racinaires ectomycorhiziées (apex) de ces deux espèces d'arbres. La diversité taxonomique est déterminée par typage morphologique puis moléculaire (ITS-RFLP, séquençage de l'ITS) de ces apex. La diversité fonctionnelle est caractérisée par la mise en œuvre de méthodes de dosage haut débit d'activités enzymatiques mesurées sur les apex (Courty *et al.*, 2005 ; Pritsch *et al.*, 2004). Les activités enzymatiques étudiées sont représentatives d'activités permettant la dégradation des parois végétales, la mobilisation de l'azote et du phosphore organique. Les campagnes de prélèvement ont été réalisées sur un site expérimental instrumenté du Morvan, la forêt de Breuil (Ranger, 2004) à raison de deux campagnes par an (au printemps et en automne) sur 2 ans. Les premiers résultats montrent des communautés fongiques ectomycorhiziennes différentes selon l'espèce d'arbre, avec seulement 21.3% d'espèces communes entre les deux communautés. L'activité enzymatique varie de façon saisonnière, avec globalement des activités plus fortes au printemps (en particulier l'activité phosphatase). Les activités les plus fortes correspondent aux activités phosphatase, chitinase et glucosidase. Enfin, on observe une corrélation entre les activités de dégradation de la paroi végétale (cellobiohydrolase, glucosidase et xylosidase).

Références

- Horton T.R., Bruns T.D. 2001. The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Mol. Ecol.* 10, 1855-1871.
- Hättenschwiler S., Tiunov A.V. & S. Scheu (2005). Biodiversity and litter decomposition in terrestrial ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36:191-218.
- Courty P.E., Pritsch K., Schloter M., Hartmann A., Garbaye J. 2005. Activity profiling of ectomycorrhiza communities in two forest soils using multiple enzymatic tests. *New Phytol.* 167, 309-319.
- Pritsch K., Raidl S., Marksteiner E., Blaschke H., Agerer R., Schloter M., Hartmann A. 2004. A rapid and highly sensitive method for measuring enzyme activities in single mycorrhizal tips using 4-methylumbelliferone-labelled fluorogenic substrates in a microplate system. *J. Microbiol. Methods.* 58, 233-241.
- Ranger J., Andreux F., Bienaimé S., Berthelin F., Bonnaud P. 2004. Effet des substitutions d'essence sur le fonctionnement organo-minéral de l'écosystème forestier, sur les communautés microbiennes et sur la diversité des communautés fongiques mycorhiziennes et saprophytes (cas du dispositif expérimental de Breuil – Morvan).

Poster 11 :

**Inoculation de souches de symbiotes ectomycorhiziens en plantations :
persistance et impacts sur les communautés fongiques**

GEOFFROY Alexandre

16 rue Durand, 34000 Montpellier alex21.geoffroy@poste.net

Les pratiques d'inoculation de symbiotes se heurtent souvent à la survie et à la persistance de l'intégrité génétique de l'inoculum. Il est nécessaire d'estimer aussi l'impact sur la biodiversité indigène du sol. Un aménagement forestier utilisant des souches de *Lactarius deliciosus*, champignon ectomycorhizien spécifique des pins, inoculées en pépinière sur pins de Salzmann, nous a permis d'étudier ce point, tout en améliorant notre connaissance de la biologie des populations. La survie de deux souches inoculées, D45 et D70, a été étudiée 8 ans après transplantation au Col de Portes (Gard, France). L'échantillonnage des ectomycorhizes de 21 pins (7 de chaque inoculation, 7 non inoculés) suivi de morphotypage et d'analyse par PCR-RFLP et séquençage sur l'ITS ont montré un cortège fait de 13 espèces, dont *L. deliciosus*. L'analyse populationnelle, effectuée sur les ectomycorhizes à l'aide de 6 marqueurs microsatellites mis au point, confirme la présence des souches introduites sous 5 des pins inoculés mais également la colonisation d'un arbre témoin par la souche D45 ; aucun génotype local ne colonise les racines. La diversité de la communauté ectomycorhizienne, associée aux arbres inoculés ou non, n'est pas différente mais sa composition varie. Les corrélations entre *L. deliciosus* et les autres espèces suggèrent de possibles exclusions compétitives de certaines espèces, comme les rhizopogons ou les théléphores, mais une synergie avec les Russules que l'on retrouve seulement sur les arbres inoculés. L'analyse de la population naturelle récoltée autour du site, indique une population allogame, en panmixie, plus proche du clone D70 que du clone D45, mais aucun phénomène d'hybridation n'est détecté. Ceci démontre l'efficacité à court terme de l'inoculation, mais ne renseigne pas sur les impacts à long terme.

Mots clés : champignons ectomycorhiziens, communautés fongiques, *Lactarius deliciosus*, microsatellites, Pin de Salzmann, persistance d'inoculum, populations fongiques, régime de reproduction.

Poster 11 :

**EFFET DE LA MYCORHIZATION ARBUSCULAIRE SUR LE DEVELOPPEMENT
RACINAIRE DE L'OLIVIER (*Olea europaea* L.)
ET SA TOLERANCE AU STRESS**

Amel Meddad-Hamza¹, Arifa Beddiar¹, Marie-Claude Lemoine², Armelle Gollotte², Marie Noëlle Binet³ & Silvio Gianinazzi³

¹ Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar- Annaba, Algérie

² CRITT Agro-Environnement, INRA, 17 rue Sully 21065 Dijon Cedex- France

³ UMR INRA/CNRS /UB, Plante-Microbe-Environnement, CMSE-INRA, BP 86510, 21065 Dijon Cedex- France

La production *in vitro* de micro-boutures d'oliviers est une biotechnologie en développement, car mieux adaptée aux nouvelles pratiques de production. Les plants ainsi

obtenus sont de très bonne qualité, mais leur passage à des conditions de culture habituelles, source de stress, est parfois délicat.

L'inoculation des micro-boutures à la sortie de l'*in vitro* avec des champignons mycorrhizogènes, connus pour leur rôle dans l'atténuation de stress aussi bien biotiques que abiotiques, peut représenter une alternative intéressante aux traitements chimiques.

