



HAL
open science

Interactions bactéries-champignons dans les sols forestiers : du système modèle au microbiote

Aurélie Deveau

► **To cite this version:**

Aurélie Deveau. Interactions bactéries-champignons dans les sols forestiers : du système modèle au microbiote. Sciences du Vivant [q-bio]. Université de Lorraine, 2023. tel-04132411

HAL Id: tel-04132411

<https://hal.inrae.fr/tel-04132411>

Submitted on 19 Jun 2023

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.

Ecole Doctorale SIRENA - Université de Lorraine

Habilitation à Diriger les Recherches

Biologie et écologie des forêts et des agrosystèmes

Interactions bactéries-champignons dans les sols forestiers : du système modèle au microbiote

Aurélie DEVEAU

Chargée de recherche INRAE

Soutenance le 8 juin 2023

Membres du Jury

Rapporteurs

Pr. V. Legué Université de Clermont Ferrand, Laboratoire PIAF

Pr. A. Lounes-Hadj Sahraoui – Université Littoral Côte d’Opal, Laboratoire UCEIV

Pr. C. Prigent Combaret – Université de Lyon, Laboratoire d’Ecologie Microbienne

Examineurs

Dr. M. Barret –INRAE Val de Loire, IRHS, Laboratoire Emrsys

Dr. A. Cébron – CNRS Université de Lorraine, Laboratoire LIEC

Dr. C. Robin – INRAE Université de Lorraine, Laboratoire LAE

Marraine : **Dr. Pascale Frey-Klett**, UMR Interactions Arbres-Micro-organismes, Laboratoire Tous Chercheurs, Université de Lorraine / INRAE Nancy Grand Est

UMR INRAE/Université de Lorraine 1136 « Interactions Arbres-Micro-organismes »
Equipe Ecogénomique des Interactions

A tous ceux qui m'ont soutenue,
depuis mes premiers pas sur les sentiers de la vie,
à ceux de chercheuse,
puis de maman

Table des matières

Remerciements	6
Liste des figures	7
Liste des tableaux	8
Préambule	9
Partie 1 Bilan des activités de recherche	11
Chapitre 1	13
Introduction	14
Principaux résultats	15
1. Approches transcriptomiques	15
2. Approches ciblées	19
3. Un comportement versatile	26
Conclusions	30
Epilogue	32
Chapitre 2.....	35
Introduction	37
Principaux résultats	39
1. Dynamique de colonisation du peuplier par les micro-organismes	39
2. Les phytohormones de défense sont-elles impliquées dans la régulation de la colonisation du microbiote du peuplier ?	44
3. Effets des paramètres abiotiques sur la colonisation du système racinaire	48
Conclusions	54
Epilogue	55
Chapitre 3	59
Introduction	60
Principaux résultats	62
1. La truffe, un habitat spécifique pour les bactéries	62
2. Arômes des truffes : quels rôles pour les bactéries ?	67
3. Pourquoi certaines bactéries colonisent les truffes	70
Conclusions	70
Epilogue	72
Partie 2 - Projet de recherche	73
Contexte	74
Objectifs	74
Programme de recherche	74
1. Rôle des phytohormones de défense de la sélection du microbiote.....	75
2. Rôle des communautés microbiennes dans la résistance au stress hydrique	77
3. Rôles des bactéries dans le cycle de vie des truffes du genre <i>Tuber</i>	78

4. Mécanismes des interactions bactéries-champignons régissant la colonisation de bois traités.....	79
5. Intégration dans le projet de l'unité Interactions Arbres Micro-organismes	80
Partie 3 - Enseignement et actions pour le collectif	83
1. Activités d'Enseignement et de Formation	84
2. Responsabilités administratives et scientifiques pour le collectif	89
Bibliographie	93
Annexes	101
1. Curriculum Vitae.....	102
2. Résumé des activités de recherche réalisées pendant le post-doctorat.	104
3. Liste des publications	109

Remerciements

Si la rédaction de l'HDR est un exercice solitaire, les travaux qui sont rapportés dans ce manuscrit sont le fruit d'un travail de recherche éminemment collectif. Je tiens donc à remercier l'ensemble des collègues, chercheurs, étudiants, techniciens, collaborateurs qui ont contribué à la construction et la réalisation de ces travaux de recherche. Je tiens en particulier à remercier les étudiants dont j'ai encadré les travaux de thèse : Cora, Milena, Lauralie et Félix. Vous m'avez appris beaucoup, dans de nombreux domaines, et vos discussions, parfois passionnées, auront été une source prolifique de réflexions et d'enseignements. Merci également à Gaurav pour ton enthousiasme, ton travail minutieux et ta bonne humeur.

Merci à tous mes collègues du laboratoire IAM avec qui il est si plaisant de travailler et de construire des projets. Merci pour votre aide régulière et sans faille, et pour avoir pris le relais avec patience lors de mes absences sabbatiques dans un laboratoire à l'autre bout du monde, un sommet éloigné ou... un pied dans le plâtre !

Un grand merci également à nos gestionnaires qui savent si bien mettre de l'huile dans les rouages de l'administration et nous permettre d'avancer en dépit des vents et marées contraires, et également rattraper les petites boulettes commises par mégarde.

Je voudrais particulièrement remercier mes mentors, qui depuis mes premiers pas dans la recherche à l'université d'Orsay jusqu'à mon post-doctorat au Dartmouth College ont guidé mes recherches avec bienveillance et ont su éveiller puis entretenir ma passion pour la découverte et l'exploration du monde du vivant. Bernard Saugier, Olivier Roupsard, Jean Garbaye, Pascale Frey-Klett, Francis Martin, Deborah Hogan, vous m'avez fait, chacun à votre manière, rêver puis aimer ce métier. Mille mercis.

Pour finir, je remercie les membres du jury qui ont accepté de lire et d'évaluer ce travail malgré un emploi du temps bien chargé. Encore désolée pour les mille échanges pour essayer de trouver une date de soutenance qui convienne à tous.

Le dernier des derniers remerciements va à ma petite famille et mes amis montagnards qui savent si bien me rappeler que, si la science est une passion dévorante, il existe bien d'autres merveilles à vivre et partager au quotidien.

Liste des figures & tableaux

Figure 1. Détection de tectonines dans la paroi des cellules de <i>Laccaria bicolor</i> S238N.....	16
Figure 2. Diversité et abondance des domaines NLR.	17
Figure 3. Les interactions bactéries-champignons mises en équation	19
Figure 4. Dynamique de la population de <i>P. fluorescens</i> BBc6R8	19
Figure 5. Caractéristiques et rôle du T3SS dans l'effet auxiliaire de la mycorhization	21
Figure 6. Biofilms formés par <i>P. fluorescens</i> BBc6R8 sur les hyphes de <i>L. bicolor</i> S238N.....	21
Figure 7. Distribution différentielle des biofilms de <i>P. fluorescens</i> BBc6	23
Figure 8. Colonisation différentielle des hyphes de champignons telluriques par <i>P. fluorescens</i>	24
Figure 9. Effet de <i>Pseudomonas fluorescens</i> BBc6R8 sur la croissance de <i>L. bicolor</i> S238N en conditions carencées en fer <i>in vitro</i>	26
Figure 10. Modèle des mécanismes d'interactions entre <i>L. bicolor</i> S238N, et <i>P. fluorescens</i> BBc6R8..	28
Figure 11. Principaux mécanismes de l'effet auxiliaire de la mycorhization	29
Figure 12. Mycobiotte d'une racine de peuplier tel que visualisé par microscopie confocale	36
Figure 13. Mésocosme utilisé pour étudier la dynamique de colonisation du système racinaire	38
Figure 14. Dynamique temporelle de colonisation du système racinaire de boutures de peupliers ...	40
Figure 15. Liste des composés les plus abondants présents dans les exsudats racinaires	40
Figure 16. Principaux genres fongiques colonisant les racines de peupliers	42
Figure 17. Dynamique temporelle de colonisation des tissus racinaires et aériens	43
Figure 18. Concentrations d'éthylène produites par la lignée sauvage de peuplier	45
Figure 19. Impact de la surproduction d'éthylène sur le métabolome du peuplier, la colonisation des racines par les champignons et les activités enzymatiques des sols rhizosphériques.....	46
Figure 20. Impact des variations interannuelles de la composition des communautés microbiennes du sol sur le recrutement de micro-organismes par les racines de peuplier et sur sa physiologie	49
Figure 21. Schéma du dispositif expérimental de transplantation réciproque.	51
Figure 22. Effets de la transplantation réciproque sur les paramètres physiologiques et phénologiques du peuplier noir au stade bouture	52
Figure 23. Effets de la transplantation réciproque sur la structure et la composition des communautés bactériennes de boutures de peuplier noir	53
Figure 24. Cycle de vie de la truffe noire et interactions potentielles avec les bactéries.....	61
Figure 25. Visualisation par hybridation <i>in situ</i> de la colonisation du péridium et de la gleba de différentes espèces de truffes par les bactéries par microscopie confocale à balayage laser	61
Figure 26. Etude de la structure de connexion entre l'ascocarpe de la truffe <i>T. aestivum</i> et la racine de l'arbre hôte	63
Figure 27. Variation spatio-temporelle de la composition des communautés bactériennes des ascocarpes de <i>T. aestivum</i> et <i>T. melanosporum</i>	64
Figure 28. Les ectomycorhizes et les ascocarpes de <i>T. melanosporum</i> sont colonisés par des communautés bactériennes différentes	67
Figure 29. Capacités des différents taxa de micro-organismes fongiques et bactériens, et des truffes en cultures pures <i>in vitro</i> ou au stade d'ascocarpes à produire des composés organiques volatiles typiques des truffes	68

Liste des tableaux

Tableau 1. Liste des financements ayant permis la mise en œuvre du projet	31
Tableau 2. Liste des financements ayant permis la mise en œuvre du projet 2.....	55
Tableau 3. Liste des financements ayant permis la mise en œuvre du projet 3.....	72
Tableau 4. Liste des encadrements réalisés	82
Tableau 5. Liste des jurys de thèse et comités de thèse.....	87
Tableau 6. Liste des actions de vulgarisation.....	88
Tableau 7. Liste des enseignements réalisés.....	89
Tableau 8. Liste des jurys de recrutement.....	90
Tableau 9. Liste des conférences	91
Tableau 10. Liste des évaluations de projets réalisées	91

Préambule

Certains parcours scientifiques sont extrêmement linéaires, d'autres sont plus sinueux. C'est clairement le cas du mien qui aura été fortement influencé d'une part par une curiosité mal bornée me conduisant à explorer divers sujets de recherche parfois en parallèle, d'autre part par un goût marqué pour le voyage et l'exploration et enfin des rencontres déterminantes. Ma première rencontre est celle d'une enseignante-chercheuse de l'université Paris 7 qui m'a fait découvrir le fabuleux monde des plantes lors de ma première année de DEUG. Une passion est née. Mon cœur oscille alors entre le monde de la biologie marine (objectif devenir le Commandant Cousteau) et la biologie végétale (version radeau des cimes). Mon professeur de neuroscience à l'université, alors en charge du recrutement des étudiants universitaires de l'Ecole Normale Supérieure (ENS), me convainc qu'il n'y avait aucun avenir dans la biologie marine (sic) et qu'il valait mieux rentrer à l'ENS et faire des neurosciences. Fini les stages dans les stations biologiques de Roscoff et d'Arcachon, je rejoins donc l'ENS et ses ors et... cultive ma passion pour la biologie végétale, me spécialisant en écophysiologie végétale puis en biologie forestière. La microbiologie est alors un univers qui m'est quasiment inconnu, à l'exception d'*Escherichia coli* et de quelques autres modèles de laboratoire qui surgissent inévitablement dans les enseignements. Au hasard d'un module d'ouverture du magistère, je suis, l'instant d'un après-midi, un cours sur la symbiose dispensé par M-A Sélosse à l'Agro, première rencontre fascinante avec les champignons ectomycorrhiziens et qui restera pendant quelques temps tapie au fond de ma mémoire. Il n'est à ce moment pour moi question que de couvert forestier, de photosynthèse, de respiration et de tropiques. Mon objectif est alors clair ; rejoindre le CIRAD ou l'IRD pour travailler sur les couverts forestiers tropicaux. Après un stage de découverte enthousiasmant auprès de Bernard Saugier à l'Université d'Orsay et grâce à l'appui de Michel Dron, je décroche un stage de recherche de 5 mois au Vanuatu, archipel tropical de l'océan Pacifique, pour travailler avec Olivier Roupsard sur le paramétrage du modèle de Farquhar à l'aide de mesures à l'échelle foliaire et sur la modélisation de la photosynthèse à l'échelle de la canopée. Un stage fabuleux qui restera à jamais gravé dans ma mémoire mais qui me fait prendre conscience d'un fait dont je n'avais pas vraiment conscience jusque là: mon attachement familial et le besoin de pouvoir rejoindre mes proches en quelques heures, chose difficile à faire lorsque l'on est en poste au Brésil ou au Congo. Fin des rêves de tropiques au long cours, je n'irai pas marcher dans les traces de Mungo Park ou sur le pont de l'Astrolabe.

Mais entre temps j'ai rencontré J. Garbaye, chercheur aux connaissances encyclopédiques de l'unité Interactions Arbres Micro-organismes, qui a pris le temps de m'accueillir le temps d'une journée au laboratoire pour me parler des travaux qui y étaient menés et me faire visiter le site de Champenoux alors que je l'avais interrogé sur la possibilité de réaliser un stage de DEA sous sa direction. J. Garbaye et F. Martin sauront attiser ma curiosité puisque je choisirai finalement de rejoindre ce laboratoire pour réaliser mon stage de DEA puis ma thèse de Doctorat sous la triple direction de P. Frey-Klett, F. Martin et J. Garbaye. J'y reviendrai en 2011 après un post-doctorat de deux ans aux Etats-Unis pour prendre un poste de chargée de recherche, que j'occupe toujours. Le post-doctorat aura été pour moi l'occasion de découvrir une autre facette du monde de la recherche en basculant dans le domaine médical et en mettant un pied, le temps de quelques mois, dans le « fabuleux » monde de l'industrie pharmaceutique. Hélas, les maladies infectieuses rapportent bien moins de bénéfices que les maladies chroniques et les postes de chercheurs dans le domaine en

Europe sont bien rares. Je m’y épanouissais pourtant et le temps passé au Dartmouth College fut riche en apprentissage et particulièrement heureux, grâce notamment à ma mentor Dr. D. Hogan. Ne voulant pas m’établir définitivement aux Etats-Unis et charmée par les promesses d’une équipe bien sympathique et très dynamique, je suis retournée à mes écosystèmes forestiers, leurs champignons symbiotiques et leurs bactéries sympathiques. Dès lors mes activités en tant que chargée de recherche se sont réparties en 3 catégories : recherche fondamentale, engagement pour le collectif (ex. animation du plateau de microscopie confocale, organisation des séminaires) et enseignement (à dose homéopathique). Le fruit de ces différentes activités est détaillé dans la suite de ce document. J’ai choisi, pour des raisons de logique et de fluidité de ne pas décrire dans le corps du manuscrit les travaux de recherche réalisés pendant le post-doctorat. Néanmoins un résumé de ceux-ci est fourni en annexe.

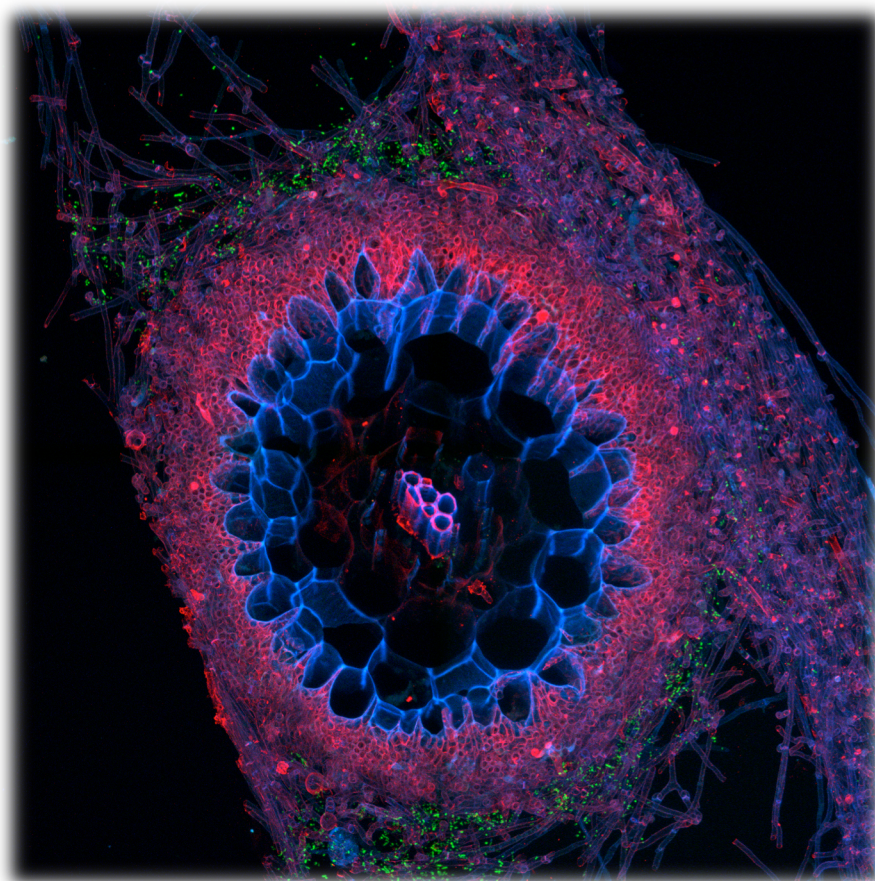
Mon recrutement en 2011 devait permettre la création d’un petit pôle spécialisé dans l’étude des interactions bactéries-champignons, mené par Pascale Frey-Klett, alors directrice de recherche dans l’équipe écogénomique, en collaboration étroite avec Stéphane Uroz et Marc Buée. L’objectif initial était pour moi de développer des approches pour analyser *in situ* les interactions bactéries-champignons. Le départ de Pascale pour d’autres horizons quelques mois après mon arrivée a légèrement infléchi mes plans initiaux et j’ai consacré plus de temps dans les premières années à m’investir dans les projets déjà engagés avec succès par Pascale qu’à développer ces nouvelles approches. Ainsi, les travaux sur l’effet auxiliaire de la mycorhization, les truffes ou les interactions bactéries-champignons dans le bois sont issus de travaux initiés par Pascale Frey-Klett et auxquels j’ai apporté mes propres inflexions. J’ai ainsi pu bénéficier des bases riches acquises auparavant par Pascale Frey-Klett, d’un réseau de collaborations et de financements en cours pour me lancer dans l’aventure scientifique de l’UMR. Merci Pascale ! Je n’ai pour autant pas perdu de vue mes objectifs initiaux que j’ai commencé à mettre en œuvre notamment en développant l’usage de la microscopie confocale pour l’étude des interactions plantes-bactéries-champignons au sein du laboratoire et de l’imagerie par spectrométrie de masse.

PARTIE 1

BILAN DES ACTIVITES DE RECHERCHE

CHAPITRE 1

Mécanismes moléculaires de l'effet auxiliaire de la mycorhization du champignon *Laccaria bicolor* par la souche bactérienne *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 (2004 – 2016)



Introduction

Aux origines étaient les champignons

Les champignons ectomycorhiziens (EcM) ont un effet globalement bénéfique sur le développement des arbres en participant à la nutrition azotée et oligo-minérale de leurs hôtes, en protégeant les racines de la colonisation par d'autres micro-organismes phytopathogènes et en réduisant certains stress abiotiques. De ces observations est né dans les années 1980 l'idée de développer un processus de mycorhization contrôlée consistant à inoculer des souches choisies de champignons ectomycorhiziens à des plantules d'arbres afin d'améliorer leur croissance et/ou leur survie en plantation (Le Tacon, 1978). Le processus a été adapté à l'INRA, notamment au sein de la Station de recherche sur les sols forestiers de Nancy, ancêtre de l'UMR Interactions Arbres Micro-organismes, et a donné lieu à une Licence de savoir faire exploitée encore à l'heure actuelle par plusieurs pépiniéristes français. Dans un contexte d'amélioration du procédé de mycorhization contrôlée, des travaux ont été engagés dans les années 1990 par Jean Garbaye et ses collaborateurs pour déterminer l'effet des bactéries sur la mycorhization. En effet, les EcM ne colonisent pas seuls les systèmes racinaires et ils sont en constante interaction dans le sol et au niveau des racines avec une myriade de micro-organismes, en particulier des bactéries, dont certaines peuvent être bénéfiques pour l'établissement ou le fonctionnement de la symbiose ectomycorhizienne (Frey-Klett *et al.*, 2005). Il a ainsi été montré que certaines bactéries stimulent fortement la formation des ectomycorhizes (Garbaye, 1990). De là a émergé le concept de bactéries auxiliaires de la mycorhization (BAM) proposé par J. Garbaye (Garbaye, 1994) et repris ensuite par de nombreux groupes de recherche (Frey-Klett *et al.*, 2007).

***Pseudomonas fluorescens* BBc6R8, modèle d'étude de l'effet auxiliaire de la mycorhization**

Parmi les bactéries isolées lors de ces travaux, la souche *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 s'est révélée particulièrement efficace et des travaux ont été menés pour comprendre comment cette souche bactérienne stimule la formation d'ectomycorhizes entre *Laccaria bicolor* et les racines du sapin de Douglas. Deux thèses réalisées par Pascale Frey-Klett (1996) et Chantal Brulé (2001) ont permis d'une part de caractériser l'écologie de cette bactérie et d'autre part d'identifier le mode d'action de cette bactérie. Ainsi, celle-ci améliore la survie pré-symbiotique et la croissance du champignon *L. bicolor* en conditions défavorables (Brulé *et al.*, 2001). En retour, la bactérie bénéficie de cette interaction puisque sa survie et sa croissance sont supérieures dans le sol en présence du champignon. J'ai poursuivi, lors de ma thèse, l'analyse de l'interaction entre *P. fluorescens* BBc6R8 et *L. bicolor* S238N avec pour objectif d'identifier les mécanismes moléculaires impliqués dans cette interaction à bénéfices réciproques. Pour ce faire, j'ai utilisé un dispositif de culture *in vitro* en milieu gélosé développé par Pascale Frey-Klett et Béatrice Palin qui reproduit en conditions contrôlées l'interaction mutualiste, à savoir une augmentation de la croissance des deux micro-organismes lorsqu'ils sont mis en culture simultanément ensemble. Afin d'identifier les mécanismes qui sont propres à l'interaction entre *L. bicolor* et la bactérie auxiliaire *P. fluorescens* BBc6R8 de ceux qui sont induits de manière plus générale par la présence de bactéries, ainsi que les mécanismes partagés par des bactéries auxiliaires appartenant à d'autres genres bactériens, nous avons comparé le comportement du champignon mis en présence de différentes souches bactériennes, auxiliaires, antagonistes ou neutres. En parallèle, nous avons comparé le comportement de ces souches

bactériennes au cours de leurs interactions avec le champignon, avant contact physique avec les hyphes du champignon, au moment du contact et après un contact prolongé. Nous avons combiné une approche sans *a priori* utilisant les prémices de la transcriptomique (membranes porteuses d'EST – Expressed Sequenced Tags et puces à ADN) et une approche avec *a priori* portant sur l'implication du tréhalose fongique dans l'interaction avec les bactéries.