Ainsi nous avons comparé des *vitroplants* d'oliviers ayant reçu un apport d'engrais chimiques (osmocote) avec d'autres inoculés par le champignon mycorrhizogène, *Glomus mosseae*, isolé à partir d'oliveraies algériennes. Les résultats montrent, que pour un développement comparable de la partie aérienne, le système racinaire est bien plus développé (environ le double) chez le plant mycorrhizé. Cette modification du rapport racine/tige permet au plant de mieux utiliser les ressources naturelles du sol tout en renforçant sa capacité à résister, notamment après rempotage, au stress hydrique. Parallèlement une technique moléculaire de détection de *G. mosseae* pour son suivi au champ a été développée.

References

M. N. Binet & M. C. Lemoine & C. Martin & C. Chambon & S. Gianinazzi, 2007. Micropropagation of olive (*Olea europaea* L.) and application of mycorrhiza to improve plantlet establishment. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 43, 473-478

Poster 12 :

DISPERSION ET COLONISATION CHEZ LE CHAMPIGNON ECTOMYCORRHIZIEN *TRICHOLOMA SCALPTURATUM* : VERS UNE APPROCHE MULTI-ECHELLES

Fabian Carriconde, Monique Gardes, Patricia Jargeat, Bello Mouhamadou et Hervé Gryta

Laboratoire Evolution et Diversité Biologique, UMR 5174 Université Toulouse3-CNRS-ENFA, Bât. 4R3 - 118, route de Narbonne - 31062 Toulouse Cedex 9 -France fcarrico@cict.fr, gardes@cict.fr, jargeat@cict.fr, gryta@cict.fr

Les capacités de dispersion, d'établissement et de colonisation sont des traits biologiques fondamentaux qui façonnent la distribution de la diversité dans les populations et les communautés. L'incidence de ces traits sur la structure génétique à différentes échelles spatiales est recherchée chez *Tricholoma scalpturatum*. Ce champignon basidiomycète cosmopolite forme des ectomycorhizes avec de nombreux arbres et arbustes des régions tempérées. Des études de populations (Gryta *et al* 2006; Carriconde *et al* 2008) et du polymorphisme mitochondrial dans le genre *Tricholoma* (Mouhamadou *et al* 2008) suggèrent que ce morphotaxon est un complexe d'au moins 2 espèces cryptiques (ou groupes génétiques) à large aire de répartition.

Les objectifs sont : (1) examiner la diversité intraspecificque du morphotaxon et des deux groupes génétiques; (2) étudier la distribution de la diversité génétique à différentes échelles spatiales (locales à continentales) et (3) inférer les stratégies de colonisation et les capacités de dispersion des individus pour les deux groupes génétiques. Afin d'examiner la diversité génétique sur une large échelle géographique, 30 populations ont été étudiées en Europe de l'Ouest. Pour l'étude locale, 2 sites du sud-ouest de la France ont été suivis sur 3 ans. Les carpophores récoltés ont été caractérisés par séquençage de l'ITS, par PCR-RFLP de l'ITS et de l'IGS et par ISSR.

Une très grande diversité génétique caractérise les deux groupes. Cependant, quel que soit le groupe génétique, les populations sont très différenciées les unes des autres. Cette forte structuration à l'échelle de l'Europe suggère des limitations dans les échanges de gènes entre sites.

Les suivis de populations locales des deux groupes ont montré que la colonisation de l'habitat repose sur un investissement très important dans la production de spores sexuées. Des analyses d'autocorrélations spatiales ont aussi montré un apparentement très fort des génets proches spatialement. Cette forte structure génétique spatiale suggère une dispersion efficace seulement sur de faibles distances et/ou des effets fondateurs marqués. Ces deux faits pourraient expliquer les fortes différenciations entre populations trouvées à l'échelle de l'Europe.

Références

- Carriconde F., Gardes M., Jargeat P., Heilmann-Clausen J., Mouhamadou B., Gryta H. 2008. Population evidence of cryptic species and geographical structure in the cosmopolitan ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma scalpturatum*. *Microb. Ecol.*, DOI: 10.1007/s00248-008-9370-2.
- Gryta H., Carriconde F., Charcosset J.Y., Jargeat P., Gardes M. 2006. Population dynamics of the ectomycorrhizal fungal species *Tricholoma populinum* and *Tricholoma scalpturatum* associated with black poplar under differing environmental conditions. *Envir. Microbiol.*, 8, 773-786.
- Mouhamadou B., Carriconde F., Gryta H., Jargeat P., Manzi S., Gardes M. 2008. Molecular evolution of mitochondrial ribosomal DNA in the fungal genus *Tricholoma*: barcoding implications. FGB, √ sous presse

Poster 13 :

RECHERCHE DE MÉTHODES POUR AUGMENTER LA TOLÉRANCE DU FRAMBOISIER À *PHYTOPHTHORA FRAGARIAE*: AMÉLIORATION GÉNÉTIQUE ET BIOTISATION

Julie LAURENT¹, Armelle GOLLOTTE¹, Silvio GIANINAZZI², Marie-Claude LEMOINE¹

¹CRITT Agro-Environnement, INRA 17 rue de Sully, 21065 Dijon cedex ju_laurent@orange.fr

²UMR PME, INRA/CMSE, 17 rue de Sully 21065 Dijon cedex

Depuis les années 1980, les pertes des producteurs de framboises causées par le champignon pathogène *Phytophthora fragariae* var. *rubi* sont devenues un problème majeur. Ce microorganisme apparu il y a environ 40 ans s'est très vite répandu en Europe du fait de la commercialisation de plants infectés. Aujourd'hui, aucun moyen de lutte n'est réellement satisfaisant puisque l'usage de produits chimiques est inefficace et qu'il faut se contenter de mesures prophylactiques. C'est dans ce contexte que le CRITT Agro-Environnement de Dijon mène un programme national d'hybridation à la demande de la filière petits fruits dont l'un des critères de sélection est de créer des variétés résistantes aux maladies. Cette étude a pour but d'établir un test normalisé de tolérance des framboisiers (*Rubus idaeus*) face à *P. fragariae* var. *rubi*. Pour cela différentes variétés de framboisiers sont inoculées *in vitro* avec des doses croissantes des zoospores de l'agent pathogène dans le but de suivre l'apparition des symptômes. Les effets potentiellement protecteurs du champignon mycorrhizogène *Glomus intraradices* combiné ou non avec un fertilisant biologique sont également étudiés dans le cadre d'une expérimentation en serre. En parallèle, des essais sont en cours afin d'optimiser la biotisation (Gianinazzi *et al.*, 2003) du framboisier *in vitro* au moyen de spores obtenues en conditions axéniques. A terme, ces expérimentations permettraient de cribler des hybrides issus de croisements afin d'obtenir des variétés plus tolérantes à *P. fragariae* var. *rubi*.