Principaux résultats

1. Approches transcriptomiques

Une bactérie aux effets pléiotropes

Nous avons montré que la souche auxiliaire BBc6R8 était la seule souche, parmi celles testées, à induire à la fois une augmentation de la croissance radiale de la colonie, de la densité des apex fongiques et de l'angle de ramification des hyphes (Deveau *et al.*, 2007). Ces modifications morphologiques étaient couplées à des altérations pléiotropes et dynamiques du transcriptome fongique. Cette altération de la transcription, bien que de faible intensité (~2x) débutait avant qu'un contact physique n'ait lieu entre le champignon et la bactérie. Les transcrits dont la concentration variait pendant la phase précoce des interactions – avant contact physique – semblaient impliqués dans les processus de reconnaissance et la régulation de la transcription, tandis que les gènes dont la transcription était régulée aux stades tardifs de l'interaction codaient plutôt pour des protéines du métabolisme primaire. Toutefois, l'analyse comparative du transcriptome fongique au cours de son interaction avec différentes souches bactériennes a montré que le champignon réagissait différemment en fonction des souches bactériennes (Deveau *et al.*, 2007; Deveau *et al.*, 2014). De même, l'étude du transcriptome de chaque souche bactérienne a révélé une réponse transcriptomique spécifique et distincte en présence du champignon. Malgré ces spécificités, nous avons identifié un ensemble de gènes dont la transcription était communément régulée dans toutes les interactions testées et dont les fonctions peuvent être associées à trois grandes catégories : l'interaction cellule-cellule, la réponse au stress et les processus métaboliques (Deveau *et al.*, 2007; Deveau *et al.*, 2014).

Le mystère de la tectonine

Parmi les gènes communément régulés, l'un codant pour une protéine nommée Tectonine 2 avait particulièrement retenu notre attention. Nous étions alors aux prémices de la génomique fongique et tout le laboratoire était plongé dans l'annotation du génome de *Laccaria bicolor*. J'ai ainsi pu participer à l'annotation manuelle du premier génome séquencé d'un champignon ectomycorhizien (Martin *et al.*, 2008). Ma tâche consistait à contrôler et ré-annoter manuellement tous les gènes associés au métabolisme primaire du carbone (Deveau *et al.*, 2008), exercice fastidieux mais aussi addictif. Quoiqu'il en soit, la Tectonine suscitait chez moi une grande curiosité car ses deux homologues les plus proches connus alors provenaient d'une part du myxomycète forestier *Physarum polycephalum*, plus connu du grand public sous le surnom de « Blob », et d'autre part de la limule, un arthropode vivant au fond de l'océan depuis plus de 485 millions d'années. Dans les deux cas, les protéines homologues, des lectines, avaient été identifiées comme impliquées dans les interactions avec les bactéries. Chez la limule, cette protéine joue le rôle d'anticorps circulant dans le sang et intervient dans la première ligne de défense contre les infections bactériennes en

coagulant les bactéries de type Gram négatif. Chez le Blob, elle serait impliquée dans le processus de phagocytose des bactéries dont le myxomycète se nourrit. Il était donc très tentant d'imaginer que la Tectonine 2 de *Laccaria bicolor* était impliquée dans les interactions avec les bactéries du sol. J'ai donc commencé à creuser cette hypothèse. Nous avons fait produire des anticorps recombinant et localisé la protéine à la surface des cellules de *Laccaria bicolor* (Figure 1). L'étape suivante aurait consisté à tester si cette protéine se fixait aux parois des bactéries, chose que je n'ai pu faire, la thèse se terminant. L'histoire aurait pu s'arrêter à ce stade si cette protéine n'avait pas aussi attiré l'attention du Dr. M. Künzler de l'ETH de Zurich. Ce biochimiste de pointe s'est lancé avec son groupe et des collaborateurs de l'université de Grenoble dans la caractérisation approfondie de cette protéine. Ils ont ainsi montré que cette protéine agglomère les bactéries de type Gram négatif et appartient à une méga famille de protéines de défense contre les bactéries, très conservée à travers le règne du vivant incluant bactéries, champignons et animaux (Wohlschlager *et al.*, 2014, 2020). La frustration de n'avoir pas pu aller au bout de l'histoire est compensée par la satisfaction de savoir que l'intuition était juste et que la démonstration a pu en être faite.

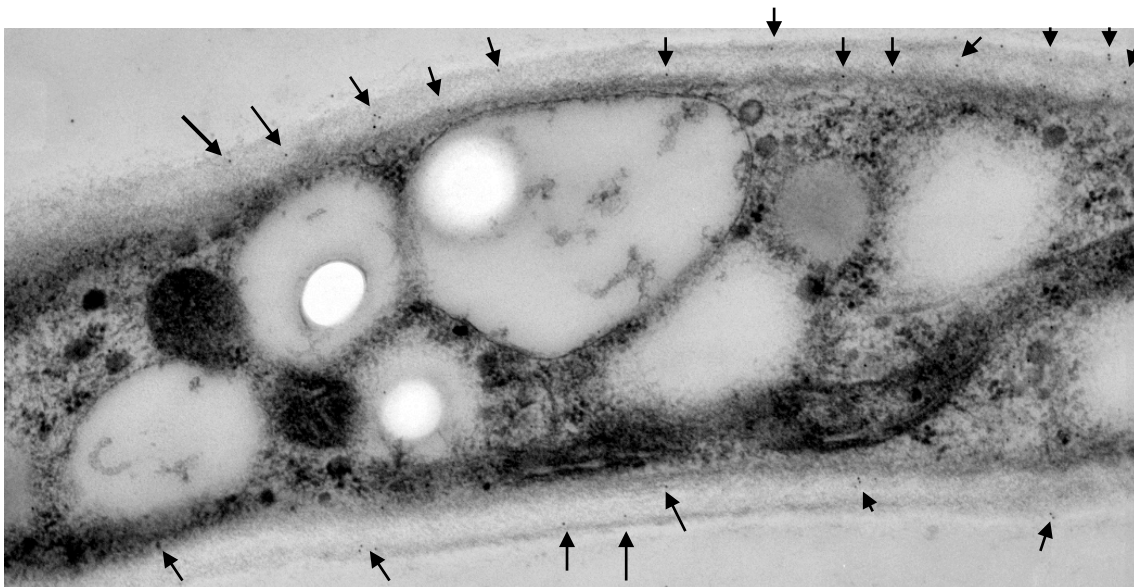


Figure 1. Image en microscopie électronique à transmission de mycélium de *Laccaria bicolor* S238N incubé en présence d'anticorps monoclonaux anti-Tectonine. Les anticorps secondaires couplés à des billes d'or (flèches noires) mettent en évidence la localisation de la Tectonine dans la paroi de la cellule fongique.

Comment reconnaître le non soi quand on est un champignon ?

L'existence de ce type de protéines chez un champignon pose la question des mécanismes de perception de l'environnement biotique par les champignons. Si il est clairement démontré que les plantes et les animaux sont en mesure de détecter la présence de micro-organismes à leur contact et dans leurs tissus, et de mettre en place des réactions de défense adaptées, la chose est plus floue chez les champignons. Cette question est consubstantielle de celle des mécanismes d'interactions entre les bactéries et les champignons : la réponse à une interaction est-elle le fruit d'une perception précise du soi et du non soi chez les champignons ? En d'autres termes, les champignons sont-ils capables de percevoir spécifiquement la présence de bactéries à leurs contacts et de réagir de manière spécifique et adaptée ? Cette interrogation, partagée avec différents collègues spécialistes des interactions bactéries-champignons, m'a poussée à explorer avec Matthieu Paoletti (CNRS

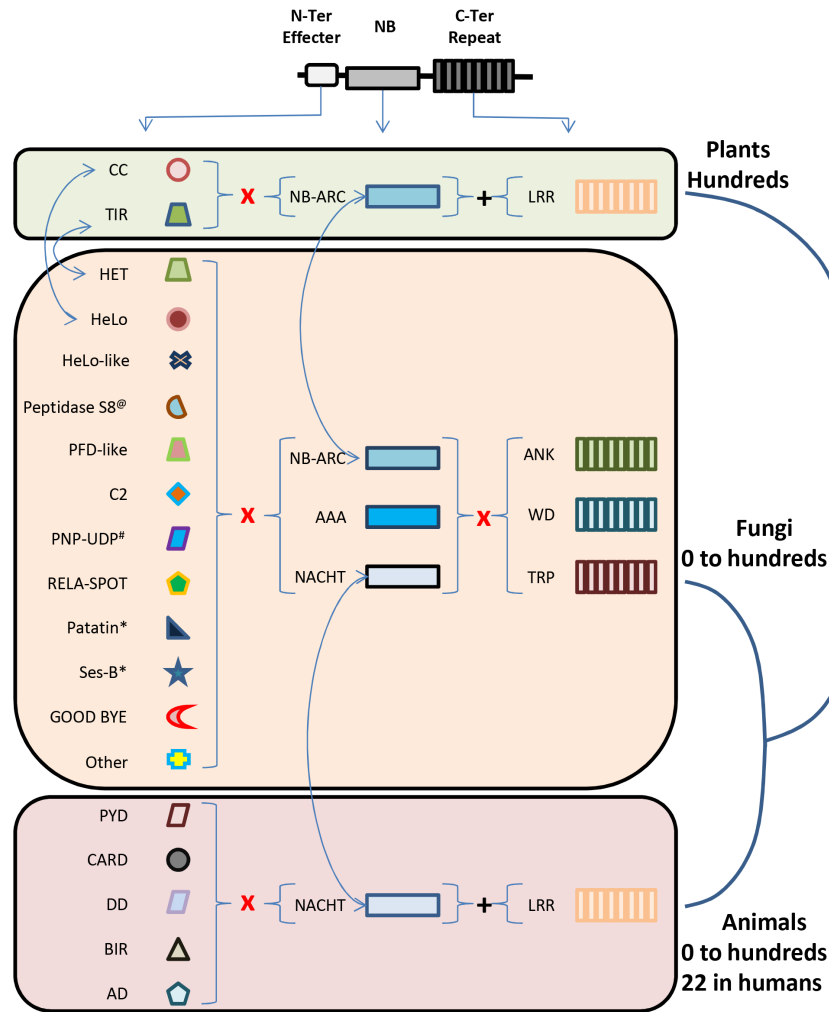


Figure 2. Diversité et abondance des domaines NLR chez les plantes, les animaux et les champignons. Seuls les domaines annotés Pfam-A sont présentés. Les NLR fongiques comprennent des domaines NB trouvés chez les plantes et les métazoaires. Trois types principaux de domaines répétés sont trouvés, mais les LRRs typiquement trouvés dans les NLRs des plantes et des animaux sont absents. Tous les domaines effecteurs fongiques sont également présents dans les protéines non NLR. Certains domaines effecteurs fongiques ont des activités enzymatiques prédites (* pour les lipases, @ pour les protéases, # pour l'UDP-phosphorylase). Presque toutes les combinaisons de domaines effecteurs N-terminaux, de domaines NB centraux et de domaines répétés C-terminaux peuvent être trouvées dans les génomes fongiques. Les flèches indiquent les domaines apparentés entre les branches du règne eucaryote. Abréviations : LRR, Leucin Rich Repeat; NLR, nucleotide oligomerization domain-like receptors. Extrait de Uehling *et al.* 2017

Bordeaux) et Jessie Uehling (Duke University) les pistes qui pourraient suggérer l'existence de systèmes de perception de l'environnement biotique chez les champignons dans la littérature. Chez les animaux et les plantes, une classe de récepteurs cytosoliques de type NOD (Nucleotide Oligomerization Domain), ou NLR (Nucleotide Oligomerization Receptor), contribue au processus de reconnaissance et de discrimination du soi et du non soi, en particulier des pathogènes. Dans un article d'opinion paru dans la revue Plos Pathogens, nous avons fait la synthèse des éléments indiquant que les champignons possèdent eux-aussi des protéines NLR similaires et peuvent utiliser des mécanismes semblables pour reconnaître et répondre au non-soi hétérospécifique (Figure 2) (Uehling *et al.*, 2017).

2. Approches ciblées

Une coopération nutritionnelle

Outre ces mécanismes spécifiques de reconnaissance qui semblent partagés par les règnes végétaux, animaux et fongiques, il existe assurément des processus qui permettent aux champignons et aux bactéries d'interagir. Ceux-ci sont multiples, comme nous l'avons montré dans les articles de synthèse que nous avons rédigés avec plusieurs collègues spécialistes des interactions bactéries-champignons (Frey-Klett *et al.*, 2011; Deveau *et al.*, 2018)(Figure 3). Dans le cas de l'interaction entre *L. bicolor* S238N et *P. fluorescens* BBc6R8, nous avons montré que la stimulation mutuelle de la croissance des deux micro-organismes ne repose pas uniquement sur des modifications transcriptionnelles mais également sur des échanges trophiques. Des travaux initiés par C. Brulé et P. Frey-Klett avaient montré que la bactérie est capable de consommer le tréhalose, un disaccharide fortement accumulé dans les hyphes du champignon et par lequel la bactérie est attirée de manière chimiotactique. Cette capacité, peu répandue chez les bactéries du sol mais non rare chez les bactéries fongiphiles (Warmink *et al.*, 2009) et les bactéries de la mycorrhizosphère (Frey *et al.*, 1997), pourrait permettre à la bactérie de se développer à la surface des hyphes de *Laccaria* et de profiter d'une niche où elle rencontrerait peu de compétitrices. Les comptages de densités bactériennes réalisés au cours du temps dans le sol indiquent en effet que la population bactérienne s'effondre rapidement post-inoculation, suggérant une faible capacité de compétition (Frey-klett *et al.*, 1997) (Figure 4). L'analyse du génome de la souche BBc6R8 conforte cette hypothèse puisque nous n'avons détecté aucun gène codant pour la production d'antibiotiques, pourtant fréquents chez les *P. fluorescens*, à l'exception de la viscosine – un bio surfactant (Deveau *et al.*, 2016). Néanmoins, l'étude de ce génome, à première vue relativement banal en terme de capacités métaboliques et fonctionnelles - tellement banal que mes tentatives pour publier l'analyse détaillée que j'en avais faite se sont révélées infructueuses car pas assez originale pour les lecteurs arbitres – nous ont permis de révéler quelques unes des multiples facettes de l'activité bénéfique de la souche vis-à-vis de son partenaire mycorhizien.

La première entre dans la catégorie des observations sans le moindre degré d'originalité : l'inventaire des capacités métaboliques encodées dans le génome de la bactérie a montré qu'elle était capable de produire de la thiamine, une vitamine (B1) essentielle impliquée comme cofacteur, notamment de décarboxylases. Cette propriété est commune à de nombreuses bactéries PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) et bien que les plantes soient capables de produire par elles-mêmes les vitamines, leur production par des bactéries rhizosphériques stimulerait la croissance de certaines plantes. A l'inverse, les champignons ectomycorhiziens sont souvent auxotrophes pour la production de biotine et de thiamine qui leurs sont fournies lors de la symbiose par leur partenaire végétal (Griffin, 1981). Dans la mesure où l'effet bénéfique de la bactérie se produit au stade pré-symbiotique, nous avons émis l'hypothèse que la bactérie était susceptible de combler la carence en thiamine du champignon et d'ainsi améliorer sa croissance avant la mise en place de la symbiose ectomycorhizienne. La recherche des gènes codant pour la voie de biosynthèse de la thiamine dans le génome de *L. bicolor* S238N a confirmé que cet EcM est incapable de synthétiser *de novo* cette vitamine. En parallèle nous avons montré que la concentration de thiamine sécrétée par BBc6R8 dans le milieu est suffisante pour reproduire l'effet bénéfique de la bactérie sur la croissance du champignon *in vitro* (Deveau *et al.*, 2010). Nous proposons donc que l'interaction à bénéfice réciproque réside, en partie, sur un mutualisme trophique, le champignon fournissant une source de

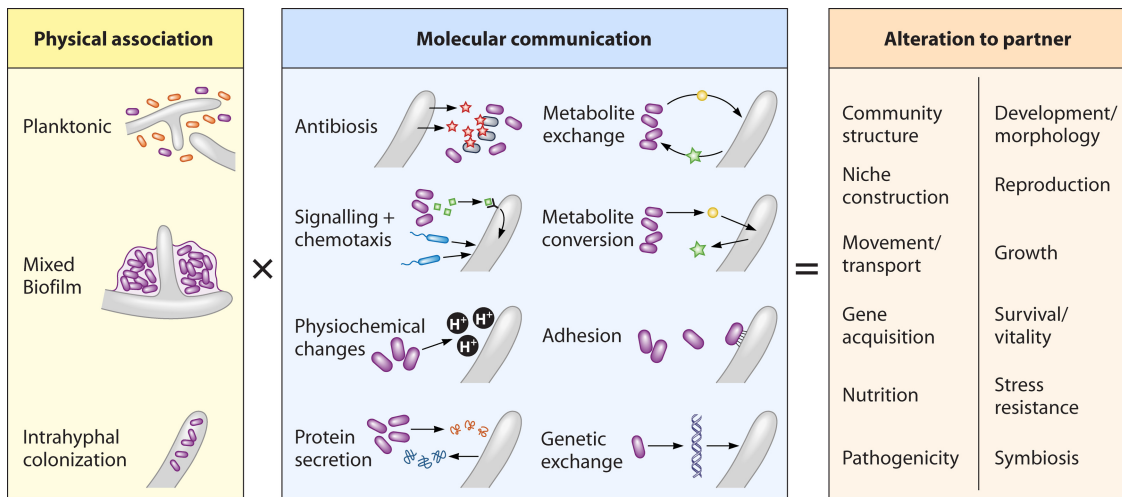


Figure 3. Les interactions bactéries-champignons mises en équation. La combinaison des associations physiques et des interactions moléculaires entre les bactéries et les champignons peut donner lieu à une variété de phénotypes pour chacun des partenaires. Ces réponses peuvent elles-même avoir un effet sur l’environnement biotique et abiotique de ces micro-organismes. Extrait de Frey-Klett *et al.* 2011.

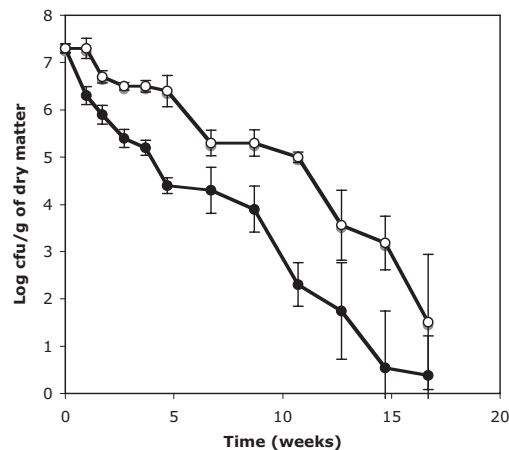


Figure 4. Dynamique de la population de *P. fluorescens* BBc6R8 en présence (blanc) ou en l'absence du mycélium de *L. bicolor* S238N (noir). Expérience en serre réalisée avec un sol de pépinière. Les deux courbes sont statistiquement différentes sur la base d'une ANOVA à deux facteurs (temps x traitement microbien) corrigée par le test de Bonferoni-Dunn ($P < 0.05$). Extrait de Deveau *et al.* 2010.

carbone à la bactérie lui permettant de se développer dans son hyphosphère et celle-ci complétant ses carences en thiamine.

Trainspotting bacteria

La deuxième facette du mécanisme d'interaction entre *L. bicolor* S238N et *P. fluorescens* BBc6R8 révélé par l'étude du génome de la bactérie auxiliaire était plus originale et plus proche d'un front de science : l'implication du système de sécrétion de type III (T3SS) dans une interaction hors du règne végétal ou animal et non pathogène. Souvent surnommées seringues moléculaires, les T3SS sont des assemblages complexes de protéines dérivés du système flagellé qui permettent à des bactéries de type Gram négatif d'injecter dans le cytoplasme de cellules eucaryotes des effecteurs. Les T3SS ont été très largement étudiés en raison de leur rôle crucial dans la pathogénie de bactéries vis-à-vis des végétaux et des animaux, et dans certaines symbioses (McCann and Guttman, 2008). Cependant, dans les années 2000, de plus en plus de données suggéraient que les fonctions écologiques des T3SS étaient plus variées qu'on ne le pensait jusqu'à présent (Preston, 2007) et pourraient être utilisées par les bactéries lors d'interactions non pathogènes avec d'autres eucaryotes que les plantes et les animaux et en particulier les champignons (Mazurier *et al.*, 2004; Warmink and van Elsas, 2008). Lorsque j'ai analysé le génome de BBc6R8 pendant ma thèse, j'ai identifié un cluster de gènes analogue aux systèmes de sécrétion de type III de la souche biocontrôle *P. fluorescens* SBW25 (Figure 5A). A. Cusano, post-doctorante au laboratoire, a ensuite créé des mutants de délétion dans les gènes *rscRST* codant pour le canal central de l'injectisome. Elle n'a pas observé de différence entre les mutants et la souche sauvage sur le taux de croissance radiale de *L. bicolor in vitro* (Figure 5B). En revanche, les mutants T3SS ne stimulaient plus la formation de mycorhizes de *L. bicolor* chez le sapin de Douglas (Figure 5C), ce qui suggère que le T3SS joue un rôle important dans l'effet auxiliaire de la mycorhization de *P. fluorescens* BBc6R8, indépendamment de la promotion de la croissance que BBc6R8 présente *in vitro* (Cusano *et al.*, 2011). Ces résultats suggèrent que l'effet auxiliaire de la mycorhization de BBc6R8 repose sur une combinaison de mécanismes alliant stimulation de la croissance pré-symbiotique et la formation en elle-même des mycorhizes. Des études complémentaires seraient nécessaires pour démontrer que le T3SS identifié fonctionne réellement comme un système d'injection et identifier les effecteurs injectés. Dans cette perspective, une analyse génomique réalisée en collaboration avec l'équipe de J. Labbé de l'ORNL (Oak Ridge National Laboratory) par C. Guennoc durant sa thèse a permis l'identification d'un effecteur potentiel pour lequel un mutant a été généré. Il reste maintenant à tester le phénotype de ce mutant. La cible du T3SS reste également à déterminer : s'agit-il des cellules végétales ou des cellules fongiques ? L'effet bénéfique observé si situant à l'échelle de la mycorhize, on ne peut en effet pas exclure que la bactérie interagisse aussi avec les cellules racinaires pour favoriser la formation des mycorhizes.

L'ADN extracellulaire au cœur des biofilms

Les études menées sur le chimiotactisme de BBc6R8 envers le tréhalose et les hyphes de *L. bicolor* S238N avaient révélé la formation de micro-colonies bactériennes à la surface des hyphes du champignon faisant penser à des biofilms (Deveau *et al.*, 2010). Suite à mon post-doctorat dans le laboratoire du Dr. D Hogan (Dartmouth College, USA) pendant lequel j'avais étudié la régulation de la formation de biofilms par le champignon pathogène *Candida albicans* (Deveau and Hogan, 2011), j'ai étudié la capacité de BBc6R8 à former des biofilms lors de son interaction avec *L. bicolor* S238N.