Référence

- Gianinazzi S., Oubaha L., Chahbandar M., Blal B., Lemoine M.C. 2003. Biotization of microplants for improved performance. Dans : "Proceedings of the XXVI International Horticultural Congress: Biotechnology in Horticultural crop Improvement : achievement, opportunities and limitations", Hammerschlag FA, Saxena P (eds). ISHS, Acta Horticulturae, Belgium, 625: 165-172.

Poster 14 :

TRANSPORT DE COMPOSÉS AZOTÉS CHEZ *LACCARIA BICOLOR* : EXEMPLE DE LA FAMILLE DE TRANSPORTEURS D'AMMONIUM (AMT)

Eva Lucic et al.,

UMR INRA/UHP 1136 Interactions Arbres/Microorganismes, Université Nancy I, BP 239,
54506 Vandoeuvre-les-Nancy Cedex, France

Dans les conditions naturelles, la majorité des espèces végétales développent des associations mycorhiziennes avec certains champignons du sol, qui contribuent à une meilleure nutrition hydrominérale de la plante hôte. Les espèces fongiques impliquées dans cette symbiose diffèrent par leurs capacités de mobilisation, d'acquisition, d'assimilation et de transfert d'éléments azotés à la plante, fonctions qui restent encore largement inconnues. Le séquençage récent du génome du basidiomycète modèle *Laccaria bicolor* S238N offre l'opportunité de mieux comprendre quels sont les gènes/protéines qui jouent un rôle clé dans ces différentes fonctions et notamment comment la régulation de ces gènes permet au symbionte fongique de s'adapter à des conditions environnementales changeantes. Une large approche phylogénétique des familles et l'étude de la régulation des gènes par des approches globales ont permis de construire un répertoire de gènes modèles codant des protéines impliquées dans le transport de composés azotés. 128 gènes modèles ont été mis en évidence, dont 92% présentent des taux de transcrits détectables. L'annotation du « transportome » de *Laccaria bicolor* a également montré une remarquable expansion de certaines familles de transporteurs. C'est le cas de transporteurs d'ammonium de la famille AMT (8 gènes modèles), avec en particulier une remarquable multiplicité des gènes du sous-groupe AMT2, comparée à d'autres espèces basidiomycètes. En revanche, un seul transporteur de nitrate a été identifié. Ces données laissent penser que *Laccaria bicolor* utilise préférentiellement l'ammonium comme source d'azote inorganique. La caractérisation fonctionnelle des AMT par complémentation fonctionnelle en système hétérologue (levure), a permis de confirmer la fonction de 5 des gènes modèles, ainsi que leurs caractéristiques cinétiques. Des analyses d'expression globale et ciblées ont été réalisées dans des situations contrastées, d'une part sur du mycélium en culture pure, et d'autre part sur des ectomycorhizes. La réponse à la carence azotée a également été étudiée dans ces situations. Certains de ces transporteurs sont fortement surexprimés en carence azotée, ainsi qu'au niveau des mycorhizes, en particulier LbAMT2.2. Les résultats obtenus montrent que *Laccaria bicolor* est capable d'accroître ses capacités d'absorption d'ammonium lors d'une carence et suggèrent que des mécanismes de régulation génique sont bien impliqués dans la capacité d'adaptation du champignon à un environnement hétérogène.

Références

Lucic E, Fourrey C, Kohler A, Martin F, Chalot M, Brun-Jacob A. 2008. A gene repertoire for nitrogen transporters in *Laccaria bicolor*. *New Phytologist in press*

Martin F, Aerts A, Ahrén D, Brun A, Duchaussoy F, Kohler A, Lindquist E, Salamov a, Shapiro HJ, Wuyts J, Blaudez D, Buée M, Brokstein P, Canbäck P, Cohen D, Courty P, Coutinho P, Danchin E, Delaruelle C, Detter J, Deveau A, DiFazio S, Duplessis S,

Poster 15 :**PRODUCTION DU FRAMBOISIER: BIOTISATION ET ASSURANCE QUALITÉ****Louis MERCY¹, Armelle GOLLOTTE¹, Silvio GIANINAZZI², Marie-Claude LEMOINE¹**¹CRITT Agro-Environnement, INRA, 17 rue de Sully 21065 Dijon cedex loumercy@wanadoo.fr²UMR PME, INRA/CMSE, 17 rue de Sully 21065 Dijon cedex

Dans un contexte de développement durable, l'agriculture doit modérer l'emploi d'intrants. La directive européenne 92/34/EEC impose par ailleurs un control sur l'état sanitaire du matériel végétal vendu dans l'Union Européenne, pour limiter, entre autres, la propagation des champignons phytopathogènes. Seules des mesures prophylactiques, telles que fournir des plantes saines, semblent satisfaire à la problématique. Pour cela, un test de détection par PCR (Polymerase Chain Reaction) gigogne a été mis au point pour *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, l'un des principaux agents pathogènes du framboisier. Il est désormais possible d'établir un diagnostic à partir de racines, de substrats de culture et de sols, et ce, à travers toutes les étapes de production. Une approche complémentaire est de chercher à protéger les plantes par la biotisation, une biotechnologie qui consiste à les inoculer avec des micro-organismes bénéfiques qui améliorent leur survie, tout en stimulant leur croissance (Gianinazzi *et al.*, 2003). Des expériences de biotisation avec des champignons mycorrhizogènes ont été menées sur 2 variétés de framboisier (*Rubus idaeus*), *Meeker* et *Heritage*. La qualité de la biotisation a été estimée par 2 méthodes, suivies en parallèle : la mesure du taux de mycorrhization et la détection par PCR gigogne des champignons mycorrhizogènes. Nous avons également évalué la qualité de différents inocula mycorrhizogènes par la mesure du nombre le plus probable de propagules, et également par PCR gigogne. Les résultats révèlent que la qualité de l'inoculum, le substrat de culture, la nature du sol en champ et le moment de l'inoculation influencent l'efficacité de la biotisation ainsi que sa stabilité dans le temps. Cette étude s'intègre dans une démarche de transfert de technologie, d'assurance qualité et de normalisation à destination des pépiniéristes, pour la production en routine de plants biotisés et certifiés indemnes de *P. fragariae* var. *rubi* ; et des producteurs de fruits pour la mise en place et la conduite de leurs vergers.

Références

Gianinazzi S., Oubaha L., Chahbandar M., Blal B., Lemoine M.C. 2003. Biotization of microplants for improved performance. Dans : "Proceedings of the XXVI International Horticultural Congress: Biotechnology in Horticultural crop Improvement : achievement, opportunities and limitations", Hammerschlag FA, Saxena P (eds). ISHS, Acta Horticulturae, Belgium, 625: 165-172.

Poster 16 :**CARACTERISATION D'UN NOUVEAU MUTANT EMS À FORTE DÉPENDANCE MYCOHIZIENNE CHEZ *MEDICAGO TRUNCATULA*****Dominique Morandi**

UMR UMR INRA 1088/CNRS 5184/U.Bourgogne Plante-Microbe-Environnement,
INRA-CMSE, BP 86510, 21065 DIJON CEDEX, France
[courriel morandi@dijon.inra.fr](mailto:courriel.morandi@dijon.inra.fr)

Après une campagne de mutagenèse chimique à l'éthyl méthyl sulfonate, effectuée sur la lignée A17 de la variété Jemalong de *Medicago truncatula*, on a sélectionné un mutant (B9) présentant un développement racinaire réduit et fortement ramifié. Une comparaison avec la lignée sauvage A17 sur la croissance de la partie aérienne après inoculation par *Glomus intraradices* a

mis en évidence une dépendance mycorhizienne environ 2 fois plus élevée que chez le géotype sauvage, associée à un taux de colonisation supérieur de l'ordre de 30% en longueur et de 20% en arbuscules. De plus, l'analyse des racines en isoflavonoïdes a montré une teneur environ 20 fois plus importante en coumestrol chez B9 comparé à la lignée sauvage A17.

Connaissant le rôle que peut jouer le coumestrol dans la signalisation symbiotique – il est un inhibiteur des gènes de nodulation chez *Sinorhizobium meliloti* (Zuanazzi et al. 1998)) et il stimule la croissance des hyphes de germination de *Gigaspora margarita* (Morandi et al. 1992) – on peut se demander s'il est pourrait jouer un rôle dans la meilleure colonisation mycorhizienne observée chez B9 en comparaison avec la lignée sauvage A17.

Ainsi, ce nouveau mutant B9 à forte dépendance mycorhizienne, constitue un outil supplémentaire d'intérêt pour l'étude de la fonctionnalité de la symbiose mycorhizienne.

Références

- Morandi D., Branzanti B., Gianinazzi-pearson V. 1992. Effect of some plant flavonoids on *in vitro* behaviour of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Agronomie* 12, 811-816
- Zuanazzi J.A.S., Clergeot P.H., Quirion J.C., Husson H.P., Kondorosi A., Ratet P. 1998. Production of *Sinorhizobium meliloti* nod gene activator and repressor flavonoids from *Medicago sativa* roots. *Mol. Plant Microbe In.* 11, 784-794

Poster 17 :

Coexistence des Plantes dans les écosystèmes méditerranéens et diversité des champignons mycorhiziens arbusculaires et des communautés de *Pseudomonas fluorescens* dans le sol : (cas de *Pinus halepensis* et *Cupressus atlantica* au Haut Atlas-Maroc).

Lahcen Ouahmane^{1,2} , Hanane Kchakech¹ , Mohamed Hafidi¹ , Robin Duponnois³

¹Université Cadi Ayyad, Faculté des Sciences Semlalia, Laboratoire d'Ecologie Végétale Sol et Environnement, Marrakech, Morocco

²Centre Régional de Recherche Forestière, Marrakech, Morocco

³IRD, UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2, Laboratoire des Symbioses Tropicales et méditerranéennes (LSTM), Montpellier, France

Résumé

Il est bien admis que de nombreux facteurs biologiques, tels que la concurrence pour la lumière et pour les ressources en sols, jouent un rôle majeur dans le maintien et la régulation de la coexistence des arbres forestiers dans leur environnement naturel. Plusieurs études récentes ont montré l'importance de la microflore du sol dans la médiation de la coexistence des espèces végétales et la préservation de la biodiversité des communautés de plantes.

Dans les écosystèmes méditerranéens, il a été démontré que les champignons mycorhiziens et la microflore qui leur est associée peuvent être un facteur clé de la promotion de cette coexistence des plantes. Néanmoins leur influence dans le cas de la présence à la fois des endomycorhizes et des ectomycorhizes est encore ignoré.

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est de décrire la variabilité spatiale des champignons mycorhiziens arbusculaires (AMF) et des populations de *Pseudomonas fluorescens* dans un site où on a co-existence d'une plante endotrophe (*Cupressus atlantica*) et une plante ectotrophe (*Pinus halepensis*) (Haut Atlas Maroc).

Pour cette fin, nous avons caractérisés les communautés de *Pseudomonas fluorescens* du sol par PCR/ RFLP. Nous avons également évalué certaines de leurs activités fonctionnelles (activité solubilisatrice de phosphates, activité lipolytique ...).

En outre, le statut mycorhizien *in-situ* des deux espèces a été évalué. Nous avons également déterminé l'effet de l'origine du sol sur la croissance de chaque espèce végétale dans des conditions expérimentales.