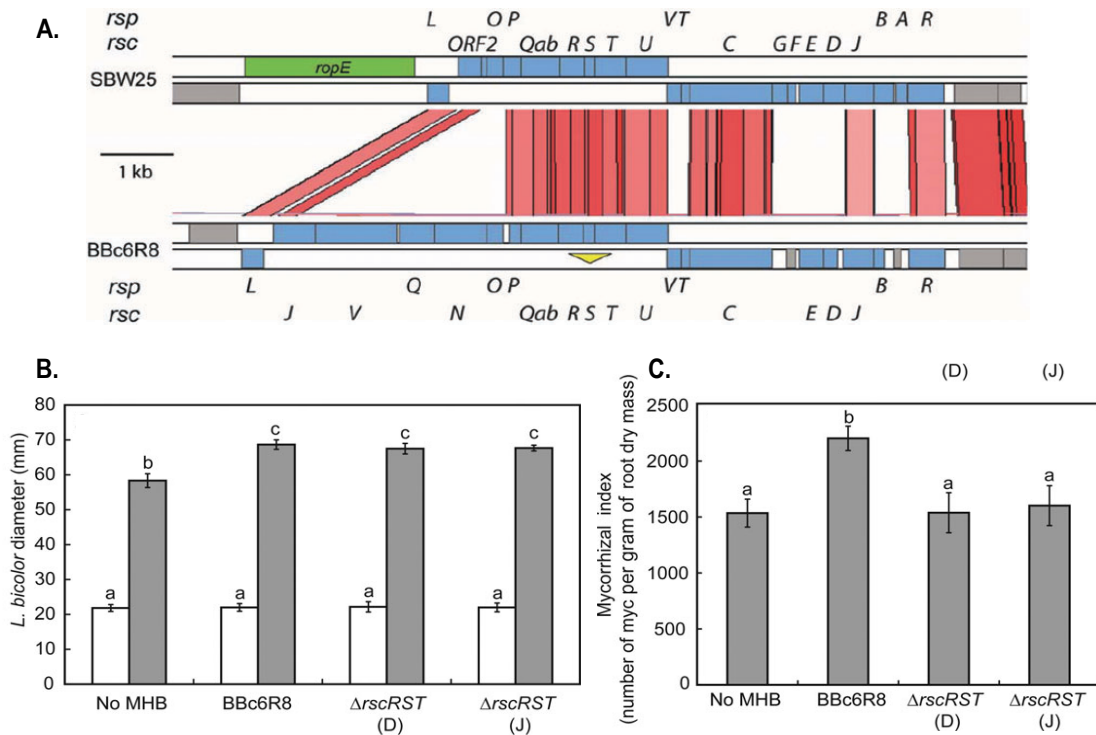


Figure 5. Caractéristiques et rôle du T3SS dans l’effet auxiliaire de la mycorhization de *P. fluorescens* BBc6R8. **A.** Alignement entre les séquences des gènes des T3SS de *P. fluorescens* SBW25 et BBc6R8. **B.** Effets de la souche sauvage *P. fluorescens* BBc6R8 et des mutants de délétion $\Delta rscRST$ sur la croissance de *L. bicolor* *in vitro*. Diamètres des colonies fongiques après 16 (barres blanches) et 40 (barres grises) jours d’interactions. Test Anova à un facteur (traitement). **C.** Effets de la souche sauvage *P. fluorescens* BBc6R8 et des mutants de délétion $\Delta rscRST$ sur le taux de mycorhization du sapin de Douglas par *L. bicolor* S238N. Test Anova à un facteur. Extrait de Cusano *et al.* 2010.

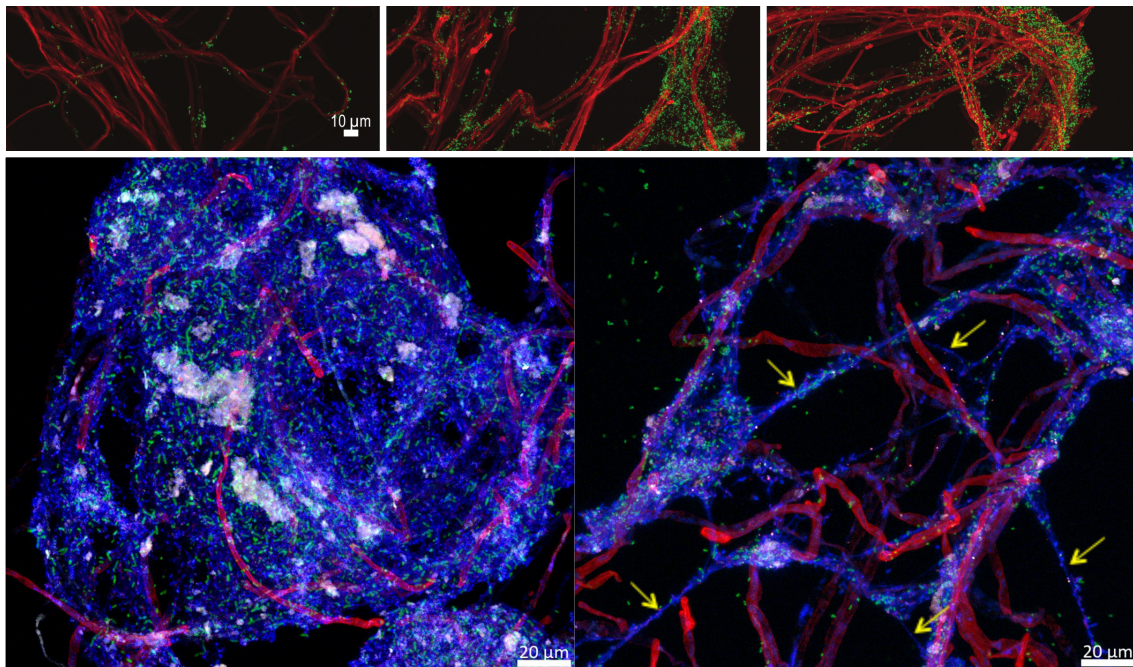


Figure 6. Biofilms formés par *P. fluorescens* BBc6R8 sur les hyphes de *L. bicolor* S238N. **A.** Dynamique de formation du biofilm de la bactérie (vert) sur les hyphes fongiques (rouge): adhésion ~ 30 min, agrégats cellulaires ~ 6hrs, biofilm mature ~ 20 hrs. **B.** Visualisation de la composition des principaux constituants de la matrice du biofilm: ADN extracellulaire (bleu) et protéines (blanc) **C.** Rôle de l’ADNe comme squelette du biofilm. L’ADNe ici visible en bleu forme des filaments de plusieurs dizaines de micromètres (flèches jaunes) auxquels sont fixées les bactéries. Extrait de Guennoc *et al.* 2018.

Les biofilms sont bien plus qu'un simple amas de cellules adhérant à une surface ; ce sont des communautés multicellulaires fonctionnellement structurées et enrobées d'une matrice adhésive complexe. Les biofilms offrent de nombreux avantages : protection contre la prédation, la dessiccation, les toxines, protection contre les variations physico-chimiques de l'environnement. De précédentes études avaient démontré que les biofilms formés par différentes bactéries à la surface de champignons telluriques étaient bénéfiques pour ces derniers en les protégeant de stress abiotiques (Nazir *et al.*, 2014). Toutefois, aucune information n'était disponible concernant la formation de biofilms bactériens à la surface des hyphes de champignons EcM. Une analyse génomique combinée à des tests *in vitro* ayant démontré le potentiel de la bactérie à former des biofilms, nous avons développé avec C. Guennoc un dispositif *in vitro* permettant de suivre la formation de biofilms bactériens à la surface de mycélium fongique par microscopie confocale et par microscopie électronique à balayage (Guennoc *et al.*, 2017). Nous avons ainsi pu décrire la dynamique de formation du biofilm bactérien à la surface des hyphes de *L. bicolor*. Celle-ci débute par l'adhésion de cellules de BBc6R8 à l'extrémité des colonies fongiques une trentaine de minutes après la mise en présence des deux micro-organismes (Figure 6A)(Guennoc *et al.*, 2018). La production d'une matrice essentiellement composée d'ADN extracellulaire (ADNe) et de protéines permet l'agrégation des cellules bactériennes en une colonie dense qui atteint sa maturité en une vingtaine d'heures (Figure 6B, C).

La bactérie forme également des biofilms à la surface des mycorhizes de *L. bicolor*, en particulier sur les hyphes extra-matriciels émergents des mycorhizes. A l'inverse, la bactérie ne colonise pas les hyphes situés à distance des mycorhizes, ce qui suggère l'existence d'une régulation, potentiellement trophique, de la colonisation sous forme de biofilms des hyphes (Figure 7). Quoiqu'il en soit, le phénomène n'est pas spécifique de la souche BBc6R8. Nous avons testé la capacité de 15 souches bactériennes telluriques, bénéfiques, antagonistes ou neutres, et toutes étaient capables de former un biofilm à la surface des hyphes de *L. bicolor* S238N. De plus, toutes ces bactéries utilisaient des filaments d'ADNe comme squelette de base permettant la cohésion des biofilms et leur adhésion à la surface des hyphes (Guennoc *et al.*, 2018). Ces filaments d'ADNe auxquels sont fixées les bactéries peuvent atteindre plusieurs centaines de micromètres de longueur. Le traitement des biofilms avec de la DNase I conduisait à la désagrégation totale des biofilms, suggérant un rôle majeur des filaments d'ADNe dans l'architecture des biofilms bactériens.

Si la capacité à former des biofilms semble être un phénotype très répandu chez les bactéries telluriques et rhizosphériques, la formation de biofilms à la surface des champignons n'est pas systématique. Ainsi BBc6R8 est en mesure de former des biofilms *in vitro* à la surface des hyphes de champignons Basidiomycètes EcM et saprotrophes mais pas à la surface des hyphes des Ascomycètes *Tuber melanosporum* (EcM), *Aspergillus* sp. et *Penicillium* sp (saprotrophes) (Figure 8) (Guennoc *et al.*, 2018). Des travaux plus étendus seraient nécessaires pour déterminer si ce phénomène est lié à l'origine taxonomique des champignons et potentiellement à la composition de la paroi cellulaire, ou si il réside dans d'autres causes. Si la formation de biofilms à la surface des hyphes de champignons peut être bénéfique pour ces derniers en les protégeant de la prédation et divers stress abiotiques, elle peut également être néfaste, en limitant directement l'accès aux nutriments ou indirectement la diffusion des exo-enzymes et métabolites impliqués dans la dégradation de la matière organique ou l'altération minérale.

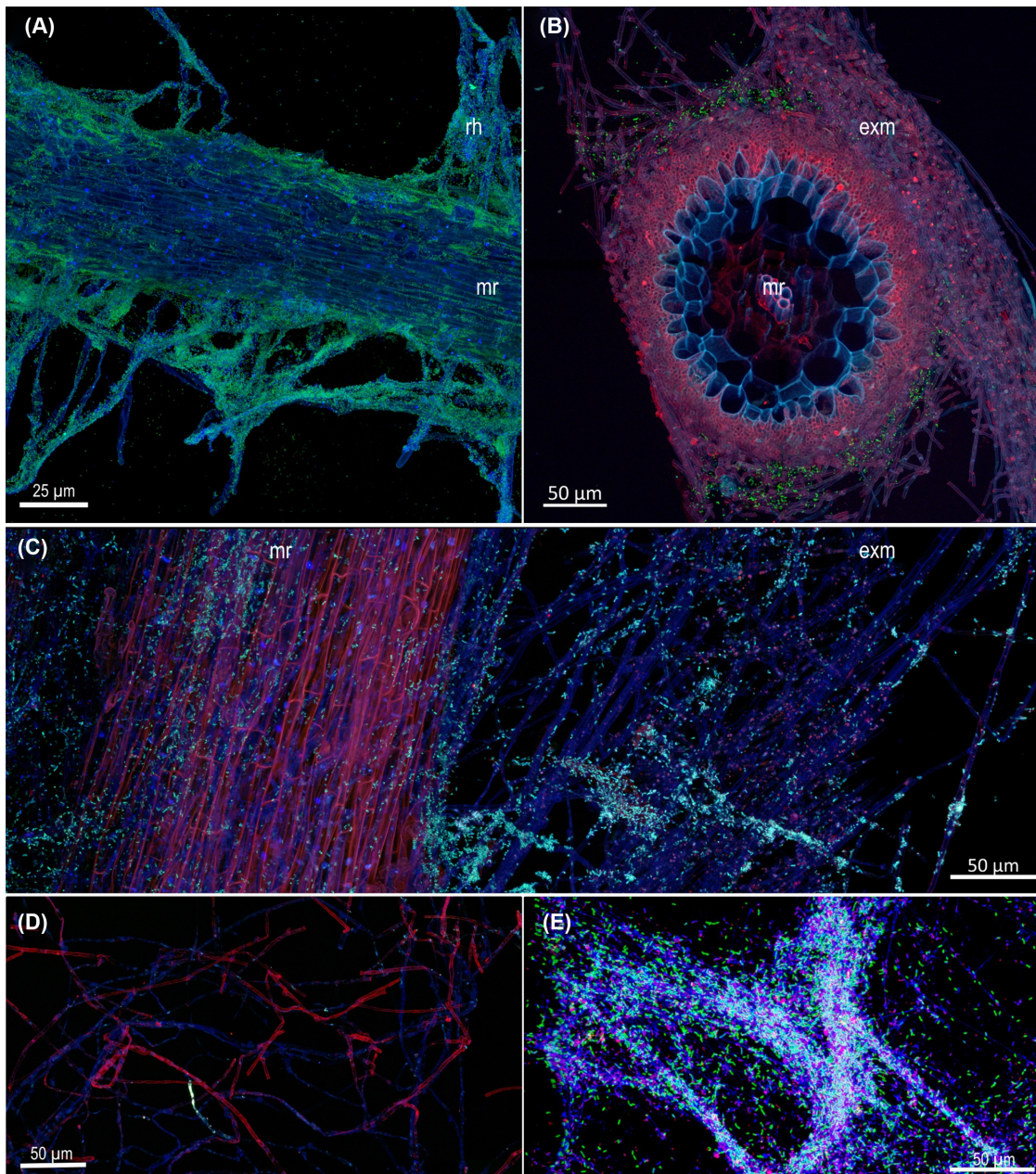


Figure 7. Distribution différentielle des biofilms de *P. fluorescens* BBc6R8 sur les racines de peuplier, les ectomycorhizes et le mycélium extramatriculaire après 16 h d'interaction vue par microscopie confocale. A. Colonisation par BBc6R8 (vert) des racines de peuplier (bleu). B. Section transversale d'ectomycorhize de *L. bicolor* S238N (rouge)-Peuplier (bleu) colonisées par BBc6R8 (vert). C. Hyphes extramatriciels de *L. bicolor* S238N (bleu) entourant la racine de peuplier (rouge) et colonisés par BBc6 (vert). D. B Hyphes extramatriciels (rouge) de *L. bicolor* S238N éloignés de la racine provenant des ectomycorhizes qui ne sont pas colonisés par BBc6 (vert) en présence du système racinaire du peuplier (D) et en son absence (E). Extrait de Guennoc *et al.* 2018

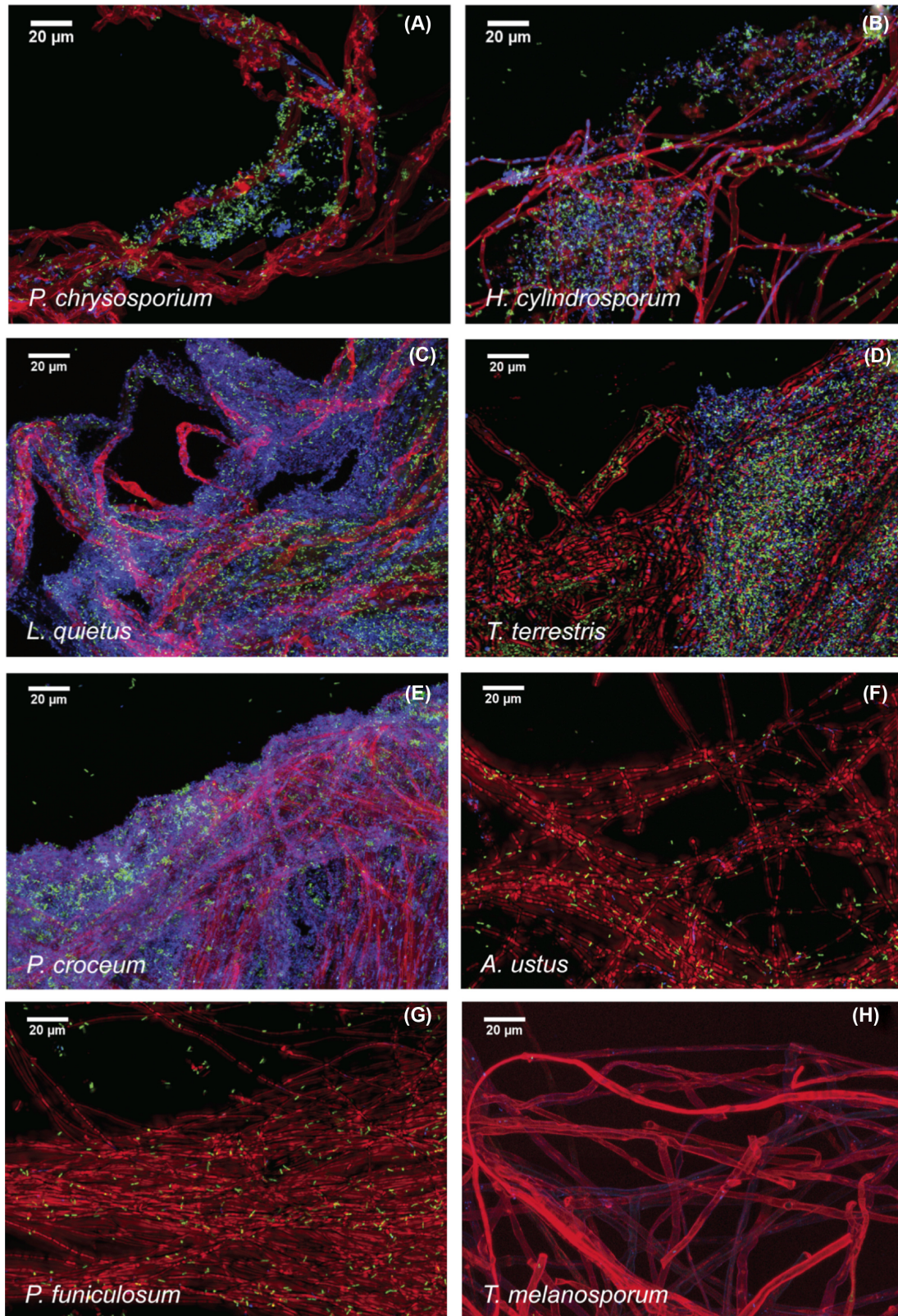


Figure 8. Colonisation différentielle des hyphes de champignons telluriques par *P. fluorescens* BBc6R8. Les cellules bactériennes apparaissent marquées en vert, le mycélium fongique en rouge et l'ADNe en bleu. Extrait de Guennoc *et al.* 2018

Au final, la formation de biofilm par la bactérie auxiliaire *P. fluorescens* BBc6R8 sur les hyphes de *L. bicolor* S238N et ses mycorhizes n'est pas une spécificité de ce couple de micro-organismes. Toutefois, il est possible que la formation de biofilm bactérien soit impliquée dans l'interaction mutualiste entre les deux micro-organismes. En effet des données préliminaires obtenues avec un mutant de BBc6R8 *flgK* incapable de former des biofilms indiquait que ce mutant ne stimulait plus la mycorhization du peuplier par *L. bicolor* (non publié). Toutefois, la mutation affectant la synthèse du flagelle et donc la mobilité bactérienne, le phénotype obtenu pourrait être dû à d'autres mécanismes que la formation de biofilms. Des études complémentaires seraient nécessaires pour explorer cette piste.

3. Un comportement versatile

Bien que nous ayons pu, au cours de ces différentes études, mettre en lumière quelques uns des mécanismes impliqués dans l'effet auxiliaire de la mycorhization de BBc6R8, de nombreuses difficultés ont été rencontrées, la principale étant la versatilité de l'activité bactérienne de BBc6R8. Par commodité, l'Homme aime à classer dans des catégories au contours bien délimités les organismes en fonction des activités qu'ils expriment : pathogènes, symbiontes... Si cela se justifie entièrement pour des micro-organismes très spécialisés, tels que les pathogènes biotrophes ou les champignons mycorhiziens à arbuscules qui ne peuvent vivre en l'absence de leurs hôtes, peu de micro-organismes expriment le phénotype pour lequel ils ont été caractérisés - ou que l'Homme a trouvé le plus notable - en permanence. Au gré des conditions environnementales et des interactions avec les autres organismes, ils peuvent exprimer un panel extrêmement varié de comportements. Même les champignons ectomycorhiziens, que l'on croyait si bien connaître, ne dérogent pas à la règle en se permettant de coloniser les tissus des racines d'herbacées sans y former de mycorhizes (Selosse *et al.*, 2018; Schneider-Maunoury *et al.*, 2020) ! Si cette observation peut être vue comme un lieu commun, elle est souvent oubliée lorsque l'on travaille à l'échelle de la boîte de Pétri, dans des systèmes simplifiés à l'extrême pour justement ne permettre que l'expression du phénotype attendu. Au point que celui-ci ne révèle qu'une toute petite facette, potentiellement anodine, du comportement du micro-organisme ciblé. Les bactéries auxiliaires de la mycorhization, dont la souche BBc6R8, en sont un bon exemple. Si celle-ci peut en effet stimuler la formation de mycorhizes de *Laccaria* et sa survie dans le sol, et stimuler la croissance du champignon *in vitro* dans certaines conditions, elle peut également n'avoir aucun effet voire un effet délétère sur le processus de mycorhization. Ainsi, de nombreuses expérimentations *in vitro* ou en serre, chronophages et coûteuses, se sont révélées infructueuses.

La bataille du fer

Nous avons montré que parmi les trois métabolites secondaires produits par la souche bactérienne - les sidérophores énantio-pyocheline et pyoverdine, et le bio-surfactant viscosine - les sidérophores sont principalement responsables de l'activité antagoniste de la bactérie, lorsque l'accès au fer est limitant. Dans ces conditions, la souche bactérienne continue à produire des facteurs bénéfiques mais leurs effets sont annulés par l'action de ses sidérophores qui rendent le fer inaccessible au champignon, inhibant ainsi son développement (Figure 9)(Deveau *et al.*, 2016). Cette activité antagoniste de la souche *P. fluorescens* BBc6R8 dans des environnements pauvres en fer n'est pas limitée à son influence sur *L. bicolor*, puisqu'elle a également inhibé la croissance de la

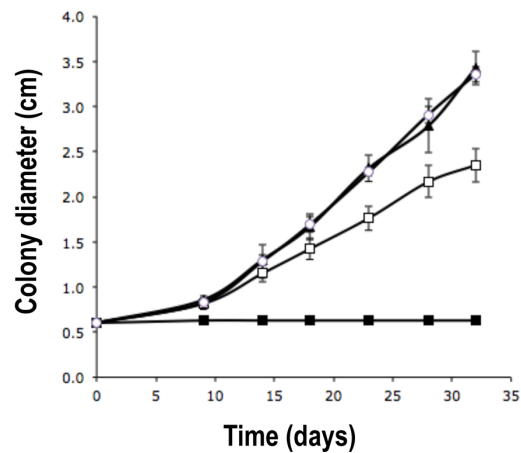


Figure 9. Effet de *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 sur la croissance de *L. bicolor* S238N en conditions carencées en fer *in vitro*. Champignon seul: carrés blancs, champignon + *P. fluorescens* BBc6R8 : carrés noirs, champignon + *P. fluorescens* BBc6R8 mutée pour la production de sidérophores: triangles noirs (clone 7B3), ronds blancs (clone 7C3). Extrait de Deveau et al. 2016

bactérie Actinomycète *Streptomyces ambofaciens* ATCC 23877 (Deveau *et al.*, 2016). Le fer, élément essentiel à la vie des organismes aérobies du fait notamment de son rôle de cofacteur dans la chaîne respiratoire, est généralement faiblement bio-disponible dans les sols, malgré sa grande abondance, car le fer ferrique (Fe^{3+}) réagit avec l'oxygène pour former de l'hydroxyde de fer - $Fe(OH)_3$ - insoluble et inaccessible directement au vivant. L'accès au fer dans les sols est donc l'objet d'une intense compétition entre les micro-organismes dont beaucoup ont développés des mécanismes sophistiqués d'acquisition. Tel est le cas de BBc6R8 qui, au gré des conditions environnementales et biotiques, produit ses sidérophores, inhibe la production de sidérophores par d'autres micro-organismes ou stoppe sa propre production de sidérophores pour capturer, à moindre frais, les sidérophores produits par d'autres bactéries (Galet *et al.*, 2015; Deveau *et al.*, 2016). Ce comportement n'est probablement pas isolé puisque nous avons retrouvé cette activité chez plus d'une soixantaine de souches de *P. fluorescens* isolées de la mycorrhizosphère ainsi que chez des souches modèles de *Pseudomonas* issues d'autres environnements (*P. protegens*, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* Pf-01).

La question qui se pose à ce stade est de savoir s'il s'agit d'un piratage ou de mise en partage de biens communs au sein de communautés complexes. Les conditions utilisées pour mettre en évidence l'existence de cette capture de xénosidérophores sont en faveur d'un acte de piratage puisque celui-ci se traduit par une diminution de la croissance des bactéries fournissant les sidérophores (dont le coût métabolique de production est élevé) au profit de celui des pirates. Mais les conditions utilisées ne permettent potentiellement pas une « rétribution » des donneuses par complémentarité métabolique par exemple, le reste des nutriments n'étant pas limitant, ce qui n'est pas forcément le cas dans un environnement naturel. Il serait ainsi intéressant de rechercher dans quelles conditions naturelles s'expriment les transporteurs de xénosidérophores et si leur expression aboutit à de l'antagonisme ou non. Les travaux menés sur ce sujet par d'autres groupes tendent à suggérer que les deux phénomènes coexistent : dans certains cas il s'agirait d'un mécanisme d'antagonisme sous sélection (Butaité *et al.*, 2017), dans d'autres, la coopération permettrait la structuration des communautés microbiennes (Kramer *et al.*, 2020). Il s'agit là d'un champ de recherche en pleine ébullition. De son côté, le champignon *L. bicolor* est aussi capable de produire des sidérophores de la famille des hydroxamates (fusigène, ferricrocine, triacetylfulsarine) mais à des

niveaux extrêmement faibles, ce qui laisse à penser que le champignon dépend de son hôte pour sa nutrition en fer (Haselwandter *et al.*, 2013) et que l'accès au fer pourrait être un point de faiblesse du champignon dans sa phase de croissance pré-symbiotique dans des sols où la biodisponibilité est faible. Dans ces conditions, la bactérie auxiliaire BBc6R8 ne serait plus bénéfique mais antagoniste.

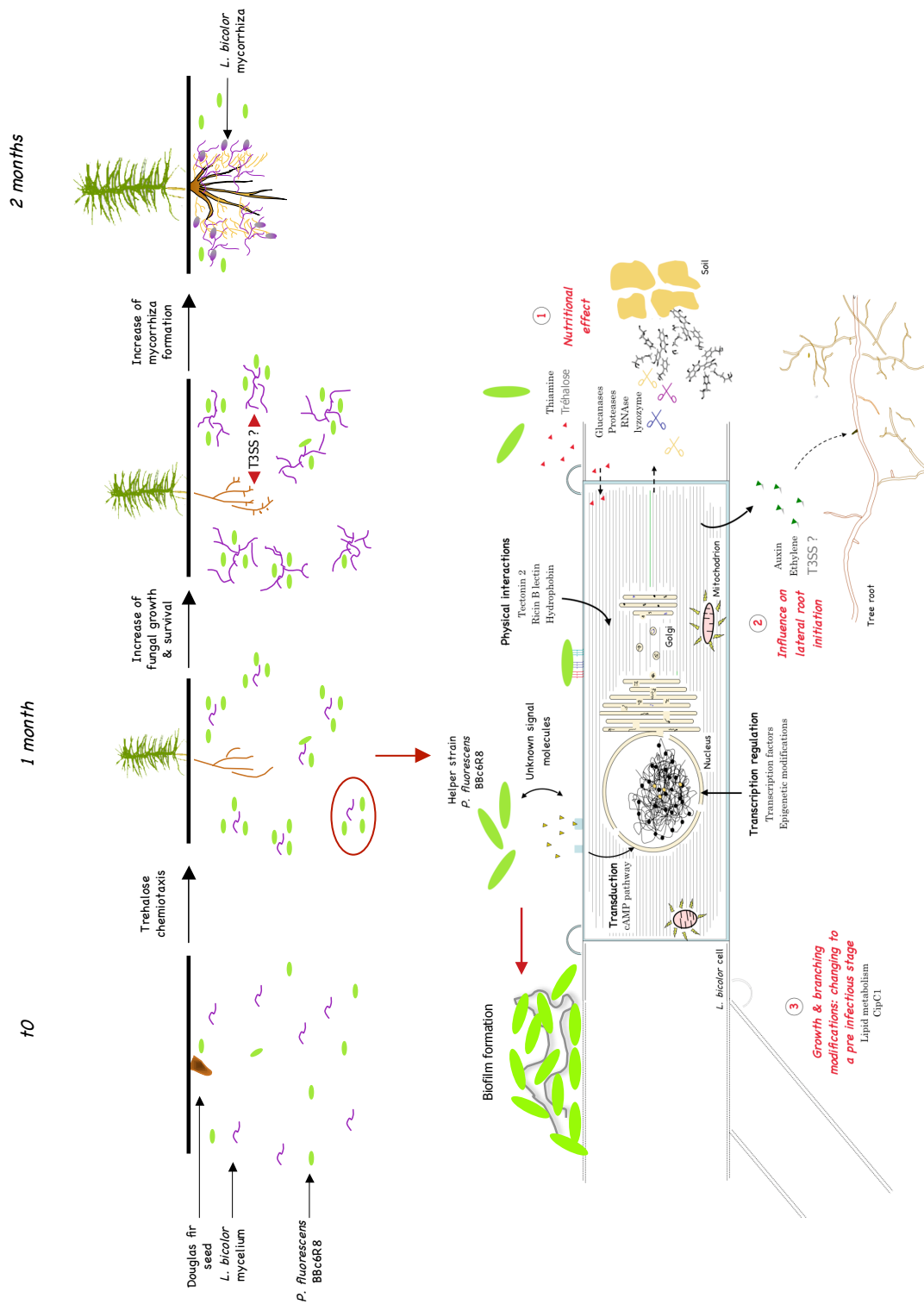


Figure 10. Modèle des mécanismes d’interactions entre *L. bicolor* S238N, *P. fluorescens* BBc6R8 et la sapin de Douglas conduisant à l’augmentation du taux de mycorrhization des racines par le champignon ectomycorhizien et l’amélioration de la survie de la bactérie auxiliaire.

Conclusions

Au travers de l'ensemble de ces travaux, nous avons pu montrer que l'effet auxiliaire de la mycorhization de la souche *P. fluorescens* BBc6R8 vis à vis du champignon *L. bicolor* est le fruit d'une combinaison de mécanismes, trophiques et développementaux et qui s'exercent à la fois sur le stade pré-symbiotique et au moment de la formation de la mycorhize (Figure 10). L'hyphosphère du champignon offrirait une niche pour la bactérie qui consommerait le tréhalose fongique comme source de carbone. La bactérie s'établirait potentiellement sous forme de biofilm à la surface des hyphes et produirait de la thiamine qui complèterait l'auxotrophie du champignon et améliorerait sa croissance pendant la phase pré-symbiotique. En outre, la bactérie produirait des facteurs qui stimulent la ramification des hyphes et accélèreraient ainsi la formation des mycorhizes, la ramification du mycélium étant une étape clé de la colonisation racinaire. Enfin, la bactérie recourrait à l'usage de son système de sécrétion de type III lors de la formation des mycorhizes en interagissant soit avec le champignon, soit avec les racines de l'arbre hôte. Si certains de ces mécanismes sont partagés avec d'autres bactéries auxiliaires de la mycorhization (ex. stimulation de la croissance pré-symbiotique, ramification, Figure 11), d'autres pourraient être plus spécifiques de l'interaction *L. bicolor*-*P. fluorescens* BBc6R8 (ex. T3SS), comme nous l'avons montré dans un chapitre de synthèse sur les mécanismes de l'effet auxiliaire de la mycorhization écrit avec J. Labbé (Deveau and Labbé, 2016).

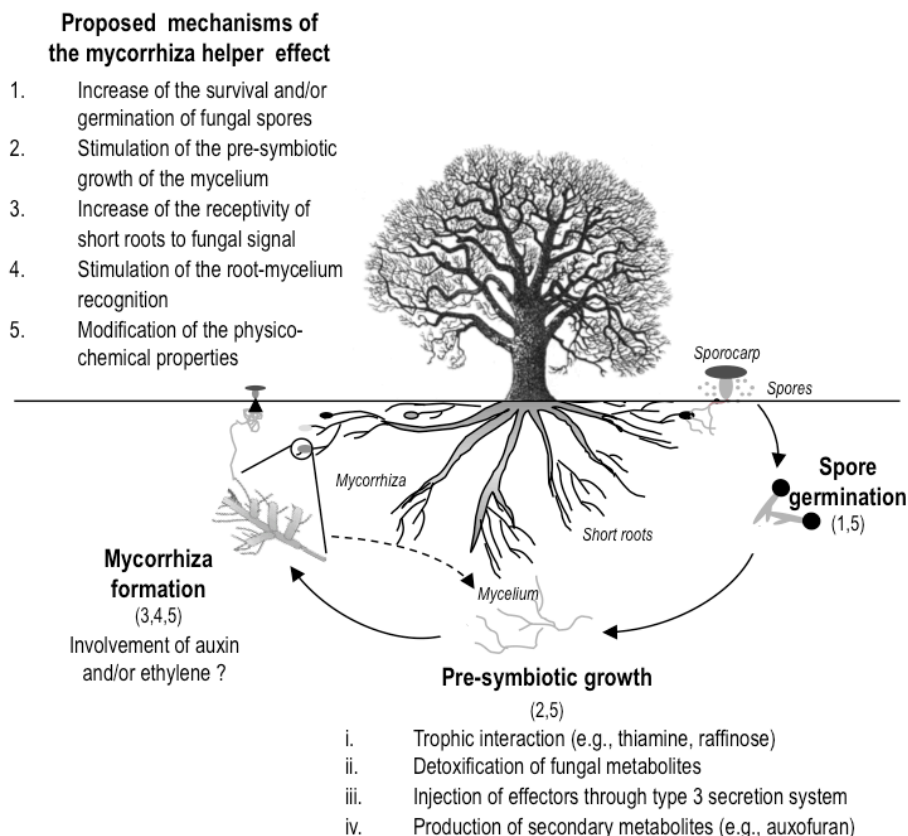


Figure 11. Principaux mécanismes de l'effet auxiliaire de la mycorhization.
Extrait de Deveau & Labbé, 2016.

Même si ces travaux ont apporté des éclaircissements sur les mécanismes d'action de l'effet auxiliaire de la mycorhization, de nombreuses pistes restent à explorer et certains travaux mériteraient d'être approfondis : rôle des tectonines, cibles et mécanismes d'action du T3SS, mécanisme d'utilisation de l'ADNe dans la formation des biofilms mixtes, rôle des biofilms dans l'effet auxiliaire... D'autres mécanismes restent également probablement à découvrir. Néanmoins, j'ai choisi, à la fin de la thèse de C. Miquel Guennoc, de mettre un terme, au moins provisoirement, à mes travaux sur l'interaction entre *L. bicolor* et *P. fluorescens* BBc6R8. Cette décision nait de plusieurs constats. Le premier est d'ordre expérimental et appliqué : comme mentionné précédemment, l'effet auxiliaire de la mycorhization ne s'exprime que dans des conditions très particulières que nous ne maîtrisons que partiellement, ce qui rend les travaux parfois très laborieux et a conduit à de nombreux échecs. Indépendamment de la frustration générée par ces expérimentations infructueuses, de leurs coûts humains et financiers, cela indique également qu'il est très peu probable que cette souche puisse être à terme utilisée d'un point de vue appliqué. Les résultats obtenus à travers ces travaux nous permettent donc d'approfondir nos connaissances fondamentales sur les interactions bactéries-champignons, ce qui constitue en soit une fin tout à fait intéressante et stimulante mais difficile à justifier auprès des agences de financement et de la société qui demande de la science, certes, des connaissances et une compréhension du monde qui nous entoure, mais aussi des retombées pratiques. Si la science fondamentale et non dirigée est essentielle au progrès et que de nombreuses applications découlent de découvertes purement fondamentales, il existe, à mon avis, des domaines où des connaissances fondamentales peuvent être obtenues tout en contribuant à apporter des réponses pratiques à des besoins actuels. C'est le cas, il me semble, des interactions bactéries-champignons, qui s'exercent dans l'essentiel des écosystèmes terrestres, et selon des mécanismes souvent convergents. Il est ainsi possible de traiter d'aspects fondamentaux tout en cherchant à obtenir des retombées pratiques comme nous le faisons actuellement sur l'analyse d'interactions bactéries-champignons lors de la colonisation et décontamination de bois traités par des produits toxiques (ANR Woodwaste, collaboration M. Rouhier, A. Besserer, post-doctorat G. Pandharikar) ou l'étude du microbiote de la truffe.

D'autre part, l'une des limites des études de l'effet auxiliaire de la mycorhization et raison des difficultés rencontrées dans son étude en serre ou en pépinière tient au fait que le microbiote du sol et le microbiote racinaire sont d'une très grande complexité, mettant en jeu des centaines voire des milliers de micro-organismes interagissant de diverses façons, de manière dynamique dans le temps et l'espace et soumis aux contraintes de l'environnement et des actions et réactions des arbres-hôtes. Si la bactérie responsable de l'effet auxiliaire n'est pas un micro-organisme clé de voûte de l'ensemble du système, ce qui n'est pas le cas de *P. fluorescens* BBc6R8, son comportement *in situ* et son devenir sont difficilement prévisibles, à moins d'acquérir une connaissance approfondie des mécanismes qui régissent l'assemblage des communautés microbiennes, les interactions au sein de ces communautés et leurs régulations au cours de la vie des racines. C'est dans cette direction que j'ai décidé de poursuivre mes travaux au travers des thèses de Lauralie Mangeot-Peter (2016-2020), Milena Gonzalo (2016-2019) et Félix Fracchia (2019-2022).

Epilogue

L'ensemble de ces travaux est le fruit d'un travail collectif, débuté par Jean Garbaye et Pascale Frey-Klett dans les années 1990, poursuivi avec l'assistance technique appuyée de Béatrice Palin, qui nous a malheureusement quittés en 2022, de Christine Delaruelle, Frédéric Guinet, Jean-Louis Churin et de Patrice Vion. Il est alimenté par les travaux de thèse de Justine Galet (Laboratoire Dynamic, Université de Lorraine), avec qui j'ai collaboré, et de Cora Miquel Guennoc, dont j'ai co-encadré les travaux avec J. Labbé (ORNL) et Francis Martin. Il repose sur de nombreuses collaborations internes au laboratoire - Francis Martin, Annegret Kohler, Stéphane Uroz, Emmanuelle Morin - locales – Christophe Rose (Silvatech, INRAE Nancy), Bertrand Aigle, Pierre Leblond (Laboratoire Dynamic Université de Lorraine), nationales – Alain Sarniguet, Matthieu Barret (INRA Rennes), Matthieu Paoletti (CNRS Bordeaux) et internationales – Gail Preston (Oxford University, UK), Johan Leveau, Wieste de Boer (NIOO, Pays-Bas), Harald Groß (Tuebingen University, Allemagne), Pieter Dorrestein (UC San Diego, USA), Jessy Labbé (Oak Ridge National Laboratory, USA), Jessie Uehling (Oregon State University, USA).

Financement

Ces recherches ont été financées en grande partie par le LABEX ARBRE, le Département Américain à l'Énergie, la région Lorraine et l'INRAE (Tableau 1).

Tableau 1. Liste des financements que j'ai obtenus et auxquels j'ai participé qui ont permis la réalisation du projet de recherche portant sur les mécanismes d'interactions entre *P. fluorescens* BBc6R8 et *L. bicolor* S238N

Années	Origine	Type	Projet	Montant	Rôle
2011-2012	Région Lorraine	Projet de recherche	Rôle des métabolites microbiens dans les interactions bactéries-champignons	6000 €	Coordinatrice
2012-2013	Région Lorraine	Projet de recherche	Rôle des métabolites microbiens dans les interactions bactéries-champignons	6000 €	Coordinatrice
2012-2013	LABEX ARBRE	Projet de recherche	Towards the understanding of microbial dialogues with forest soil ecosystems : study of the metabolic exchanges between Streptomyces and Pseudomonas	10 000€	Partenaire (Leader P. Leblond, B. Aigle)
2013-2016	INRA-EFPA	½ bourse de thèse	Étude de l'interaction physique entre le champignon ectomycorhizien <i>Laccaria bicolor</i> S238N et la bactérie auxiliaire de la mycorhization <i>Pseudomonas fluorescens</i> BBc6	50 k€	Coordinatrice
2013-2016	Oak Ridge National Laboratory	½ bourse de thèse	Étude de l'interaction physique entre le champignon ectomycorhizien <i>Laccaria bicolor</i> S238N et la bactérie auxiliaire de la mycorhization <i>Pseudomonas fluorescens</i> BBc6	50k€	Partenaire (Leader J. Labbé)
2014	LABEX ARBRE	Mission longue durée UCSD	Analyse d'échanges métaboliques entre micro-organismes par Imagerie à spectromètre de masse (IMS)	3500 €	Coordinatrice
2013-2021	Département Américain à l'énergie	Projet de recherche	Plant Microbe interface	200 k€/an	Partenaire (Leader J. Tuskan/F. Martin)

Diffusion des résultats

Les résultats de ces travaux ont été diffusés via 13 articles de recherche dans des revues internationales, 2 articles de revues, 2 articles d'opinion, 3 chapitres de livres, 2 articles de vulgarisation scientifique dans des revues grand public et un chapitre d'ouvrage collectif de vulgarisation scientifique, ainsi que la participation via des communications orales et sous forme d'affiches à plus de 10 congrès nationaux et internationaux. Ils ont été récompensés par le second prix de la thèse de région Lorraine (2009) et du prix du meilleur poster au Symposium New Phytologist (Nancy, 2006) et du congrès Annuel de British Mycological Society (Alicante, 2012).

Thèses

A. Deveau. Déterminisme moléculaire des interactions entre le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* S238N et des bactéries du sol. 2007. Université H. Poincaré

C. Miquel Guennoc. Étude de l'interaction physique entre le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* S238N et la bactérie auxiliaire de la mycorhization *Pseudomonas fluorescens* BBc6. 2017. Université de Lorraine

Rapports de Master

A. Schweizer. Mise au point de l'étude transcriptomique de la bactérie *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 formant du biofilm sur le champignon *Laccaria bicolor* S238N. 2016. Université de Lorraine

Publications dans des journaux à comité de lecture

Larry Millet, Jayde Aufrecht, Jessy Labbé, Jessie Uehling, Rytas Vilgalys, Cora Miquel Guennoc, Aurélie Deveau et al.. Increasing access to microfluidics for studying fungi and other branched biological structures. **Fungal Biology and Biotechnology**, Biomed Central, 2019, 6 (1), {10.1186/s40694-019-0071-z}. {hal-02939175}

Cora Guennoc, Christophe Rose, Jessy Labbé, Aurélie Deveau. Bacterial biofilm formation on the hyphae of ectomycorrhizal fungi: A widespread ability under controls? **FEMS Microbiology Ecology**, Wiley-Blackwell, 2018, 94 (7), {10.1093/femsec/fiy093}. {hal-01890693}

Aurélie Deveau, Gregory Bonito, Jessie Uehling, Mathieu Paoletti, Matthias Becker, et al.. Bacterial-fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. **FEMS Microbiology Reviews**, Wiley-Blackwell, 2018, 42 (3), pp.335-352. {10.1093/femsre/fuy008}. {hal-01954717}

Cora Miquel Guennoc, Christophe Rose, Frédéric Guinet, Igor Miquel, Jessy Labbé, Aurélie Deveau. A new method for qualitative multi-scale analysis of bacterial biofilms on filamentous fungal colonies using confocal and electron microscopy. **Journal of visualized experiments : JoVE**, JoVE, 2017, {10.3791/54771}. {hal-01547565}

Jessie Uehling, Aurélie Deveau, Mathieu Paoletti. Do fungi have an innate immune response? An NLR-based comparison to plant and animal immune systems. **PLoS Pathogens**, Public Library of Science, 2017, 13 (10), pp.1-8. {10.1371/journal.ppat.1006578}. {hal-02628840}

Aurélie Deveau, Harald Gross, Béatrice Palin, Samina Mehnaz, Max Schnepf, et al. Role of secondary metabolites in the interaction between *Pseudomonas fluorescens* and soil microorganisms under iron-limited conditions. **FEMS Microbiology Ecology**, Wiley-Blackwell, 2016, 92 (8), pp.1-11. {10.1093/femsec/fiw107}. {hal-01490770}

Aurélie Deveau, Matthieu Barret, Abdala Gamby Diedhiou, Johan Leveau, Wietse de Boer, et al. Pairwise transcriptomic analysis of the interactions between the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N and three beneficial, neutral and antagonistic soil bacteria. **Microbial Ecology**, Springer Verlag, 2015, 69 (1), pp.146-159. {10.1007/s00248-014-0445-y}. {hal-01208788}

Justine Galet, Aurélie Deveau, Laurence Hotel, Pascale Frey-Klett, Pierre Leblond, et al.. *Pseudomonas fluorescens* Pirates both Ferrioxamine and Ferricoelichelin Siderophores from *Streptomyces ambofaciens*. **Applied and Environmental Microbiology**, American Society for Microbiology, 2015, 81 (9), pp.3132-3141. {10.1128/AEM.03520-14}. {hal-01269032}

Aurélie Deveau, H Gross, Emmanuelle Morin, T Karpinets, S Utturkar, et al. Genome Sequence of the Mycorrhizal Helper Bacterium *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8. **Genome Announcements**, American Society for Microbiology, 2014, 2 (1), pp.e01152-13 - e01152-13. {10.1128/genomeA.01152-13}. {hal-01579698}

Justine Galet, Aurélie Deveau, Laurence Hotel, Pierre Leblond, Pascale Frey-Klett, et al.. Gluconic acid-producing *Pseudomonas* sp. prevent γ -actinorhodin biosynthesis by *Streptomyces coelicolor* A3(2). **Archives of Microbiology**, Springer Verlag, 2014, 196 (9), pp.619-627. { 10.1007/s00203-014-1000-4 }. { hal-01268576 }

Angéla Cusano, Peter Burlinson, Aurélie Deveau, Patrice Vion, Stéphane Uroz, et al.. *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 type III secretion mutants no longer promote ectomycorrhizal symbiosis. **Environmental Microbiology Reports**, Wiley, 2011, 3 (2), pp.203-210. { 10.1111/j.1758-2229.2010.00209.x }. { hal-02650375 }

Aurélie Deveau, Cédric Brulé, Béatrice Palin, D. Champmartin, P. Rubini, et al.. Role of fungal trehalose and bacterial thiamine in the improved survival and growth of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N and the helper bacterium *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8. **Environmental Microbiology Reports**, Wiley, 2010, 2 (4), pp.560-568. { 10.1111/j.1758-2229.2010.00145.x }. { hal-02663710 }

F. Martin, A. Aerts, D. Ahrén, A. Brun, E. G. J. Danchin, et al. The genome of *Laccaria bicolor* provides insights into mycorrhizal symbiosis. **Nature**, Nature Publishing Group, 2008, 452 (7183), pp.88-93. { 10.1038/nature06556 }. { halsde-00261893 }