Nos résultats soulignent les effets de la distance des arbres sur l'abondance et la richesse spécifique des espèces de champignons mycorhiziens arbusculaires et sur la diversité génétique des communautés de *P. fluorescens*. Les expériences sous serre ont révélé un effet significatif de l'origine du sol sur la croissance des espèces végétales.

Mots-clés: champignons mycorhiziens arbusculaires, *Cupressus atlantica*, *Pinus halepensis*, diversité fonctionnelle, *Pseudomonas fluorescens*

Poster 18 :

AMF MOLECULAR DIVERSITY AT A NATURAL HEAVY METAL AND ARSENIC CONTAMINATED SITE IN HUNGARY

Istvan Paradi^{1,2}, Agnes Zold-Balogh², Marton Balogh², Zoltan Bratek², Ferenc Fodor² and Dirk Redecker³

- (1) UMR INRA/CNRS/Université de Bourgogne, Plante-Microbe-Environnement, INRA-CMSE, 17 rue Sully, BP 86510 – 21065 Dijon Cedex, France. E-mail: Istvan.Paradi@dijon.inra.fr
- (2) Department of Plant Physiology and Molecular Plant Biology, Eotvos Lorand University, Pazmany Peter setany 1/c, H-1117 Budapest, Hungary.
- (3) Institute of Botany, University of Basel, Section Plant Physiology, Hebelstrasse 1, 4056 Basel, Switzerland.

Local geochemical anomalies represent a rare characteristic of surface soils having natural enrichment of certain elements (e.g. heavy metals) in high quantity. Present study aims to characterize the AM fungal molecular diversity of a unique geochemical anomaly site in NE-Hungary with As, Au, Ag, Sb and Hg load. Root samples of *Dryopteris filix-mas* (Paris-type colonization) and *Rubus caesius* (Arum-type colonization) originating from plots with different arsenic contents were collected. 18S rDNA and ITS regions of extracted root DNA were analyzed by PCR and RFLP methods, representatives of RFLP groups were sequenced and phylogenetically analyzed. Number of phylotypes characterized from phylogenetic groups *Glomus* A, *Glomus* B, *Archaeospora* and *Paraglomus* were 4, 3, 1 and 1, respectively. Diversity of *Glomus* group A+B sequences seemed to be more dependent on phosphate, than on As content. However, some of the phylotypes were typically found under either high or low As conditions. *Archaeospora* sequences were tightly connected to the highest available P amount. There was no difference detected in the distribution of RFLP-types and phylotypes between the two host plants. Results may support the hypothesis of the existence of As-tolerant phylotypes.

Poster 19 :

ECTOMYCORHIZES ET MOBILISATION DE P POUR LA PLANTE-HOTE : REGULATION DES SYSTEMES DE TRANSPORT DE PI ET DES PHOSPHATASES FONGIQUES

Claude Plassard

adresse plassard@supagro.inra.fr

Le rôle positif de la mycorhization sur l'amélioration de la nutrition phosphatée de la plante-hôte a été établi à maintes reprises. Les hypothèses classiquement avancées pour expliquer cet effet positif sont une augmentation du volume de sol exploré pouvant être accompagnée par une meilleure capacité d'absorption de l'orthophosphate par les plantes mycorhizées, ainsi qu'une mobilisation accrue des formes complexes de P grâce aux propriétés spécifiques des partenaires fongiques. Dans notre UMR, nous nous cherchons à identifier et à hiérarchiser les facteurs qui déterminent la biodisponibilité de P pour les plantes herbacées ou ligneuses. Dans ce contexte, les recherches que j'anime portent sur la compréhension du rôle des ectomycorhizes dans la mobilisation de P organique et leur prélèvement par une espèce ligneuse, le pin maritime (*Pinus pinaster*). Pour atteindre cet objectif, nous menons nos travaux à la fois en conditions contrôlées sur l'association entre le Pin maritime et le basidiomycète modèle, *Hebeloma cylindrosporum* et en conditions naturelles dans l'écosystème forestier Landais. Nous développons des approches moléculaires et biochimiques ciblées d'une part sur les transporteurs de phosphate fongiques et sur les enzymes responsables de la minéralisation du P organique, les phosphatases. Les principaux résultats obtenus au cours de ces dernières années ainsi que leurs perspectives seront présentés.

Poster 20 :

UN REPERTOIRE GELC-MS/MS DES PROTEINES EXTRA-RADICULAIRES DE

GLOMUS INTRARADICES

Ghislaine Recorbet¹, Hélène Rogniaux², Eliane Dumas-Gaudot¹

¹UMR Plant-Microbe-Environnement, INRA, Dijon

*²Unité de Recherche Biopolymères-Interactions-Assemblages, Spectrométrie de Masse, INRA,
Nantes*

recorbet@diijon.inra.fr

Si les réseaux mycéliens extra-radiculaires des champignons mycorhizogènes à arbuscule jouent un rôle clé dans la communication de la plante hôte avec son environnement, les mécanismes impliqués dans leur fonctionnement restent à ce jour très peu connus. Afin de caractériser certaines des fonctions exprimées dans le mycelium extra-radiculaire de *Glomus intraradices*, nous avons mis en œuvre des approches protéomiques permettant l'identification de protéines d'organismes dont le

génomique n'est pas séquencé sur la base de la conservation inter-espèces des séquences des protéines orthologues.

Pour augmenter le spectre des identifications possibles qui est restreint par les techniques classiques d'électrophorèse bidimensionnelle, une approche GeLC-MS/MS a été appliquée sur les protéines du mycélium extra-radicaire obtenu après culture *in vitro* de racines transformées de *Daucus carota*. Cette stratégie a permis l'identification de 92 protéines distinctes ou différenciables dont 88 ne sont actuellement pas répertoriées chez *G. intraradices* dans la dernière mise à jour d'Uniprot. Leur caractérisation a mis en évidence une importante proportion de protéines membranaires intrinsèques et la prédominance de protéines impliquées dans le métabolisme énergétique et le turnover protéique.