Aurélie Deveau, Annegret Kohler, Pascale Frey-Klett, Francis Martin. The major pathways of carbohydrate metabolism in the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* S238N. **New Phytologist**, Wiley, 2008, 180 (2), pp.379-390. { 10.1111/j.1469-8137.2008.02581.x }. { hal-02661726 }

Aurélie Deveau, Béatrice Palin, Christine Delaruelle, Magali Peter, Annegret Kohler, et al.. The mycorrhiza helper *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 has a specific priming effect on the growth, morphology and gene expression of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N. **New Phytologist**, Wiley, 2007, 175 (4), pp.743-755. { 10.1111/j.1469-8137.2007.02148.x }. { hal-01195008 }

Chapitres d'ouvrages

Mika Tarkka, Aurélie Deveau. 8 An Emerging Interdisciplinary Field: Fungal–Bacterial Interactions. *Environmental and Microbial Relationships*, Springer International Publishing, pp.161-178, 2016, { 10.1007/978-3-319-29532-9_8 }. { hal-02989888 }

Aurélie Deveau, Jessy Labbé. Mycorrhiza helper bacteria. Francis Martin. **Molecular Mycorrhizal Symbiosis**, John Wiley & Sons, Inc., pp.437-450, 2016, 9781118951446. { hal-01950235 }

Aurélie Deveau, Jonathan Michael Plett, Valérie Legué, Pascale Frey-Klett, Francis Martin. Communication between plant, ectomycorrhizal fungi and helper bacteria. **Biocommunication of Fungi**, Springer, pp.229-247, 2012, 978-94-007-4263-5 978-94-007-4264-2. { hal-02804398 }

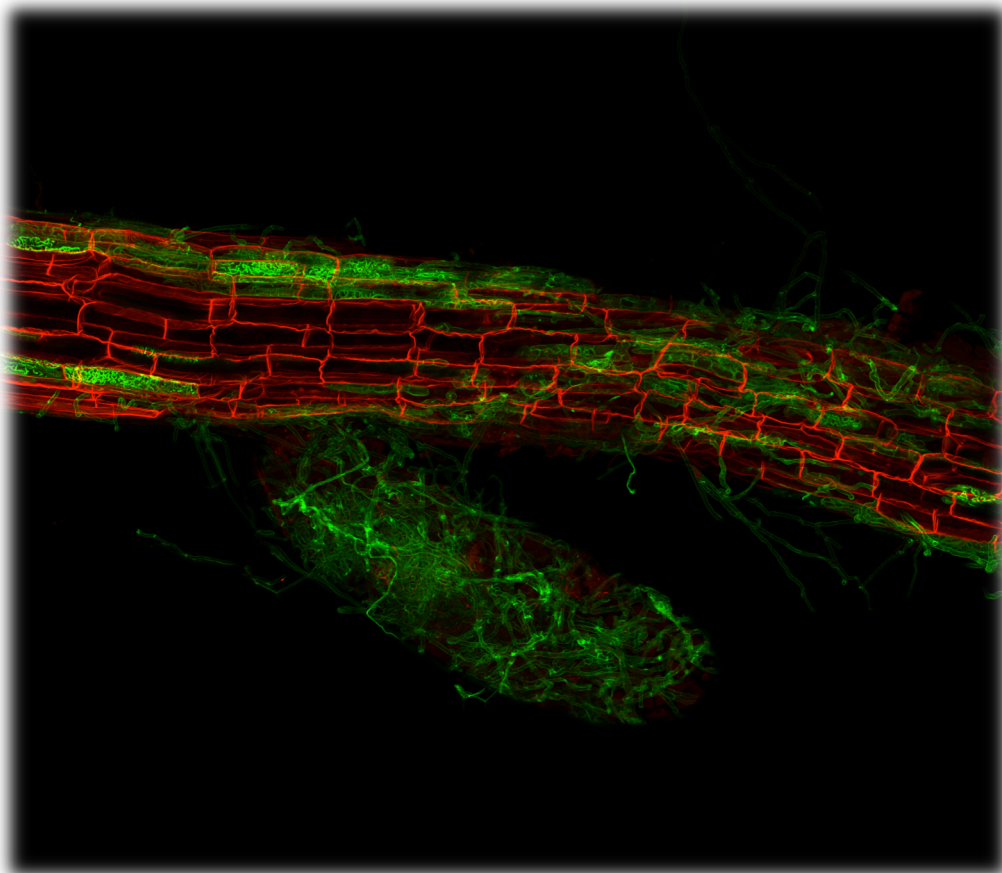
Ouvrages grand public

Aurélie Deveau, Francis Martin. Les bactéries intracellulaires des champignon. *101 secrets de l'ADN*, 2019. { hal-03794299 }

Aurélie Deveau, Jean Garbaye, Pascale Frey-Klett. Des bactéries à la rescousse des champignons symbiotiques. **Biofutur**, 2008. 284 < hal-03910412v1 >

CHAPITRE 2

Mécanismes de régulation de la colonisation du système racinaire du peuplier par les micro-organismes telluriques (2016 - ...)



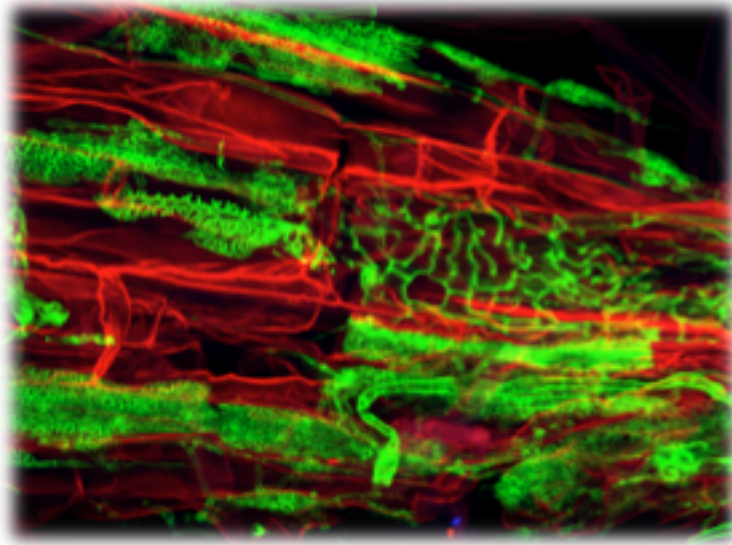


Figure 12. Mycobiote d'une racine de peuplier tel que visualisé par microscopie confocale. Les cellules de plantes apparaissent en rouge (marquage au iodure de propidium) et celles de champignons en vert (marquage au WGA couplé à l'Alexa Fluor).

Introduction

Bien que le concept de rhizosphère – zone de sol sous l’influence des racines très abondamment colonisées par les micro-organismes – date de la fin du XIX^{ème} siècle (Hiltner, 1904, Hartmann *et al.*, 2008) et que de multiples travaux aient démontré le rôle crucial des micro-organismes de la rhizosphère dans la biologie de la plante depuis les années 1950, l’étude des communautés microbiennes (myco)rhizosphérique a longtemps été un domaine de recherche méconnu et un sujet de niche, d’autant plus dans le domaine forestier où seuls quelques laboratoires, dont l’UMR IAM, étaient spécialistes. L’émergence des techniques de séquençage haut-débit et en particulier de la métagénomique monogénique, a changé la donne dans les années 2005-2010 et l’étude des communautés microbiennes, renommée depuis microbiote, a connu un essor considérable en révélant de manière sans précédent la richesse et la complexité des microbiotes et en mettant en lumière aux yeux de tous les effets aussi bien bénéfiques que néfastes que peuvent avoir les microbiotes sur leurs hôtes et les interactions complexes que ceux-ci entretiennent. En quelques années, le microbiote est devenu le terme à la mode dont même les publicitaires s’emparent. Grâce à cet engouement, pléthore de données ont été acquises décrivant les microbiotes de milliers de plantes sauvages et cultivées et ont permis d’identifier les principaux facteurs abiotiques et biotiques qui interviennent dans la structuration du microbiote.

Les arbres forestiers des régions boréales et tempérées se singularisent des autres plantes par la colonisation de l’essentiel de leurs racines courtes par des champignons EcM. Ainsi quasiment chaque racine courte d’un arbre sain forme une ectomycorhize et plusieurs dizaines voire centaines d’espèces de champignons EcM colonisent simultanément le système racinaire d’un arbre sain. Au gré du renouvellement des racines courtes, des saisons, de l’âge et de la physiologie de l’arbre, et des conditions de l’environnement, les communautés de champignons EcM se renouvellent et évoluent. Chaque EcM abrite une communauté bactérienne spécifique qui se distingue de celle des racines nues (par opposition aux racines mycorhizées) et dont la composition varie en fonction des espèces de champignons EcM (Marupakula *et al.*, 2016). Le système racinaire d’un arbre abrite donc une multitude de micro-habitats formés par chaque ectomycorhize et dont les capacités fonctionnelles varient en fonction de l’espèce d’EcM et de son microbiote associé (Courty, Buée, *et al.*, 2010). En outre, les racines sont également colonisées par un cortège de champignons endophytes et saprotrophes, qui colonisent aussi bien les ectomycorhizes que le reste du système racinaire, mais dont les activités fonctionnelles sont pour le moment peu connues. Un véritable zoo, mais un zoo sous contrôle (Figure 12).

L’une des questions majeures de nos jours est de savoir quelle part de contrôle les plantes, et pour ce qui nous concerne les arbres, ont sur la composition de leurs microbiotes. Le peuplier est un modèle intéressant pour étudier cette question. En raison de son intérêt économique (deuxième essence d’arbre produite en France en biomasse après le chêne), de sa culture aisée par bouturage, de la possibilité de pratiquer la mutagénèse, il est devenu un modèle végétal d’étude et de très nombreuses données sont disponibles concernant sa physiologie, sa génétique et son microbiote. C’est également le modèle que nous utilisons dans le laboratoire pour décrypter les mécanismes du dialogue moléculaire permettant l’établissement des mycorhizes de *L. bicolor* (Martin *et al.*, 2008; J.M. Plett *et al.*, 2014). Le peuplier a la particularité de pouvoir également interagir avec des champignons mycorhiziens à arbuscules (AM), un fait plutôt rare chez les arbres forestiers.

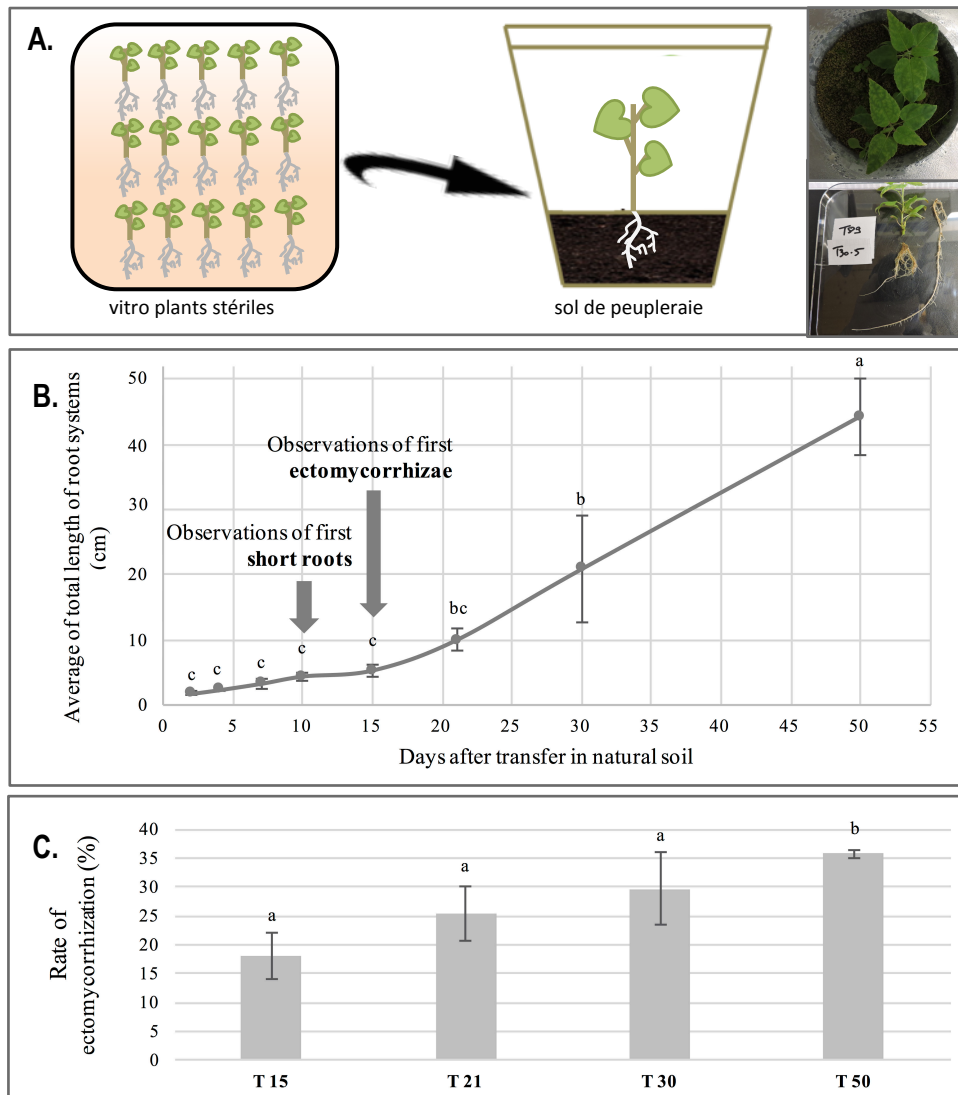


Figure 13. Mésocosme utilisé pour étudier la dynamique de colonisation du système racinaire de peuplier. **A.** Les peupliers sont multipliés par bouturage de manière stérile puis replantés à l'âge de 5 semaines dans des pots scellés contenant du sol naturel prélevé en peupleraie. Les photos montrent l'aspect général de la plantule à 30 jours après plantation dans le mésocosme. **B.** Courbe de croissance du système racinaire en mésocosme. **C.** Evolution du taux de mycorrhization au cours du temps des racines de peupliers cultivés dans le mésocosme.

Enfin, il est abondamment colonisé par des champignons endophytes¹. De manière intéressante, la proportion de champignons EcM et d'endophytes varie très fortement en fonction du génotype mais aussi des conditions environnementales pouvant passer d'un ratio 95:5 à 30:70 (Foulon *et al.*, 2016). Nous avons émis l'hypothèse que la composition du microbiote racinaire du peuplier est contrôlée, en partie, par l'arbre et permet à l'arbre d'ajuster la composition de son microbiote à ses besoins en fonction des conditions environnementales.

Afin de pouvoir analyser de manière contrôlée la colonisation du système racinaire du peuplier par les communautés complexes naturelles de micro-organismes, nous avons développé un dispositif de culture de peuplier en mésocosme (Figure 13). Des boutures de peupliers sont produites de manière axénique puis plantées dans un sol issu d'une peupleraie et naturellement colonisé par les micro-organismes. La formation du microbiote de la plantule et la physiologie de cette dernière peuvent ainsi être suivis pendant une cinquantaine de jours en combinant des analyses par microscopie confocale à balayage laser, la métagénomique monogénique et la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide et gazeuse (LC-MS et GC-MS).

Principaux résultats

1. Dynamique de colonisation du peuplier par les micro-organismes telluriques

Une colonisation précoce du système racinaire par vagues successives de micro-organismes

Nous avons pu décrire avec précision les différentes phases permettant l'établissement du microbiote des racines à partir du sol (Fracchia *et al.*, 2021). Nous avons ainsi montré que la colonisation débute de manière très précoce, dès 24 heures après la plantation et se déroule en trois phases, selon des dynamiques différentes pour les bactéries et les champignons (Figure 14).

Durant la phase précoce qui dure quelques jours, le rhizoplan est colonisé par les champignons saprotrophes qui dominent dans le sol. Certains d'entre eux pénètrent dans la racine au niveau de l'apoplaste. Toutefois, ceux-ci sont progressivement remplacés par des endophytes et des champignons EcM qui finissent par complètement dominer à partir de 30 jours. Les AM commencent à être visibles dans une phase intermédiaire, une dizaine de jours après la plantation. Les communautés bactériennes, quant à elles, se distinguent très nettement de celles du sol dès 24h après la plantation, mais comme pour les champignons, leur composition évolue progressivement au cours du temps pour se stabiliser après une trentaine de jours. Le remplacement des membres les plus abondants des communautés fongiques et bactériennes observé dans les racines de peuplier au fil du temps suggère l'existence potentielle de compétition entre les micro-organismes et/ou une sélection par l'hôte. Les exsudats racinaires jouent probablement un rôle important dans les étapes précoces de colonisation en attirant les micro-organismes copiotrophes et en ayant un effet de sélection sur les communautés bactériennes. Des analyses en GC-MS réalisées par nos collaborateurs de l'ORNL ont montré que les exsudats des peupliers cultivés dans nos microcosmes contiennent au moins trois grandes catégories de composés : sucres (glycérol, saccharose, glucose), acides organiques (acides succinique, glycérique, oxalique) et des salicylates (salicine, trémuloidine, populine)(Fracchia *et al.*, in prep). La concentration de certains de ces exsudats, notamment de sucres, augmentent au cours du temps et pourraient donc jouer un rôle dans la dynamique de colonisation par certains micro-organismes en particulier les copiotrophes (Figure 15).

¹ Le terme endophyte est ici utilisé pour désigner des micro-organismes vivant à l'intérieur de tissus végétaux mais il n'inclut pas les champignons à arbuscules et les champignons ectomycorrhiziens

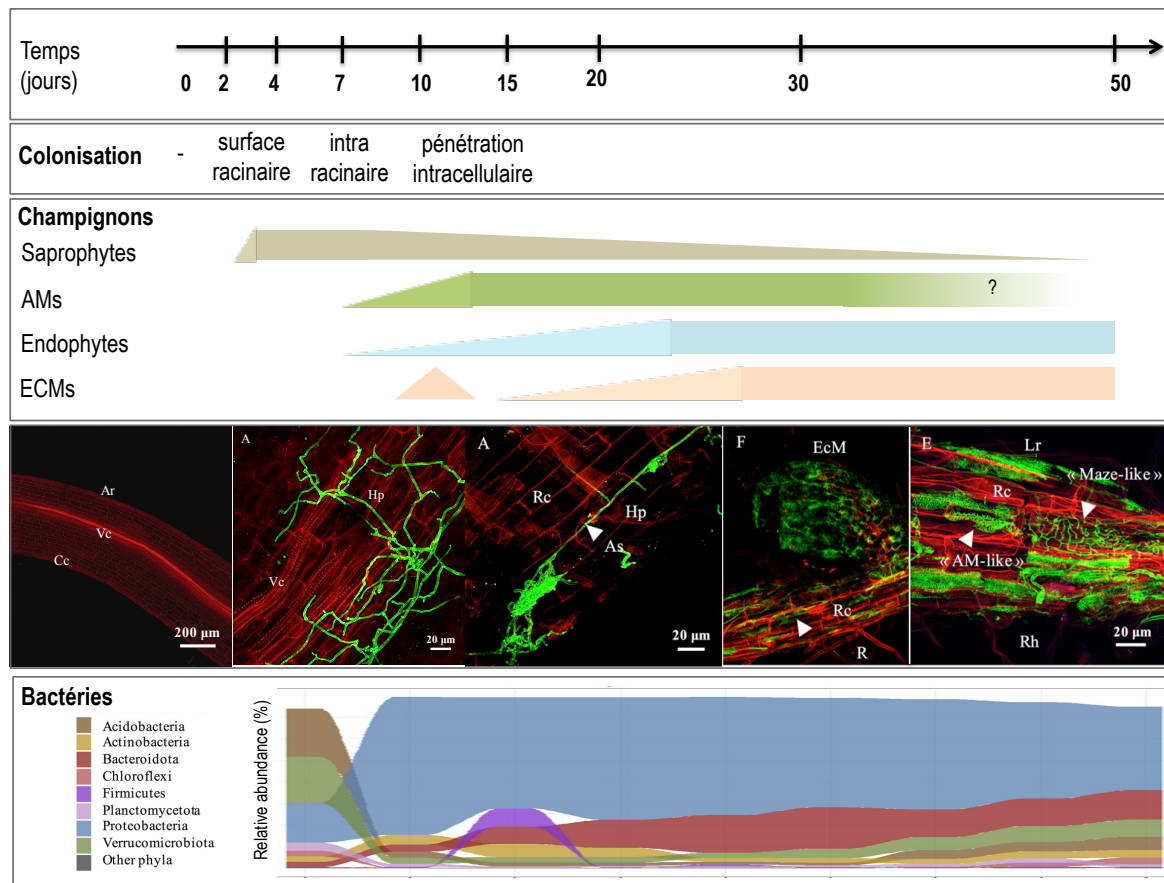


Figure 14. Dynamique temporelle de colonisation du système racinaire de boutures de peupliers sauvages cultivées en mésocosme pendant 50 jours par les bactéries et les différentes guildes trophiques de champignons. Extrait de Fracchia et al. 2021

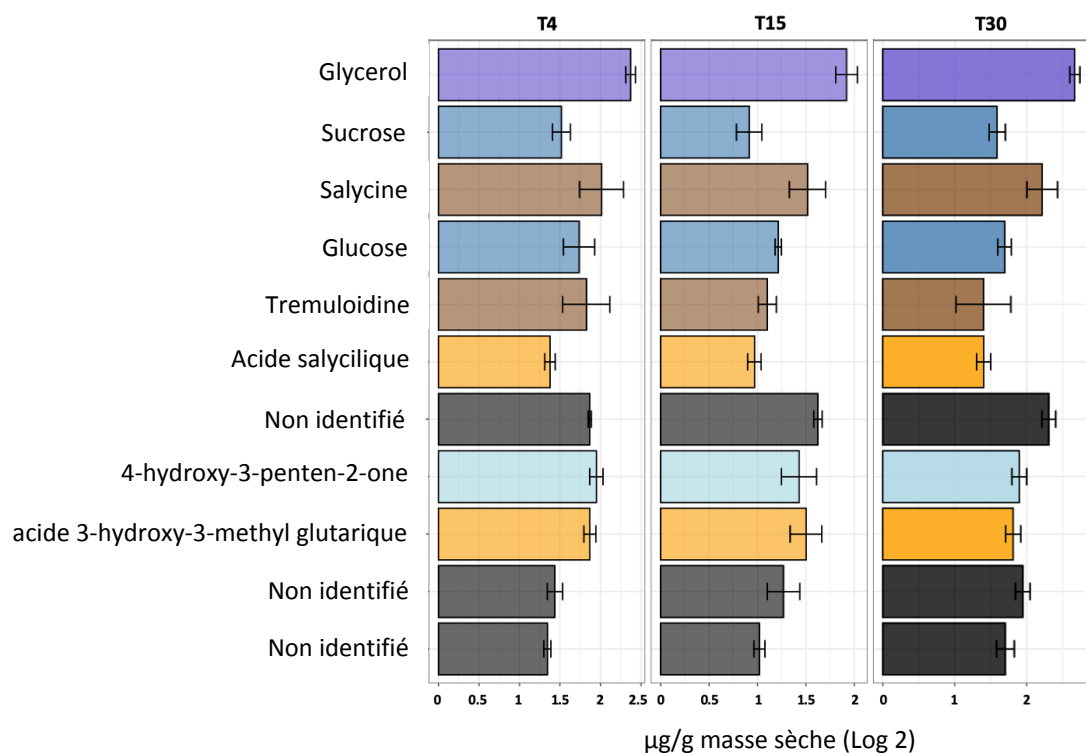


Figure 15. Liste des composés les plus abondants présents dans les exsudats racinaires de peuplier dont la concentration varie significativement au cours du temps.

Le délai d'établissement des EcM et des AM d'une quinzaine de jours s'explique probablement, d'une part, par leur croissance plus lente comparée aux champignons saprotrophes et endophytes et, d'autre part, la nécessité d'établir un dialogue moléculaire entre les cellules des racines de la plante et celles du champignon, aboutissant à la formation du réseau de Hartig pour les EcM et la formation d'arbuscules à l'intérieur des cellules pour les AM. Néanmoins, il est intéressant de noter que les hyphes d'EcM impliqués dans la formation des mycorhizes sur les racines latérales semblent coloniser en amont et de manière très précoce l'apoplaste du cortex des racines principales des explants de peuplier. La question se pose de savoir si cette primo colonisation joue un rôle dans le processus de mycorhization en lui-même, l'apoplaste étant la première zone de détection des micro-organismes par la plante et de déclenchement des mécanismes de défense (Dora *et al.*, 2022), ou s'il s'agit seulement d'un effet de bord de la colonisation du système racinaire. Bien que de nombreux champignons semblent en mesure de s'établir dans l'apoplaste des racines de peuplier, outre les champignons EcM, il est probable que cette colonisation requiert la désactivation des voies de défense de l'arbre. Liao et collaborateurs ont par exemple montré que *Mortierella elongata* altère l'expression des gènes de défense liés aux voies de l'acide salicylique et de l'acide jasmonique (Liao *et al.*, 2019). On peut supposer qu'à contrario les champignons saprotrophes ne disposent pas des clés moléculaires leur permettant de coloniser l'apoplaste et restent donc en surface des racines dont ils consomment les exsudats. Se pose alors la question de la raison de leur disparition une dizaine de jours après la colonisation initiale et alors que l'exsudation racinaire semble maintenue. Il serait nécessaire de vérifier par des méthodes complémentaires (ex. PCR quantitative) qu'il ne s'agit pas d'un biais d'interprétation lié à la technique de métagénomique monogénique utilisée (biais compositionnel). Cette méthode ne permet en effet de mesurer que des abondances relatives. Or si une communauté se complexifie au cours du temps avec l'apparition d'espèces très abondantes, les espèces présentes initialement voient mathématiquement leur abondance relative diminuer et peuvent potentiellement devenir invisibles bien que présentes, du fait de la surabondance des autres espèces. Il serait donc nécessaire de quantifier de manière absolue le devenir des espèces saprotrophes telles que *Umbelopsis* ou *Saitozoma* pour pouvoir conclure sur le comportement sur le long terme des espèces saprotrophes.

Indépendamment de la capacité des champignons à coloniser l'endosphère des racines de peupliers, il est probable que des phénomènes de compétition entre les micro-organismes influencent la colonisation des racines. En effet, nous avons observé qu'un certain nombre de champignons aussi bien mycorhiziens qu'endophytes ne semblaient pas pouvoir se maintenir dans les racines après une première phase de colonisation de celles-ci (Figure 16). Pourtant ces champignons tels que les EcM du genre *Geopora* sont fréquemment retrouvés en association avec le système racinaire du peuplier où ils peuvent être dominants (Szuba, 2015, Mangeot-Peter *in prep*). Il ne s'agit donc pas d'un problème de compatibilité entre la racine hôte et les champignons. Les phénomènes de compétition, bien que connus depuis très longtemps, restent mal caractérisés, en particulier *in situ*. Ils ont pourtant des implications pratiques pour l'utilisation de la mycorhization contrôlée que ce soit pour *L. bicolor* ou la truffe. Une fois les plants inoculés en pépinière, il est nécessaire, en particulier pour la truffe, que l'association avec le champignon soit maintenue sur le long terme et qu'il ne soit pas remplacé par des champignons indigènes des sols où sont plantés les arbres. Il en va de même pour des microbiotes plus complexes qui sont développés à l'heure actuelle à travers le monde pour pratiquer de l'ingénierie écologique et tenter de planter des plants associés à un microbiote performant permettant d'améliorer la croissance ou la résistance à des conditions

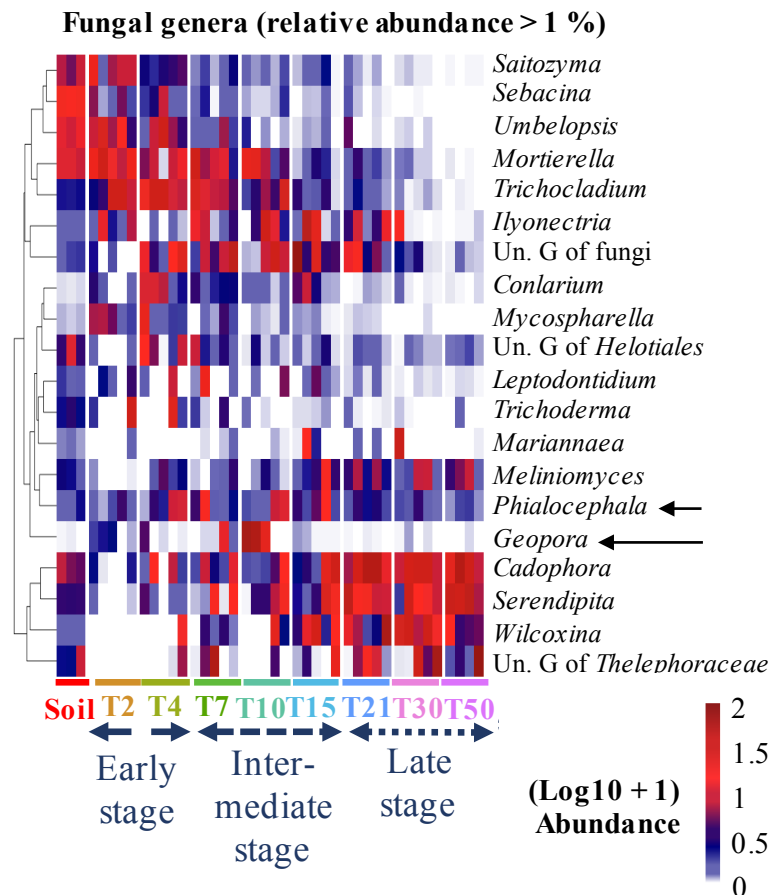


Figure 16. Dynamique temporelle de colonisation du système racinaire de boutures de peupliers sauvages cultivées en mésocosme pendant 50 jours par les principaux genres fongiques. Les flèches indiquent les champignons qui colonisent précocement les racines mais ne se maintiennent pas dans le temps bien qu'ils soient « compatibles » avec le peuplier. Extrait de Fracchia et al. 2021

environnementales défavorables (e.g. sécheresse, sols pollués...). S'il est relativement aisé de tester *in vitro* le potentiel d'antagonisme des micro-organismes cultivables et, dans une moindre mesure, les mécanismes sous-jacent, il est difficile de prévoir leurs comportements *in situ*. Cela tient au fait d'une part que nous connaissons mal les conditions nutritionnelles, redox, pH... que rencontrent les micro-organismes à leurs échelles micrométriques et qui varient en quelques centimètres, et que nous ne savons pas reproduire en laboratoire. Or ces conditions influent très fortement sur le comportement des micro-organismes et peuvent faire basculer des interactions bénéfiques en interactions antagonistes et vice versa, comme nous l'avons montré pour la bactérie auxiliaire de la mycorhization *P. fluorescens* BBc6R8 (Deveau *et al.*, 2016). D'autre part, les activités métaboliques primaires et secondaires des différents micro-organismes de la communauté microbienne vont elles aussi avoir un impact sur le comportement des uns et des autres, en apportant des sources de métabolites additionnels. Suivre l'ensemble de ces phénomènes *in situ* est un challenge mais nous disposons désormais d'outils et de larges jeux de données qui pourraient nous permettre d'aller plus loin sur ce sujet. En effet, les suivis de composition des exsudats racinaires et du métabolome racinaire nous permettent de connaître les principaux métabolites rencontrés *in situ* par les micro-organismes et leur dynamique, tandis que les données de génomiques couplées aux tests fonctionnels réalisés en laboratoire nous permettent d'inférer les préférences nutritives des micro-organismes. Enfin les analyses méta-transcriptomiques nous permettent de suivre *in situ* l'expression d'activités clés (ex. CAZymes, métabolites secondaires...) et de les associer à des groupes de micro-

organismes. Il serait intéressant d'exploiter l'ensemble de ces données pour construire des modèles de fonctionnement des communautés et tester l'influence de différents paramètres sur la dynamique d'assemblage de ces communautés microbiennes et leurs activités. Ces modèles devraient également prendre en compte l'existence possible de coopération entre les micro-organismes. Ces événements sont beaucoup moins bien documentés que les cas d'antagonismes mais pourraient être relativement fréquents. Ainsi dans une étude portant sur les modes d'interactions entre bactéries issues de sol forestier, M. Gonzalo a montré au cours de sa thèse que 30% des bactéries testées étaient capables de stimuler la croissance d'une autre bactérie (Gonzalo *et al.*, 2020).

Le sol, réservoir de micro-organismes pour la colonisation des tissus aériens

Les racines ne sont pas les seuls tissus des plantes à abriter des micro-organismes : tous les tissus aussi bien racinaires qu'aériens sont colonisés (Cregger *et al.*, 2018). Le dispositif en mésocosme que nous avons développé avec F. Fracchia et C. Veneault Fourrey permet également de suivre la dynamique de colonisation des tissus aériens et notamment le rôle du sol comme réservoir de micro-organismes et des racines comme filtre primaire (Fracchia *et al.* in prep). Nous avons été surpris d'observer que la colonisation des tissus aériens était extrêmement précoce et que des bactéries, aussi bien que des champignons, étaient présents dès 4 jours après la plantation dans le sol au niveau des parties aériennes. Comme pour les racines, plusieurs vagues successives de micro-organismes colonisent les parties aériennes avant d'être remplacées par d'autres micro-organismes. Il est intéressant de noter que les premiers champignons et les genres bactériens présents au niveau des tissus aériens au stade précoce semblent être les mêmes saprotrophes (ex *Mortierella*) et copiotrophes (ex *Burkholderia*) que nous détectons dans les racines, avec quelques jours de décalage (Figure 17). Comme dans les racines, ceux-ci semblent disparaître progressivement pour être remplacés par des micro-organismes spécialistes de la phyllosphère (e.g. *Clonostachys*) pour plus généralement des tissus endosphériques (e.g. *Ilyonectria*). De plus, la plupart des micro-organismes dominant dans les tissus aériens ont été détectés dans les racines quelques jours avant d'être observés dans la partie aérienne, suggérant que ces micro-organismes transitent d'abord par les racines.

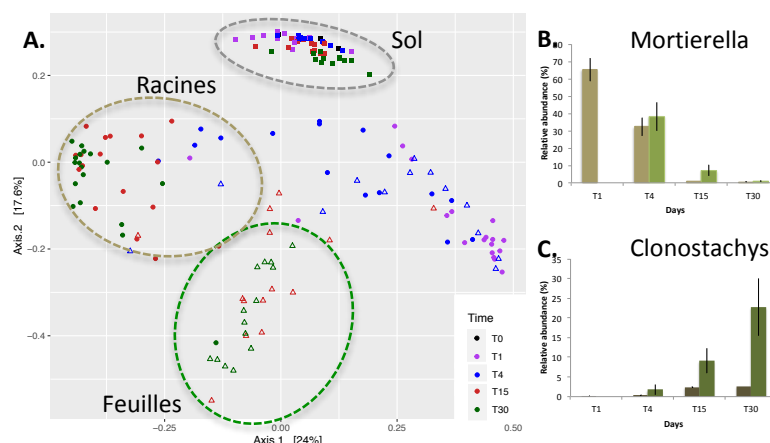


Figure 17. Dynamique temporelle de colonisation des tissus racinaires et aériens du peuplier à partir du sol par les champignons en mésocosme. A. Visualisation par positionnement multidimensionnel de l'évolution des communautés fongiques du sol (carrés), des racines (cercles) et des parties aériennes (triangles) entre le premier jour suivant la plantation et 30 jours. **B.** Abondances relatives des Unités Taxonomiques Opérationnelles (OTUs) attribuées aux genres *Mortierella* (B) et *Clonostachys* (C) dans les racines (brun) et les feuilles (vert) au cours du temps.

Ces premiers travaux nécessitent d'être complétés par des analyses plus fines, permettant notamment de faire la part entre colonisation épiphyte et endophyte, et entre tiges et feuilles. Néanmoins ils posent de nombreuses questions : comment les saprotrophes colonisent-ils les parties aériennes et pourquoi disparaissent-ils ; quelles voies utilisent les micro-organismes pour coloniser les tissus aériens (épiphyte, endophyte, apoplastique, vasculaire, mixte), y-a-t-il des mécanismes qui empêchent certains micro-organismes de passer depuis les racines vers les tissus aériens ? Il est curieux de noter à ce sujet que nous avons détecté dans de nombreux répliquas biologiques la présence de champignons EcM dans les tissus aériens au stade précoce, ce qui n'est absolument pas attendu pour ce type de champignons. Toutefois, un certain nombre d'études laissent à penser que les EcM, ou au moins certains d'entre eux, pourraient avoir un mode de vie plus étendu que la symbiose

ectomycorhizienne et pourraient coloniser des plantes sans former de mycorhizes (Selosse *et al.*, 2018; Daghino *et al.*, 2022). Il se pose également la question de savoir comment s'articule la défense immunitaire des plantes dont il est clairement démontré qu'elle bloque la pénétration des micro-organismes pathogènes, et la colonisation visiblement très invasive par des micro-organismes commensaux dont un nombre non négligeable semble réussir à circuler dans la plante sans difficulté.

2. Les phytohormones de défense sont-elles impliquées dans la régulation de la colonisation du microbiote du peuplier ?

Le dispositif de culture de peupliers axéniques sur sol naturel en mésocosme nous a donc permis d'acquérir une connaissance détaillée de la dynamique d'établissement et de structuration du microbiote du peuplier. Nous avons par la suite utilisé ce dispositif pour tester dans quelle mesure les phytohormones du peuplier peuvent influencer la colonisation des racines et des tissus aériens par les micro-organismes du sol. Pour ce faire, F. Fracchia a généré des lignées stables de peuplier génétiquement modifiées de manière à réprimer ou augmenter l'expression de gènes impliqués dans la biosynthèse ou la perception des principales phytohormones impliquées dans les voies de défense et que nous soupçonnions être impliquées dans la régulation de l'interaction avec les micro-organismes, d'après les travaux de F. Martin, C. Veneault Fourrey et A. Kohler au laboratoire : acide salicylique, acide jasmonique, éthylène et acide gibbérellique. F. Fracchia a ainsi généré une trentaine de lignées de peupliers transgéniques dont il a validé le niveau d'expression transcriptionnel et la stabilité.

Rôle de l'éthylène

Dans une première étape, nous avons étudié l'impact de la dérégulation de la production d'éthylène sur le développement, la physiologie et la colonisation microbienne du peuplier. Une étude antérieure menée par J. Plett dans notre laboratoire avait montré que des lignées de peuplier génétiquement modifiées pour sur-exprimer le dernier gène de la voie de biosynthèse de l'éthylène (ACO1) étaient capable de former des mycorhizes avec le champignon *Laccaria bicolor* in vitro mais que le réseau de Hartig était fortement réduit suggérant un effet inhibiteur de l'éthylène sur la colonisation racinaire par le champignon (Plett *et al.*, 2014). Nous avons voulu savoir dans quelle mesure cet effet est spécifique de l'interaction peuplier *L. bicolor* et si les conclusions issues de dispositif in vitro simplifié s'appliquent également à une situation plus complexe impliquant un microbiote constitué de dizaines d'espèces microbiennes appartenant à différentes guildes trophiques. Nous avons ainsi analysé la dynamique de colonisation du système racinaire et des tissus

aériens de peupliers surexprimant ACO1 ou sous-exprimant le récepteur de l'éthylène Etr1 par les champignons et les bactéries. En parallèle, nous avons analysé le métabolome racinaire et foliaire ainsi que les exsudats racinaires produits pour identifier la part de l'effet direct de l'éthylène sur les communautés microbiennes de celui dû aux modifications de la physiologie de la plante et des boucles de rétroactions potentielles du microbiote sur la physiologie.

Des boucles de rétroaction contrôlent la production d'éthylène chez le peuplier

Mais dans une première étape, nous avons mesuré la quantité d'éthylène produit par les lignées génétiquement modifiées de peuplier avec l'aide de C. Chervin (Université de Toulouse). De manière quelque peu contre intuitive, il s'est avéré que la lignée ne produisant plus le récepteur de l'éthylène ETR1 produisait 50% plus d'éthylène que la lignée sauvage (Figure 18). A l'inverse la lignée exprimant plus fortement le gène ACO1 codant pour l'enzyme réalisant la dernière étape de la biosynthèse de l'éthylène (conversion de l'ACC en éthylène) montrait une légère réduction de la production d'éthylène mais non significative statistiquement. Cela suggère que l'activité de l'enzyme ACO1 n'est pas le point limitant dans la production de l'éthylène et qu'une boucle de rétroaction impliquant le récepteur ETR1 régule la production d'éthylène chez le peuplier. Ce phénomène n'est pas complètement inattendu car il a déjà été observé chez *Arabidopsis thaliana* (Woeste *et al.*, 1999). Néanmoins il pousse à réinterpréter les données de Plett *et al.* (2014) et des autres travaux antérieurs utilisant ces lignées et pour lesquelles aucune quantification de l'éthylène n'avait pas été réalisée depuis leur production par Love et collaborateurs en 2009 (Love *et al.*, 2009).

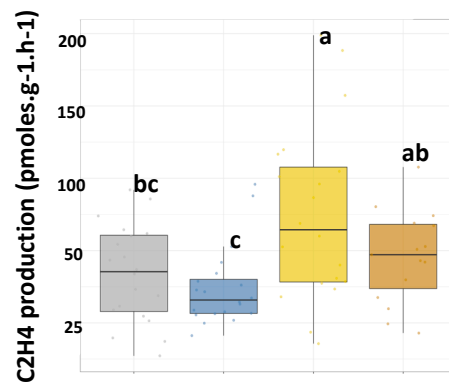


Figure 18. Concentrations d'éthylène produites par la lignée sauvage de peuplier *Populus tremula x tremuloides* T89 et les lignées mutées surexprimant le gène ACO1 ou insensibles à l'éthylène (Etr1.1, clones NR1E et NR3A). Test Kurskal Wallis accompagné d'un test post-hoc Fisher LSD, $p < 0.01$ ($n=20$).

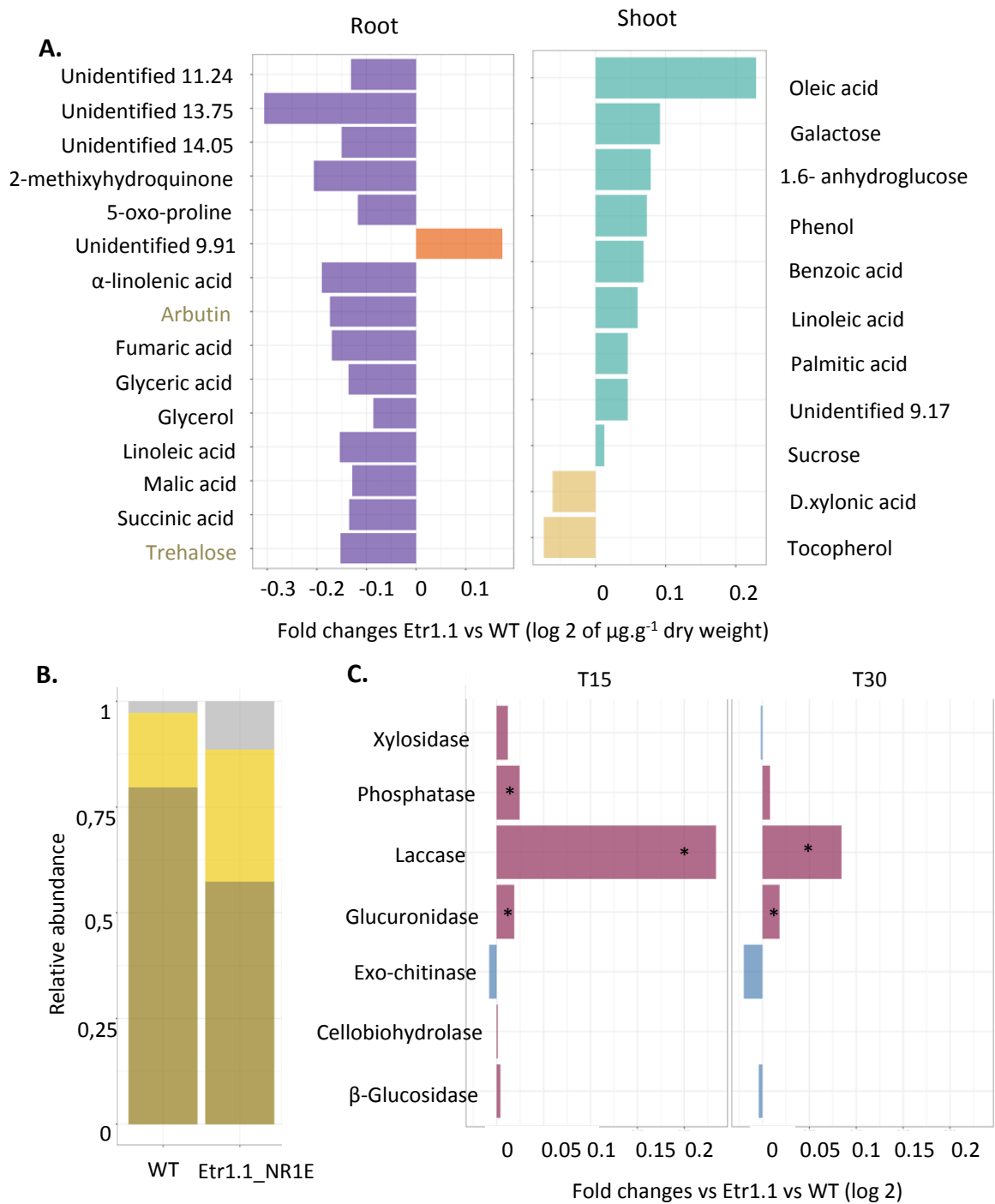


Figure 19. Impact de la surproduction d'éthylène sur le métabolome du peuplier, la colonisation des racines par les champignons et les activités enzymatiques des sols rhizosphériques. **A.** Liste des métabolites des feuilles et des racines dont la concentration varie significativement (Test de Wilcoxon $p < 0.05$) entre les tissus des boutures de la lignée Etr1.1 et de la souche sauvage après 30 jours de culture dans un sol naturel en mésocosme. **B.** Taux de colonisation des racines au niveau endophyte (jaune) et épiphyte (brun). Un transect est réalisé sur chaque racine et pour chaque quadra la présence d'hyphe (épiphyte ou endophyte) ou l'absence (en gris) est comptabilisé. **C.** Différences d'activités enzymatiques impliquées dans la dégradation de la matière organique entre les sols rhizosphériques de la lignée Etr1.1 et de la souche sauvage. Les astérisques indiquent une différence de moyenne statistiquement significative entre les lignées selon un test de Wilcoxon ajusté par la méthode de Bonferroni ($p < 0.05$)

Effet de la dérégulation de la production d'éthylène sur l'exsudation racinaire, le métabolome et le microbiote du peuplier

La dérégulation de la production d'éthylène n'a pas eu d'effet sur la qualité des exsudats racinaires entre 4 jours et 30 jours après plantation dans le sol. Par contre, les métabolomes racinaires et foliaires étaient altérés à la fois dans les lignées ACO1 et ETR1 en comparaison de la lignée sauvage (Figure 19A). Les lignées ETR1 étaient caractérisées par une concentration moindre des acides organiques du cycle de Krebs au niveau des racines ainsi qu'une diminution de la concentration de deux marqueurs de la colonisation fongique (arbutine et tréhalose), ce qui suggère que les racines étaient moins colonisées par les champignons que les lignées sauvages. Les analyses des systèmes racinaires par microscopie confocale sont en accord avec cette hypothèse : les systèmes racinaires des différentes lignées transgéniques étaient en moyenne moins colonisées par des champignons que les lignées WT (Figure 19B). Toutefois nous n'avons pas détecté d'altération de la composition du microbiote fongique et bactérien des racines et des parties aériennes via les analyses de métagénomique monogénique. Ceci suggère que l'éthylène aurait un effet non spécifique sur les champignons et limiterait leur colonisation des systèmes racinaires. Dans la mesure où l'éthylène est produit en réponse au stress abiotique et en particulier hydrique, nous pouvons spéculer que l'éthylène permet au peuplier de réguler la charge fongique du système racinaire pour diminuer l'allocation de carbone au microbiote dans des conditions où la photosynthèse est limitée par le stress hydrique.