Poster 21 :

EFFETS DE LA BIOTISATION SUR L'ACTIVITÉ ANTI-OXYDANTE DES FRUITS ROUGES

Benjamin SECCO¹, Armelle GOLLOTTE¹, Michel PROST², Silvio GIANINAZZI³, Marie-Claude LEMOINE¹

¹ CRITT Agro-Environnement, INRA, 17 rue de Sully 21065 Dijon cedex secben@hotmail.fr

² SPIRAL, 3rue des Mardors, 21560 Couternon.

³ UMR PME, INRA/CMSE, 17rue de Sully 21065 Dijon cedex

Afin de revaloriser la filière des petits fruits, le CRITT Agro-Environnement désire mettre en avant la richesse en anti-oxydants et plus particulièrement en acide ellagique (Beekwilder, 2005) de ces baies en s'appuyant sur leurs propriétés antimutagènes et anti-cancérogènes (Juranic Z, 2005). Pour cela de nouveaux itinéraires seront éprouvés sur deux variétés de framboisiers *Rubus idaeus* (*Meeker* et *Lloyd George*) et deux variétés de cassissiers *Ribes nigrum* (*Bigrou* et *Noir de Bourgogne*). L'activité anti-oxydante d'extraits de feuilles et de fruits sera mesurée via un test KRL® (<http://www.nutriteck.com/sunyatakrl.html>) après biotisation et/ou ajout d'un fertilisant biologique (FLORAVIT®). Les résultats des tests KRL® indiquent que l'action anti-oxydante des feuilles de ces deux espèces est très forte et varie en fonction des variétés, de l'âge de la plante et des traitements appliqués et des pratiques culturales. Les framboisiers possèdent une action anti-oxydante plus forte que les cassissiers, la variété *Meeker* étant la plus riche des deux variétés de framboisiers tandis que c'est la variété *Bigrou* pour les cassissiers. Une fois la technique de la biotisation totalement maîtrisée, les plants sains biotisés seront fournis aux producteurs qui bénéficieront ainsi de plants plus résistants aux agressions et aux stress et d'un produit final (baies ou feuilles) à haute valeur ajoutée.

Références

<http://www.nutriteck.com/sunyatakrl.html>

Jules Beekwilder., Robert D. Hall, C.H. Ric de Vos 2005. Identification and dietary relevance of antioxidants from raspberry. *BioFactors. Res.*, 23, 197-205.

Juranic Z., Zizak Z., 2005. Biological activities of berries: from antioxidant capacity to anti-cancer effects. *BioFactors. Res.*, 23(04):207-11.

Boivin D., Blanchette M., Barrette S., Moghrabi A., Beliveau R., 2007. Inhibition of cancer cell proliferation and suppression of TNF-induced activation of NF kappa B by edible berry juice. *Oncology. Res.*, 27(2),937-948.

Poster 22 :

Intérêt de l'endomycorhization dans le développement d'une fabacée (*Hedysarum coronarium* L.) sur un sol de Tunisie riche en calcaire actif

Labidi S., Tisserant B., Lounes Hadj Sarahoui A., Jeddi F., Sanaa M., Ben el Hadj S., Grandmongin-Ferjani A.

adresse *courriel*

Texte

Le sulla du nord (*Hedysarum coronarium* L.) est une fabacée fourragère utilisée dans les assolements des grandes cultures annuelles (céréales, fourrages et protéagineuses) et les pâturages sur marnes argileuses, ainsi que sur sols bruns calcaires ou bruns lessivés et rendzines. La variété de sulla Bikra 21, tolérante au calcaire actif, pourrait être d'un grand intérêt agronomique. En effet, cette variété permettrait de valoriser certaines terres classées marginales pour l'implantation de fabacées fourragères ou protéagineuses. Cependant, son installation sur certains sols très riches en calcaire actif reste difficile à cause de la forte fixation du phosphore assimilable par ces sols. C'est pourquoi, l'objectif de présent travail était d'étudier l'effet de l'inoculation par un champignon mycorhizien à arbuscules (*Glomus intraradices*) sur la croissance et la nutrition minérale de sulla variété Bikra 21 cultivée sur un sol riche en calcaire actif (25 %) provenant du parc national Nahli en Tunisie.

L'essai en pot a comporté différents types d'inoculation : aucune inoculation (témoin), inoculation avec rhizobium (*rhizobium sullae*) (R), inoculation avec *Glomus intraradices* (M) et double inoculation : *rhizobium sullae* + *Glomus intraradices* (M+R). Après 12 semaines de culture, différents paramètres ont été évalués : masse sèche de la plante, taux de mycorhization, masse sèche des nodules, nombre de nodules, ainsi que la teneur des plantes en phosphore, en calcium et en oligoéléments. Les premiers résultats semblent indiquer que la double inoculation champignon endomycorhizien/ *Rhizobium* présente le plus fort potentiel dans l'amélioration de la croissance des plantes et donc dans l'augmentation de la production de sulla cultivée sur un sol riche en calcaire actif.

Ces résultats préliminaires sont en faveur d'une intégration de la technique d'inoculation endomycorhizienne dans la conduite des cultures de fabacées fourragères ou protéagineuses sur sols riches en calcaire. Un essai en champ est en cours de réalisation.