Par ailleurs, la structure des communautés bactériennes de la rhizosphère était modifiée pour les lignées ETR1, suggérant un effet direct de cette phytohormone ou de ses précurseurs sur ces micro-organismes (Figure 19C). Certaines bactéries rhizosphériques étant capable de dégrader l'un des précurseurs de l'éthylène, le 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC), il serait intéressant d'analyser si cette modification de la structure de la communauté bactérienne est liée à cette fonction. Quoiqu'il en soit, l'effet de l'éthylène ne se limitait pas à une seule restructuration du microbiote mais a également eu pour conséquence une altération des activités enzymatiques impliquées dans les cycles biochimiques au niveau de la rhizosphère. Ainsi l'activité laccase impliquée dans la dégradation de la lignine était supérieure de 20% en moyenne dans la rhizosphère des plants insensibles à l'éthylène et dans celle des plants sur-exprimant le gène codant pour ACO1 par rapport à la lignée sauvage. Il reste à déterminer s'il s'agit d'un effet direct de l'éthylène sur l'expression de cette activité enzymatique ou indirect via une altération de la communauté fongique. L'ensemble de ces résultats suggère que si l'éthylène n'est pas impliqué dans la sélection spécifique de certains micro-organismes, la modulation de sa production par le peuplier affecte à la fois le niveau de colonisation global du système racinaire par les champignons et l'activité du microbiote dans le sol rhizosphérique.

Les autres lignées ciblant les autres hormones sont en cours d'analyse.

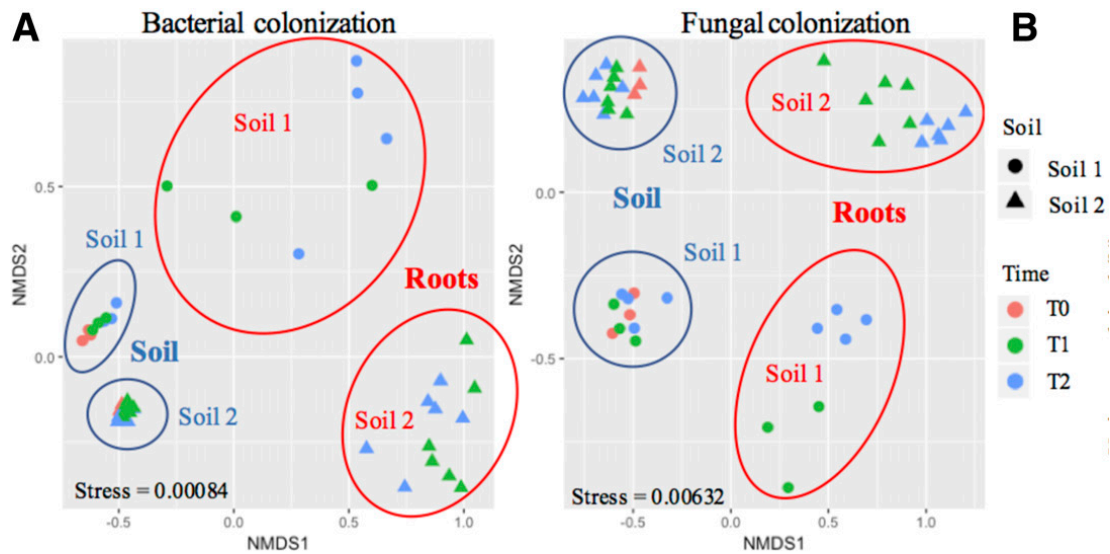
3. Effets des paramètres abiotiques sur la colonisation du système racinaire du peuplier

Effets de la composition du pool de micro-organismes tellurique sur la colonisation du système racinaire du peuplier

Si les premiers travaux que nous avons réalisés suggèrent en effet que le peuplier dispose de leviers pour moduler la colonisation de son système racinaire, l'arbre reste néanmoins très dépendant de la qualité du pool de micro-organismes présent dans les sols et susceptibles de coloniser son système racinaire. En effet, le microbiote du sol est la principale source de micro-organismes pour la colonisation des racines. Or celui-ci est soumis à des variations naturelles de l'environnement (degré d'humidité, température...) qui peuvent potentiellement affecter sa composition. Il n'est pas clair de savoir si le système racinaire de l'arbre est capable de tamponner les variations naturelles qui se produisent dans le microbiote du sol pour capturer un microbiome stable et efficace ou si ces variations affectent son microbiote et ont un impact sur sa physiologie. Pour répondre à cette question, nous avons planté des boutures de peuplier (*Populus tremula* × *alba* clone 717-1B4) dans un sol naturel prélevé dans un peuplement de peupliers sous le même arbre pendant deux années consécutives et les avons fait pousser en serre. Après deux mois de croissance, L. Mangeot-Peter a ensuite analysé les microbiotes fongiques et bactériens du sol et des racines par séquençage à haut débit Illumina MiSeq et nous avons caractérisé le métabolome des racines par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (GC-MS) avec l'aide de nos collaborateurs T. Tschaplinsky et N. Engle (ORNL, USA). Les communautés microbiennes du sol ont évolué de manière significative entre les 2 années, ce qui a eu des conséquences notables sur la formation du microbiote racinaire (Mangeot-Peter *et al.*, 2020)(Figure 20). Ainsi, l'équilibre entre la proportion d'endophytes, de saprophytes et de champignons mycorhiziens a été modifié dans les racines et certaines unités taxonomiques opérationnelles dominantes ont été remplacées par d'autres. Ces modifications étaient corrélées à une altération significative des niveaux d'environ 10% des métabolites primaires et secondaires des tissus racinaires et foliaires, ce qui suggère que les fluctuations naturelles des communautés microbiennes du sol peuvent avoir un impact profond sur le métabolisme et la physiologie des racines des arbres (Figure 20C). Le fonctionnement des racines des arbres peut donc être indirectement fortement affecté par les effets des futures variations climatiques extrêmes sur le microbiote du sol.

Le microbiote participe-t-il à la réponse adaptative du peuplier aux modifications du climat ?

Afin de mieux comprendre comment le peuplier et son microbiote réagissent aux modifications du climat, nous avons étudié, en partenariat avec le groupe de M. Villar (INRAE Orléans) les comportements du peuplier noir (*Populus nigra*) et de son microbiote lorsqu'ils sont transplantés dans un environnement climatique contrasté. L'objectif était d'identifier les rôles respectifs de la diversité génétique, de la plasticité phénotypique et du microbiote dans la réponse adaptative du peuplier noir à des modifications du climat (température et sécheresse). Des études antérieures ont montré une très forte hétérogénéité au sein des populations de peupliers noirs en réponse à des stress climatiques. Cela suggère qu'il existe un potentiel adaptatif important de réponse à la sécheresse et au stress thermique. Le processus adaptatif repose sur la variabilité génétique et la plasticité phénotypique. Le microbiote pourrait lui aussi avoir un rôle dans le



C.

Metabolite (RT-m/z)	Plant metabolite	Bacterial or fungal metabolite	Populus roots collected in soil 1 versus soil 2		Root metabolites of <i>P. tremula</i> × <i>alba</i> (%) ^b
			10 days of growth (T1) ^a	6.5 weeks of growth (T2) ^a	
Sucrose ^c	X	X	0.61	0.40*	30.72
Malic acid ^c	X	X	1.77	0.59*	9.74
Glucose ^c	X	X	4.87	3.13*	8.11
Fructose ^c	X	X	3.46	3.40*	3.72
Catechin ^d	X		1.00	0.42*	1.68
7.69 169 101 75 68		?	ND	3.16*	1.65
Mannitol ^c		X	0.08*	0.79	0.65
Salicylic acid ^d	X	X	2.55*	0.48	0.51
Glycerol ^c	X	X	0.13*	0.46	0.50
Threonic acid ^c	X		1.45	0.25*	0.33
Alanine ^c	X	X	9.15*	20.07*	0.21
Ethyl-phosphate		?	3.21	3.13*	0.09
Oxalomalic acid ^c	X	X	54.78	7.63*	0.08
10.68 217 391 411		?	2.15*	4.11*	0.06
Xylono-1,4-lactone ^d	X		2.72	2.09*	0.04
Maleic acid ^c	X	X	1.09	0.28*	0.032
14.09 375 292 217		?	0.34*	ND	0.030
16.11 guaiacyl lignan ^d	X		0.45*	0.85	0.028
Phluoroglucinol ^d	X	X	4.84	4.84*	0.021
Erythronic acid ^c	X		0.94	0.51*	0.014
6-Hydroxy-2-cyclohexenone-1-carboxylic acid ^d	X	X	0.78	0.25*	0.013
Cis-aconitic acid ^c	X	X	0.23	0.41*	0.012
11.22 450 dehydro sugar		?	1.08	0.34*	0.009

^a Values indicate fold changes between soil 1 and soil 2.
^b The last column indicates the relative abundance of each metabolite in the total root metabolome of *Populus tremula* × *alba* seedlings.
^c Metabolites involved in primary metabolisms.
^d Metabolites involved in secondary metabolisms.

Figure 20. Impact des variations interannuelles de la composition des communautés microbiennes du sol sur le recrutement de micro-organismes par les racines de peuplier et sur la physiologie du peuplier *P. tremula* × *alba* clone 717-1B4. A. B. Visualisation par positionnement multidimensionnel non métrique (NMDS) des communautés bactériennes (A) et fongiques (B) des racines de peupliers après 2 mois de croissance en serre dans deux sols issus de la même plantation collectés à 1 an d'intervalle. **C.** Liste des métabolites détectés dans les racines de peuplier récoltées après 10 jours (T1) et 2 mois (T2) de croissance pour lesquels une différence significative de concentration a été mesurée entre les plantes cultivées dans le sol 1 et le sol 2. * = P < 0,05, ANOVA à 1 facteur.

potentiel adaptatif. Si l'on peut supposer que le microbiote racinaire du peuplier noir contribue à cette adaptation, aucune étude n'avait été réalisée jusqu'à présent pour évaluer son rôle et son importance relative par rapport à la variabilité génétique et à la plasticité phénotypique. De plus, alors que l'importante diversité génétique du peuplier noir a été récemment documentée en France (Favre-Rampant *et al.*, 2016), on sait peu de choses sur la plasticité phénotypique du peuplier noir.

Pour tester ces hypothèses, nous avons utilisé un dispositif de transplantations réciproques en conteneurs permettant de comparer les performances de familles de peuplier noir (familles de demi-frères) issues de deux populations naturelles d'origine française (Loire vs. Drôme) dans leurs substrats et environnements d'origine et inversement afin d'aborder les notions d'adaptation locale (Figure 21). Il s'agissait d'une part de caractériser le microbiote racinaire du peuplier noir et l'influence relative des paramètres environnementaux sur la formation du microbiote, et d'autre part d'évaluer s'il existe des corrélations entre des traits de développement des peupliers noirs et leurs microbiotes racinaires. Dans cette optique, de nombreux paramètres physiologiques en lien avec le développement et l'utilisation de l'eau, ainsi que le microbiote ont été analysés. Outre leur intérêt pour analyser quels sont les facteurs les plus importants qui agissent sur l'adaptation des peupliers noirs, les différentes combinaisons réalisées correspondent aussi à différents scénarios ou trajectoires sylvicoles :

- Effet du type de sol : conséquences de la transplantation dans un sol non natif plus ou moins riche en nutriments dans une région ayant le même climat que la région d'origine.
- Effet du climat : conséquences d'une élévation ou d'une réduction de la température (+/- 3 ° C en moyenne) sur des plantules dans leur conditions natives ~ proxy de l'effet de l'augmentation de la température à venir pour les plantules de la Loire qui vont connaître le climat de la Drôme.
- Effet combiné sol x climat : proxy de l'implantation de génotypes originaires d'une autre région dans une nouvelle région caractérisée par un climat et un sol différent de la région d'origine (migration assistée).
- Effet génotype : assimilable au processus de sélection variétale où l'on recherche le génotype ou la descendance le plus adapté à des conditions données.

Une réponse adaptative différente en fonction des populations

Les analyses de diversité génétique et de plasticité phénotypique suggèrent l'existence d'un pool génétique large qui pourrait faciliter l'adaptation des populations dans le contexte de modifications climatiques (Lefebvre, 2019). D'autre part, les résultats indiquent que les peupliers noirs se développant dans la zone méditerranéenne et la zone océanique ne répondent pas de la même manière à des changements de l'environnement, chaque population ayant développé des stratégies distinctes d'adaptation à un changement des conditions environnementales (Figure 22). Les populations originaires de la Loire répondent essentiellement par des modifications de leur morphologie tandis que les populations issues de la Drôme répondent d'avantage par une adaptation de leur physiologie. Enfin, la transplantation de la provenance Loire plus septentrionale dans un environnement méridional a donc conduit à une croissance plus forte, en l'absence de contrainte hydrique. D'un point de vue pratique, cela pourrait suggérer que les modifications climatiques futures, notamment l'augmentation des températures, pourraient favoriser les populations septentrionales de peuplier noir, si le stress hydrique reste limité.

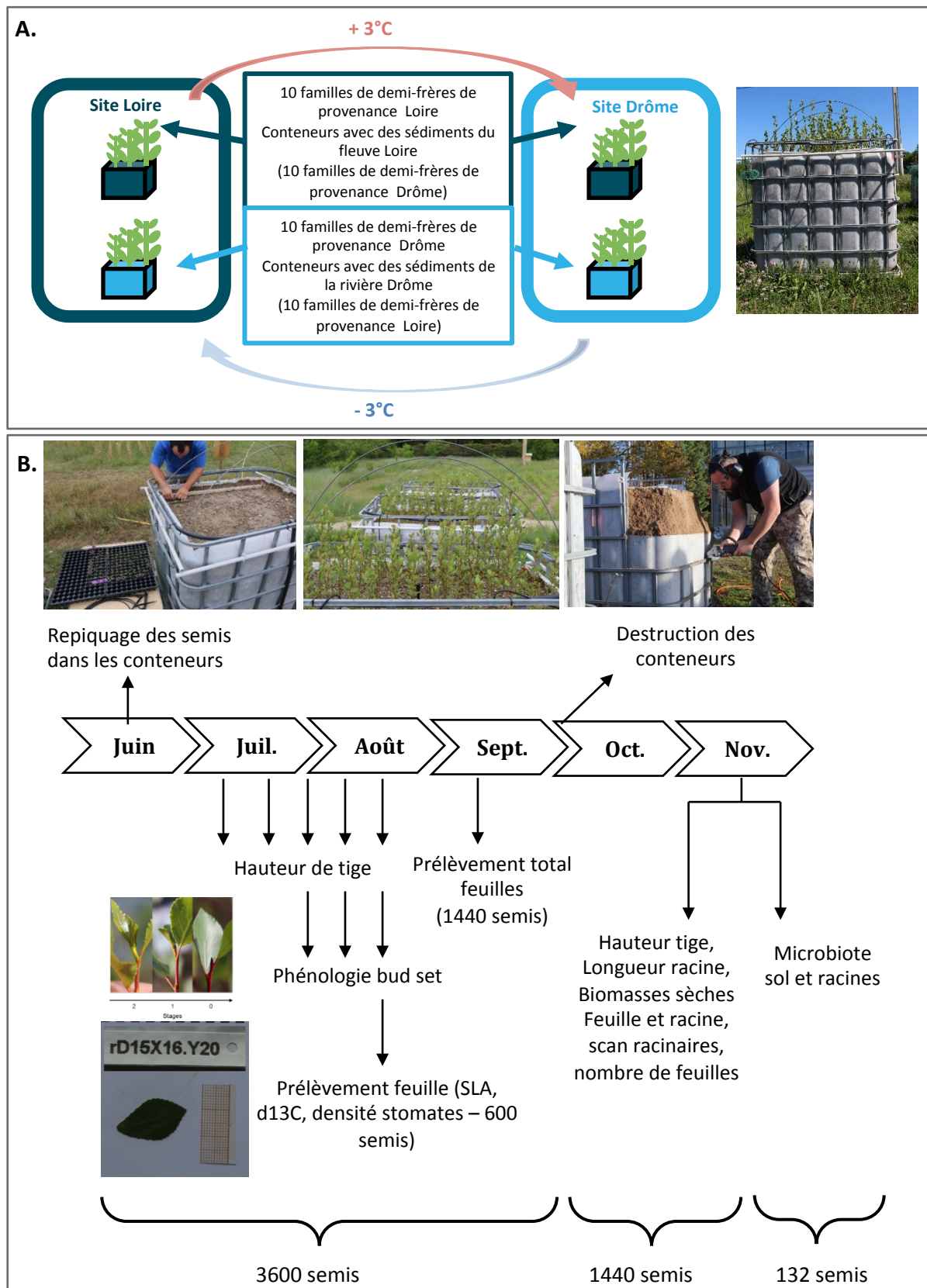


Figure 21. Schéma du dispositif expérimental de transplantation réciproque. A. Plan expérimental **B.** Mesures et analyses réalisées dans le cadre des thèses de M. Lefebvre et L. Mangeot-Peter (Lefebvre 2019, Mangeot-Peter 2020).

Caractères	Combinaison Loire	Combinaison Drôme
	Site Loire → Site Drôme + 3°C	Site Drôme → Site Loire - 3°C
Masse sèche totale (MS)	↗	↖
$MS_{aérienne}/MS_{racinaire}$	↘	↙
Fermeture du bourgeon	↗	=
Surface spécifique de la feuille (SLA)	↗	=
$\delta^{13}C$	=	↖

Figure 22. Effets de la transplantation réciproque sur les paramètres physiologiques et phénologiques du peuplier noir au stade bouture. Adapté d'après Lefebvre 2019, source M. Villar.

Un microbiote singulier

D'un point de vue microbien, nous avons observé que le microbiote du peuplier noir se singularisait nettement de celui aux autres espèces de peupliers pour lesquelles nous avons déjà des informations (Cregger *et al.*, 2021), tant du point de vue fongique que bactérien (Mangeot-Peter *et al.*, in prep). Ainsi les champignons symbiotiques qui participent à la nutrition de l'arbre (AM, EcM) semblent également abondants chez le peuplier noir tandis que les champignons endophytes classiquement détectés dans les racines de peupliers sont globalement absents. Ces différences tiennent probablement à la particularité de l'écosystème des ripisylves dont les sédiments sont régulièrement saturés en eau à l'inverse des sols forestiers plus classiques sur lesquels sont plantés les peupliers américains et les espèces hybrides.

Des différences très nettes ont également pu être observées entre les microbiotes racinaires de peupliers noirs provenant de la Drôme et ceux en provenance de la Loire. Les différences étaient particulièrement marquées pour les communautés bactériennes dont la moitié des espèces détectées variaient d'un site à l'autre (Figure 23). Les communautés fongiques étaient plus conservées entre les deux sites même si des différences ont été observées pour 26 espèces de champignons symbiotiques et saprotrophes. Les différentes transplantations réalisées ont permis de montrer que le sol était en grande partie responsable des différences observées. La plantation des plantules originaires de la Loire dans le sol prélevé dans la Drôme conduisait à la formation de communautés bactériennes similaires à celles des plantules de la Drôme cultivées en conditions natives. Ceci indique qu'il serait possible de transférer un microbiote non natif, potentiellement plus performant, à des plantules en utilisant le sol comme inoculum. Toutefois, l'expérience inverse de transfert du microbiote issu des sols de Loire aux plantules originaire de la Drôme n'a pas conduit à un échange complet du microbiote. Cela suggère que le génotype plantules est également impliqué dans le processus même si son rôle est bien moindre que celui du sol. Alors que nous n'avons pas détecté d'effet du climat sur les communautés du sol (transfert Loire vers Drôme et inversement), les communautés microbiennes associées aux racines (essentiellement les bactéries) étaient modifiées lors du transfert dans un nouveau climat mais la réponse était différente en fonction de l'origine des

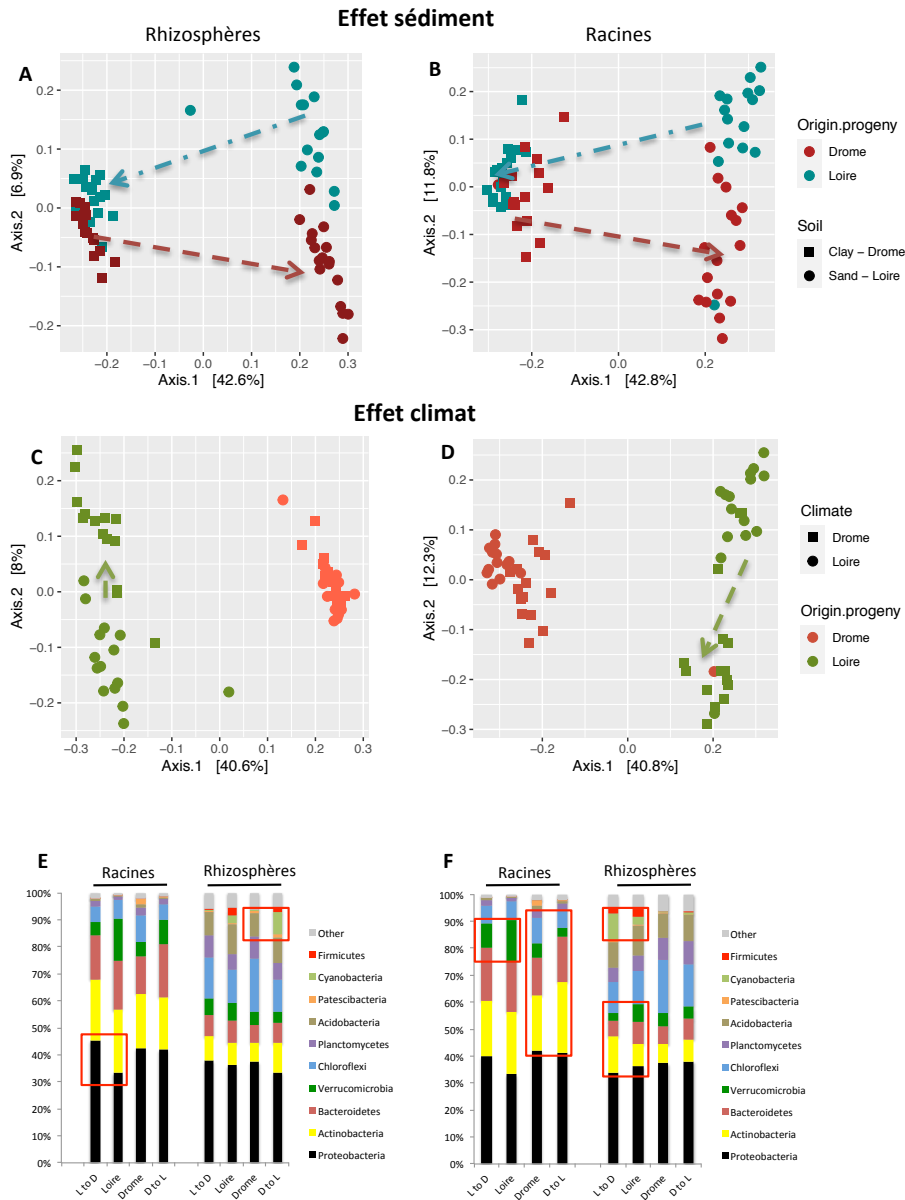


Figure 23. Effets de la transplantation réciproque sur la structure et la composition des communautés bactériennes de boutures de peuplier noir. **A. B.** Effets de la transplation des boutures dans le sédiment non natif sur la structure des communautés bactériennes de la rhizosphère (A) et des racines (B) de boutures venant de la Drôme (rouge) ou de la Loire (bleu). Les boutures ont été plantées dans le sédiment de la Loire (ronds) ou dans le sédiment de la Drôme (carrés). Les flèches indiquent les changements de structure de communautés induites par la transplantation. **C. D.** Effets de la transplation des boutures dans le climat non natif sur la structure des communautés bactériennes de la rhizosphère (C) et des racines (D) de boutures venant de la Drôme (orange) ou de la Loire (vert). Les boutures ont été cultivées sous le climat de la Loire (ronds) ou le climat de la Drôme (carrés). Les flèches indiquent les changements de structure de communautés induites par la transplantation. **E. F.** Effets de la transplantation dans un sédiment (E) ou un climat (F) non natif sur la composition des communautés bactériennes vue à l'échelle du phylum des racines et des rhizosphères de boutures de peuplier noir. Les rectangles rouges indiquent les Phyla pour lesquelles des différences d'abondances relatives ont été mesurées (test de Kruskal Wallis corrigé par le taux de faux négatifs (FDR), $p < 0.05$). L to D: transfert de la condition native Loire vers la Drôme, D to L: transfert de la condition native Drôme vers la Loire. Loire, condition contrôle native Loire; Drôme, condition contrôle native Drôme.