Poster 23 :

POTENTIAL OF AMF AND RHIZOBACTERIA AS BIOCONTROL ORGANISMS AGAINST MIGRATORY NEMATODES IN LEGUMINOUS INTERCROPS

Lieselot Van der Veken, Pa Pa Win, Myat Lin, Rony Swennen, Dirk De Waele & Annemie Elsen

Laboratory of Tropical Crop Production, Department of Biosystems, K.U. Leuven

Kasteelpark Arenberg 13, 3001 Leuven, Belgium
lieselot.vanderveken@biw.kuleuven.be

When damage thresholds are exceeded, the plant-parasitic nematodes, *Radopholus similis* and *Meloidogyne* spp. can cause yield losses up to 70 % to bananas and plantains in poor soil conditions. Whereas chemical nematicide use is non-existing in subsistence cropping systems (87 % of the world banana production), it is currently being restricted in commercial production systems due to serious environmental and health concerns. Therefore, further research on alternative sustainable nematode management strategies is becoming increasingly important. Though intercropping is common practice in subsistence banana-based cropping systems, knowledge about its effects on nematode field populations is rather scarce. Even less is known about the effects of the used intercrops on arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) field inoculum. AMF are known to promote plant growth and provide a bio-protective effect against plant parasitic nematodes in banana. To study the potential of banana intercrops, 7 leguminous intercrops (pigeon pea, sunn hemp, Grant's rattlebox, soybean, hairy indigo, common bean and cowpea) were screened individually for their nematode susceptibility and AMF compatibility in greenhouse conditions with inclusion of a susceptible and compatible banana cultivar (*Musa* AAA Grande Naine) as a reference crop. After identifying the promising intercrops (nematode resistance and/or AMF compatibility), 3 leguminous intercrops with different levels of nematode susceptibility were studied in an interaction experiment and mixed greenhouse set-ups to study their effect on nematode population build-up and AMF inoculum potential. As such, promising intercrops for reduction of nematode population and enhancement of AMF field inoculum potential were identified. By including AMF-colonized intercrops we ultimately intend to address both biotic (nematodes) and abiotic (poor soil conditions) stress in the often low input banana-based cropping systems.

Poster 24 :

ASSOCIATION PREFERENTIELLE ENTRE LES MYCORHIZES A ARBUSCULES ET LES *PSEUDOMONAS* SAPROPHYTES PRESENTANT DES SYSTEMES DE SECRETION DE TYPE III

**Amandine Viollet, Thérèse Corberand, Agnès Robin, Christophe Mougel, Philippe
Lemanceau et Sylvie Mazurier.**

amandine.viollet@dijon.inra.fr

Les systèmes de sécrétion de type III (SST3) permettent aux bactéries à Gram négatif d'établir des interactions cellulaires avec des organismes eucaryotes. La plus grande fréquence de *Pseudomonas* spp. fluorescents saprophytes présentant des SST3 dans la rhizosphère (Mazurier *et al.*, 2004) comparée au sol suggère leur possible rôle dans les interactions entre ces bactéries et les eucaryotes présents dans la rhizosphère, en particulier plante et champignon. L'objectif de cette étude était de différencier l'effet des racines et des mycorhizes à arbuscules (MA) sur la densité et la diversité des populations de *Pseudomonas* présentant des SST3. La stratégie adoptée a consisté à comparer les populations de *Pseudomonas* associées (i) aux racines mycorhizées de *Medicago truncatula* J5 (Myc⁺Nod⁺) et du mutant TRV48 (Myc⁺Nod⁻), (ii) aux racines non mycorhizées du mutant TRV25 (Myc⁻Nod⁻) cultivés dans le sol de Châteaurenard (France) et (iii) au sol nu correspondant. Cette comparaison a porté sur (i) la fréquence des isolats portant des gènes codant des SST3 (*hrcRST*), (ii) la diversité de ces séquences et de celle du fond génétique des isolats (BOX-PCR). Les résultats indiquent que la fréquence des isolats présentant des SST3 est significativement plus élevée sur les racines mycorhizées (J5 et TRV48) que sur les racines

non mycorhizées (TRV25) ou dans le sol nu. L'étude de diversité des séquences *hrcRST* a révélé la présence de quatre génotypes dont deux spécifiquement associés aux racines mycorhizées. Les isolats présentant des SST3 ne sont repartis que dans 10 des 65 génotypes BOX-PCR décrits. Les MA ont donc un effet marqué sur les populations présentant des SST3, suggérant leur rôle dans l'interaction bactéries-mycorhizes. Pivato et coll. ont récemment montré qu'une souche modèle de *P. fluorescens* (C7R12) présentant un SST3 améliore la mycorhization. La contribution du SST3 dans cet effet bénéfique est en cours d'évaluation.

Références

Mazurier S., Lemunier M., Siblot S., Mougél C., Lemanceau P. 2004. Distribution and diversity of type III secretion system-like genes in saprophytic and phytopathogenic fluorescent pseudomonads. FEMS Microbiol. Ecol. 49:455-467.

Pivato B., Offre P., Marchelli S., Barbonaglia B., Mougél C., Lemanceau P., Berta G. Bacterial effects on arbuscular mycorrhizal fungi and mycorrhization as influenced by the bacteria, fungi and host-plant. Mycorrhiza, soumis pour publication.

Poster 25 :

PRE-INFECTONAL EFFECT OF AMF-INDUCED BIOPROTECTION AGAINST PLANT-PARASITIC NEMATODES

Christine Vos, Almaz Nigatu, Dirk De Waele & Annemie Elsen

Laboratory of Tropical Crop Production, Department of Biosystems, K.U. Leuven

Kasteelpark Arenberg 13, 3001 Leuven, Belgium

christine.vos@biw.kuleuven.be

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) not only enhance the growth of their host plant, they are also able to protect many plants against attack from a wide range of soil pathogens and pests, including several plant-parasitic nematode species. However little is known about the modes of action of this AMF-induced bioprotective effect against nematodes. Therefore the underlying mechanisms of the observed biocontrol are studied by investigating the AMF-nematode-plant interaction during the different stages of nematode infection. This study focuses on the pre-infecton attraction phase of the nematodes *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus coffeae* toward tomato roots (*Lycopersicon esculentum* cv. Marmande). Greenhouse experiments confirmed that plants of this cultivar, when pre-mycorrhized by the AMF *Glomus mosseae*, are infected significantly less by both nematode types. A nematode penetration experiment was conducted for which root exudates from mycorrhized and non-mycorrhized plants were collected and applied to both mycorrhized and non-mycorrhized plants in the greenhouse. This was repeated until twelve days after nematode inoculation, when the plants were harvested for nematode counting. Further, the flavonoid content of the collected mycorrhized and non-mycorrhized root exudates is determined by HPLC-UV and HPLC-MS analysis. The effect of the differential compounds on nematode behaviour, i.e. chemotaxis, egg hatch and viability, will then be studied by using *in vitro* bioassays.

Poster 26 :

Structurations multi-échelles des populations d'un champignon ectomycorhizien européen, *Laccaria amethystina*

Lucie Vincenot, Mélanie Roy, Marc-André Selosse

lucie.vincenot@cefe.cnrs.fr

L. amethystina est un Basidiomycète ectomycorhizien commun, présentant une large gamme d'hôtes dans les forêts mixtes, et abondant dans les forêts européennes. Des études populationnelles de cette espèce, aux échelles d'une forêt (Gherbi *et al.*, 1999 ; Fiore-Donno et Martin, 2001) ou de la France (Roy *et al.*, 2008), montrent une forte diversité génétique locale (jusqu'à 13000 génets/ha), s'associant à une petite taille des génets, qu'on suppose régulièrement renouvelés à une échelle locale.

L'étude de Roy *et al.* (2008) montre qu'en revanche, à l'échelle française (500 km), les populations sont faiblement différenciées génétiquement. Afin d'étudier la structuration des populations de *L. amethystina* par la distance et interpréter ses patrons de distribution génétique, nous avons choisi de travailler à l'échelle, plus large, de l'Europe. L'analyse des génotypes microsatellites de populations collectées sur un gradient de distance de 1800 km fournira des informations sur la différenciation des populations de *L. amethystina*, et leurs stratégies de dispersion et de colonisation. Une structuration de ces populations par la distance pourrait être à l'origine d'événements de spéciation, par isolement reproducteur. Nous avons réalisé une phylogénie du genre *Laccaria* sp. à partir de séquences référencées. Cette phylogénie montre que les différentes souches de *L. amethystina* ne se regroupent pas ensemble selon leur origine géographique, les souches européennes restant monophylétiques : ce résultat pourrait être l'indice d'une spéciation cryptique à l'échelle eurasiatique.

À une échelle beaucoup plus localisée, Gherbi *et al.* (1999) et Fiore-Donno et Martin (2001) ont étudié la structuration temporelle des populations de *L. amethystina* sur 2 à 3 années, concluant à un renouvellement annuel des génets, par recolonisation par des spores. Cependant, toutes les fructifications ne sont pas synchronisées au sein d'une population, et un génét peut ne pas apparaître pendant plusieurs années (Selosse *et al.*, 2001). Nous avons donc initié en 2007 un suivi de populations locales de *L. amethystina* à plus long terme, qui pourrait révéler une persistance méconnue des génets. Cette étude permettra de préciser la stratégie écologique de *L. amethystina* : une colonisation récurrente avec une longévité réduite, ou bien une persistance souterraine du mycélium, avec des fructifications plus ou moins irrégulières.

Références

- Fiore-Donno A-M., Martin F., 2001. Populations of ectomycorrhizal *Laccaria amethystina* and *Xerocomus* spp. show contrasting colonization patterns in a mixed forest. *New Phytologist*, 152 (3) : 533-542.
- Gherbi H., Delaruelle C., Selosse M-A., Martin F., 1999. High genetic diversity in a population of the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria amethystina* in a 150-year-old beech forest. *Molecular Ecology*, 8 (12) : 2003-2013.
- Roy M., Dubois M-P., Proffit M., Vincenot L., Desmarais E., Selosse M-A., 2008. Evidence from population genetics that the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria amethystina* is an actual multi-host symbiont. *Molecular Ecology*, 17 : 2825-2838.
- Selosse M-A., Martin F., Le Tacon F., 2001. Intraspecific variation in fruiting phenology in an ectomycorrhizal *Laccaria* population under Douglas fir. *Mycological Research*, 105 (5) : 524-531.

Poster 27 :

LA SYMBIOSE *GEOSIPHON-NOSTOC*: UN MODELE POUR L'ETUDE DES ENDOMYCORHIZES?

Arthur Schüssler¹, Holger Martin, David Cohen, Michael Fitz³ et Daniel Wipf^{3,4}

¹LMU Munich, Genetics Institute, Munich, Germany - ²Darmstadt University of Technology, Institute of Botany, Darmstadt, Germany - ³Universität Bonn, IZMB, Bonn, Germany - ⁴UMR INRA 1088/CNRS 5184/ Université de Bourgogne, Plante-Microbe-Environnement, BP 86510, 21065 DIJON Cedex, France

daniel.wipf@dijon.inra.fr

Geosiphon pyriformis est le seul champignon connu formant une symbiose avec une cyanobactérie. *Geosiphon pyriformis* appartient au groupe des Gloméromycètes, groupe correspondant aux champignons formant des endomycorhizes avec plus de 80% des plantes terrestres. C'est ainsi que l'on peut dire que la symbiose Geosiphon-Nostoc représente une symbiose unique entre un champignon à potentiel « endomycorhizien » et un procaryote photosynthétique. Quant elle est comparée à une endomycorhize proprement dite, cette symbiose présente plusieurs avantages pour des études moléculaires relatives aux gènes fongiques impliqués dans la symbiose. Nous avons établi des méthodes permettant d'extraire de façon reproductible des ARNm fongiques à partir de stades symbiotiques. Une banque d'ADNc, utilisable pour la complémentation fonctionnelle de mutants de levures, a été construite à partir de tels ARNm. Cette banque a été utilisée pour compléter la déficience en absorption d'hexoses du mutant de levure EBY.VW4000. Les résultats correspondant à l'isolement et à la caractérisation d'un transporteur d'hexose seront présentés.

Références

- Walker C., Blaszkowski J., Schwazott D., Schüssler A. 2004. *Gerdemannia gen. nov.*, a genus separated from *Glomus*, and Gerdemanniaceae fam. nov., a new family in the Diversisporales based on the former *Glomus scintillans*. Mycol. Res. 108(6), 707-718.
- Walker C., Schüssler A. 2004. Nomenclatural clarifications and new taxa in the *Glomeromycota*. Mycol. Res., 108, 981-982.
- Schüssler A., H. Martin, Cohen D., M. Fitz, and D. Wipf (2006). Characterization of the first carbohydrate transporter from symbiotic glomeromycotan fungi. Nature 444: 933-936