plantules. Les plantules de la Loire qui étaient transférées dans la Drôme montraient une réponse beaucoup plus forte que celles de la Drôme mises à pousser dans le climat de la Loire (température et rayonnement inférieurs). Dans la mesure où le climat ne semblait pas modifier les communautés du sol qui servent de réservoir à la colonisation des systèmes racinaires, cet effet du climat est à mettre en lien avec la réponse physiologique des plantules elles-mêmes au nouveau climat. Cela pose la question de potentielles boucles de rétroaction au bénéfice des plantules (i.e attraction/sélection de communautés plus adaptées au nouveau climat). La recherche de corrélation entre les paramètres physiologiques et phénologiques des plantules et la composition du microbiote n'a pas donné de résultats significatifs pour les champignons. Par contre, la biomasse des peupliers était positivement corrélée à l'abondance relative des Proteobacteria (genre *Rhodomicrobium*) et des Acidobacteria dans les racines, et des Chloroflexi (genre UTCFX1) dans la rhizosphère. A l'inverse, l'abondance relative des Firmicutes et des Actinobactéries dans la rhizosphère était significativement négativement corrélée avec la biomasse du peuplier. Il serait ici intéressant de caractériser la composition des exsudats racinaires des différentes lignées de peuplier pour déterminer si celle-ci est corrélée aux variations de la biomasse végétale et de la composition du microbiote. Enfin, si l'effet du génotype et les variations de microbiote entre familles étaient faibles à l'échelle de la communauté, des différences significatives ont été mesurées pour un certain nombre d'espèces microbiennes. C'est notamment le cas du champignon ectomycorrhizien *Geopora* dont le taux de colonisation variait de 3 à 20 % en fonction des familles. Or ce champignon est pressenti comme ayant un rôle protecteur contre le stress hydrique (Gehring *et al.*, 2017). De plus, la colonisation du système racinaire et de ses environs par les champignons pathogènes variait de 5 à 25% en fonction des familles issues de la Loire lorsqu'elles étaient confrontées au climat de la Drôme. Ces résultats tendent à indiquer qu'une prise en compte du microbiote racinaire lors du processus de sélection variétale n'est pas à envisager à l'échelle globale des communautés mais plutôt à celles de quelques espèces cibles d'intérêts.

Conclusions

Grâce aux travaux réalisés par L. Mangeot-Peter et F. Fracchia pendant leurs thèses, nous disposons maintenant de dispositifs expérimentaux qui nous permettent d'étudier de manière intégrative les processus de colonisation du système racinaire et des parties aériennes du peuplier. Les premières données obtenues suggèrent que le niveau de production d'éthylène pourrait réguler le degré de colonisation du système racinaire par les champignons. L'acide jasmonique pourrait quant à lui avoir un rôle dans la régulation de la balance entre champignons endophytes et champignons mycorrhiziens (données non présentées). Néanmoins ces premiers résultats nécessitent d'être confortés par des expérimentations complémentaires. De plus, notre vision des conséquences fonctionnelles pour l'arbre hôte de telles altérations du microbiote reste spéculative et il semble indispensable à ce stade d'aller plus loin dans l'étude de l'impact de modifications du microbiote sur la physiologie de l'arbre. Cela nécessitera notamment de caractériser le rôle des endophytes et des saprophytes dans la nutrition de l'arbre. Enfin, la question se pose de l'universalité de tels mécanismes. Outre le fait que le peuplier possède un microbiote fongique atypique par rapport aux autres arbres forestiers des zones tempérées et boréales, il a également la particularité d'accumuler dans ses tissus des quantités élevées de salicylates. Cette propriété pourrait être à l'origine de singularités concernant les voies de régulations hormonales et donc potentiellement de la régulation du microbiote. Pour ces raisons, il serait intéressant d'analyser les dynamiques fines de colonisation

des systèmes racinaires d'essences emblématiques des forêts tempérées Européennes telles que le hêtre, le chêne ou le pin. L'essentiel des données concernant ces arbres concerne les EcM et l'on sait peu de choses sur les endophytes et les saprotrophes bien que ceux-ci apparaissent de manière récurrente dans les données de métagénomique monogénique. Il serait intéressant de savoir si ces micro-organismes se comportent de la même manière chez ces essences que chez le peuplier. L'analyse des mécanismes de contrôle du microbiote chez ces arbres semble à première vue difficile à réaliser du fait de l'absence de technique de mutagenèse efficace pour ces espèces. Toutefois, une approche de type Genome Wide Association Studies (GWAS) pourrait apporter des premières réponses.

Epilogue

Ces travaux débutés en 2016 n'en sont qu'à leurs prémices et ouvrent de nombreuses pistes de recherche qui vont être poursuivies dans le futur. Ils sont le fruit des activités de recherche initiées au cours des thèses de L. Mangeot-Peter, M. Gonzalo et F. Fracchia, avec le soutien technique de Frédéric Guinet. Ils reposent sur une collaboration étroite au sein du laboratoire avec Claire Veneault-Fourrey, Francis Martin, Annegret Kohler, José Marquez, Aline Sauvage - locales – Caroline Plain, Pierric Priault (UMR Silva INRAE Université de Lorraine), Bertrand Aigle, (Laboratoire Dynamic Université de Lorraine), Vincent Carré (Laboratoire Chimie-Physique Université de Lorraine), nationales – Christian Chervin (Université de Toulouse) et internationales – Tim Tschaplinsky, Nancy Engle (Oak Ridge National Laboratory, USA), Jonathan Plett (Western Sydney University).

Financement

Ces travaux ont été financés par le LABEX ARBRE, l'INRAE, Lorraine Université d'Excellence, le ministère de l'éducation et le Département Américain à l'Energie (programme Plant Microbe Interface) (Tableau 2).

Tableau 2. Liste des financements que j'ai obtenus pour alimenter le projet décrit dans le chapitre 2.

Années	Origine	Type	Projet	Montant	Rôle
2016-2018	INRA métaprogramme MEM	Projet de recherche	Regulation of the Poplar microbiome by its host: is the immune system involved ?	45 k€	Coordinatrice
2016-2019	Ministère de l'enseignement	Thèse	Étude des facteurs biotiques et abiotiques influant sur la structuration et la composition du microbiote racinaire du Peuplier	100k€	Co-coordinatrice (F. Martin)
2016-2019	INRA	Thèse	Caractérisation des bactéries du sol forestier isolées au niveau des micro habitats et de leurs interactions avec le peuplier	100 k€	Partenaire (Leader B. Aigle Uni Lorraine)
2018	LABEX ARBRE	Projet de recherche	Role of poplar defense phytohormones in controlling the root microbiome	12 766 €	Coordinatrice
2018	INRA métaprogramme MEM	Mission internationale Western Sydney	Role of poplar defense phytohormones in controlling the root microbiome	5 000€	Coordinatrice
2018-2020	INRA métaprogramme ACCAF	Projet de recherche	Contribution of the black poplar microbiome to climate change adaptation	50 k€	Co-coordinatrice (M. Villar INRA Val de Loire)
2019-2021	LABEX ARBRE	Projet de recherche	Deciphering molecular interactions between trees and microbes : characterization on an unusual necrotic activity of Streptomyces on tree roots	10 k€	Partenaire (Leader B. Aigle Uni Lorraine)
2019-2022	Lorraine Université d'excellence	Projet de recherche	Les phytohormones, des régulateurs clefs du microbiote du peuplier ?	100 k€	Co-coordinatrice (C. Veneault Fourrey)
2020-2024	ANR	Projet de recherche	Role of plant endophytes (fungi and bacteria) associations on polycyclic aromatic hydrocarbon degradation	627 k€	Partenaire (Leader A. Cébron CNRS)
2013-2027	Département Américain à l'énergie	Projet de recherche	Plant Microbe interface	200 k€/an	Partenaire

Diffusion des résultats

Les résultats de ces travaux ont été diffusés via 6 articles de recherche dans des revues internationales, un chapitre de livre, un article de vulgarisation scientifique ainsi que la participation via des communications orales et sous forme d'affiches lors de 4 congrès nationaux et internationaux. Plusieurs articles issus des travaux de thèse de L. Mangeot-Peter et F. Fracchia sont en préparation.

Thèses

M. Gonzalo. Caractérisation des bactéries du sol forestier isolées au niveau des micro habitats et de leurs interactions avec le peuplier. 2019. Université de Lorraine

L. Mangeot Peter. Étude des facteurs biotiques et abiotiques influant sur la structuration et la composition du microbiote racinaire du Peuplier. 2020. Université de Lorraine

F. Fracchia. Les phytohormones, des régulateurs clefs du microbiote du peuplier ? 2022. Université de Lorraine

Rapports de Master

F. Fracchia. Etude du rôle de la modulation des voies de signalisation hormonales dans les interactions arbre-microbiote par l'intermédiaire de lignées transgéniques de peupliers. 2017. Université de Lorraine.

G. Laval. Etude du mécanisme de phytotoxicité de *Streptomyces sioyaensis* Bs9. 2021. Université de Lorraine

Publications dans des revues à comité de lecture

Félix Fracchia, Lauralie Mangeot-Peter, Lea Jacquot, Francis Martin, Claire Veneault-Fourrey, **Aurélié Deveau**. Colonization of Naive Roots from *Populus tremula* × *alba* Involves Successive Waves of Fungi and Bacteria with Different Trophic Abilities. **Applied and Environmental Microbiology**, American Society for Microbiology, 2021, 87 (6), { 10.1128/AEM.02541-20 }. { hal-03156567 }

Milena Gonzalo, **Aurélié Deveau**, Bertrand Aigle. Inhibitions Dominate but Stimulations and Growth Rescues Are Not Rare Among Bacterial Isolates from Grains of Forest Soil. **Microbial Ecology**, Springer Verlag, 2020, { 10.1007/s00248-020-01579-6 }. { hal-02935408 }

L Mangeot-Peter, T Tschaplinski, N Engle, C Veneault-Fourrey, Francis Martin, **Aurélié Deveau**. Impacts of Soil Microbiome Variations on Root Colonization by Fungi and Bacteria and on the Metabolome of *Populus tremula* × *alba*. **Phytobiomes Journal** • 2020 •, 2020, 4, pp.142 - 155. { 10.1094/PBIOMES-08-19-0042-R }. { hal-02939170 }

Denis Schenkel, **Aurélié Deveau**, Jun Niimi, Pierre Mariotte, Amarante Vitra, et al.. Linking soil's volatilome to microbes and plant roots highlights the importance of microbes as emitters of belowground volatile signals. **Environmental Microbiology**, Society for Applied Microbiology and Wiley-Blackwell, 2019, 21 (9), pp.3313-3327. { 10.1111/1462-2920.14599 }. { hal-02352501 }

Timothy J. Tschaplinski, Jonathan Michael Plett, Nancy L. Engle, **Aurélié Deveau**, Katherine C. Cushman, et al.. *Populus trichocarpa* and *Populus deltoides* Exhibit Different Metabolomic Responses to Colonization by the Symbiotic Fungus *Laccaria bicolor*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, American Phytopathological Society, 2014, 27 (6), pp.546 - 556. { 10.1094/MPMI-09-13-0286-R }. { hal-01268595 }

Jonathan Michael Plett, Yohann Daguerre, Sebastian Wittulsky, Alice Vayssieres, **Aurélie Deveau**, et al.. Effector MiSSP7 of the mutualistic fungus *Laccaria] bicolor* stabilizes the *Populus* JAZ6 protein and represses jasmonic acid (JA) responsive genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** , National Academy of Sciences, 2014, 111 (22), pp.8299-8304. { 10.1073/pnas.1322671111 }. { hal-01268578 }

Chapitre de livre

F. Fracchia, V. Basso, F. Guinet, C. Veneault-Fourrey, A. Deveau. Confocal Laser Scanning Microscopy Approach to Investigate Plant–Fungal Interactions. 2023. *In* Microbial Environmental Genomics (MEG). p325-335

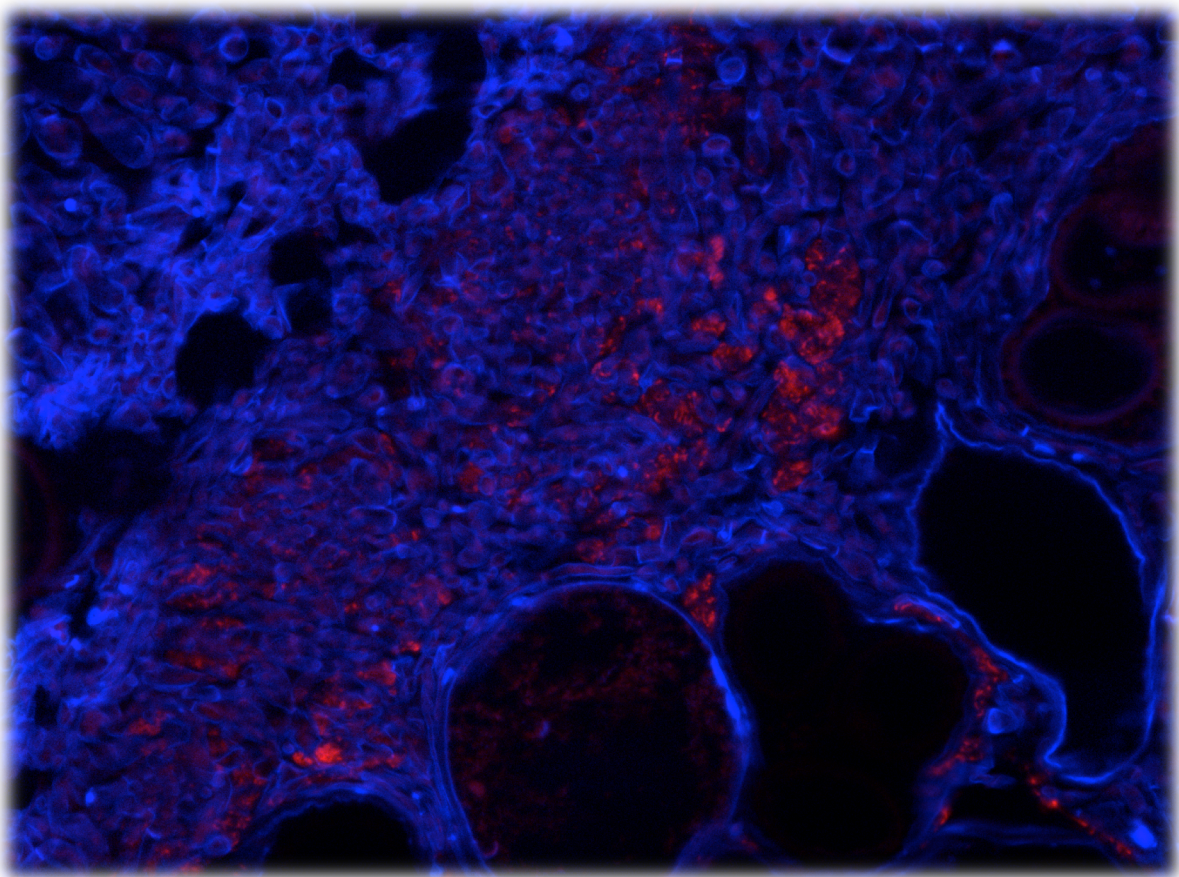
Article de vulgarisation

Uroz S., Deveau A., Martin F., Cébron A. (2018). Le charme discret... de la racine. Pour la Science. Dossier, Hors série n°101. { hal-03219046 }

CHAPITRE 3

Des bactéries et des truffes

(2011 - ...)



Introduction

Lorsqu'ont été initiés les travaux sur les communautés bactériennes de la truffe en 2010 par Pascale Frey-Klett et Stéphane Uroz dans le cadre de l'ANR Systruf portée par Marc André Sélosse, une controverse agitant le monde de la trufficulture : la truffe noire *Tuber melanosporum* est-elle ou non colonisée par des bactéries ? Si l'on sait depuis longtemps que certains champignons abritent des communautés complexes de bactéries (Frey-Klett *et al.*, 2011), certains produisent des métabolites secondaires qui empêchent leur colonisation par des bactéries. Même si des travaux portant sur d'autres espèces de truffes laissaient à penser que l'emblématique truffe noire est naturellement colonisée par des bactéries, le monde des trufficulteurs était très partagé sur cette question. Les travaux engagés ont permis de mettre fin à cette controverse en démontrant clairement que les truffes, quelle que soit l'espèce, sont massivement colonisées par des bactéries : un gramme de truffe porte en moyenne un million de cellules bactériennes. Le deuxième objectif était de caractériser les communautés bactériennes au cours du développement des truffes noires d'un point de vue taxonomique et fonctionnels. Enfin, il s'agissait de tester si les communautés bactériennes différaient en fonction de l'habitat : mycorhize versus ascocarpe².

J'ai contribué à l'analyse des données générées lors de ce projet et j'ai ensuite approfondi les analyses et étendu les travaux à d'autres espèces de truffes, en travaillant en étroite collaboration avec R. Splivallo et son équipe de l'Université de Francfort. En effet, outre l'intérêt des connaissances obtenues sur l'écologie de la truffe pour la filière trufficultrice, la truffe est un modèle intéressant pour étudier les différentes facettes des interactions bactéries-champignons *in situ*. La maîtrise relative du cycle de vie de ce champignon dans les truffières plantées ainsi que sa dynamique saisonnière relativement stable permettent de réaliser des suivis *in situ* des interactions entre le champignon et son microbiote aux différents stades de son cycle de vie. Celui-ci s'accomplit entièrement dans le sol et passe par différentes phases – saprotrophe, symbiotique, reproduction – au cours desquelles le champignon interagit avec des bactéries (Figure 24).

A travers les différents travaux que j'ai menés, j'ai cherché à comprendre comment les truffes interagissent avec les bactéries qui les colonisent et quels effets ont ces bactéries sur la biologie du champignon en se focalisant sur deux phases du cycles de vie : la symbiose mycorhizienne et la reproduction. Dans une première étape, nous avons cherché à identifier les bactéries qui colonisent les ectomycorhizes et les ascocarpes aux différents stades de maturité. Puis nous avons essayé d'identifier les facteurs impliqués dans la sélection de ces bactéries. Enfin, nous avons tenté de caractériser les activités développées par ces bactéries pour comprendre leur rôle potentiel dans le cycle de vie du champignon.

² Ascocarpe : fruit de la reproduction sexuée, l'ascocarpe correspond à ce que le langage vernaculaire désigne par truffes.

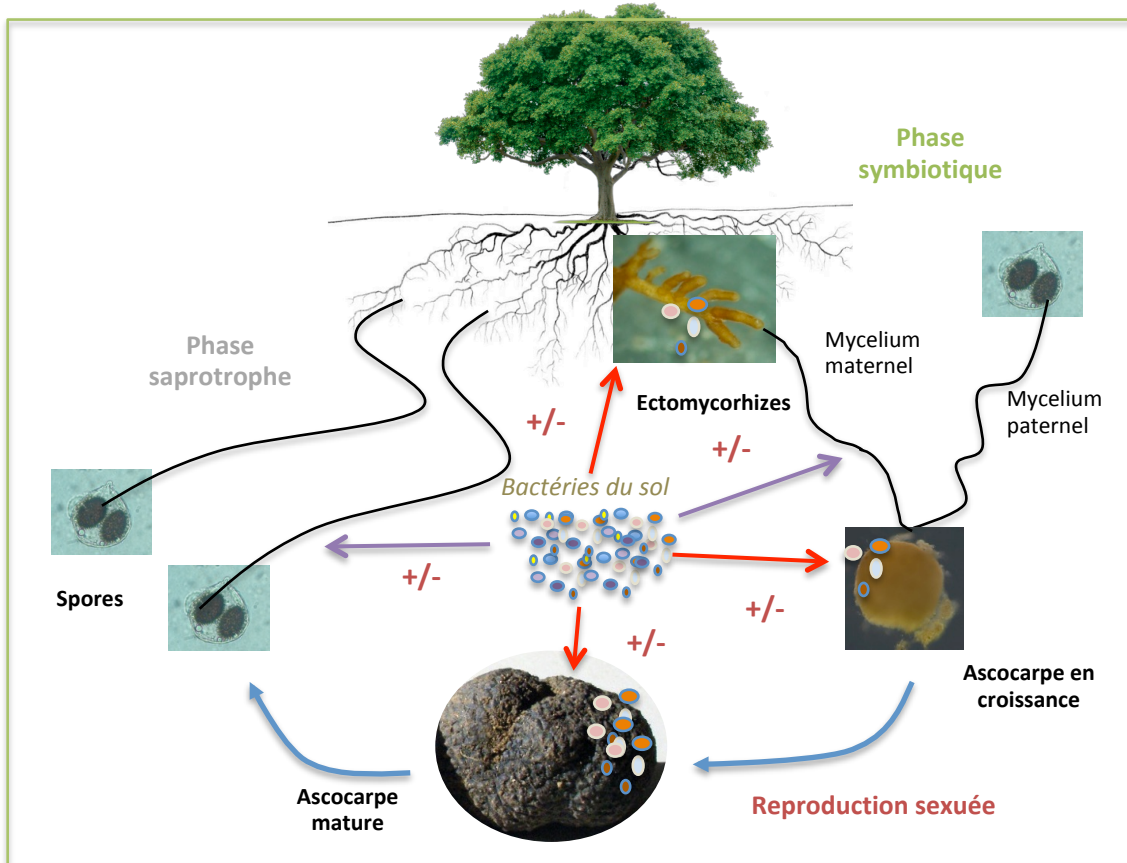


Figure 24. Cycle de vie de la truffe noire et interactions potentielles avec les bactéries. Les flèches en rouge indiquent les interactions avérées, les flèches violettes celles supposées.

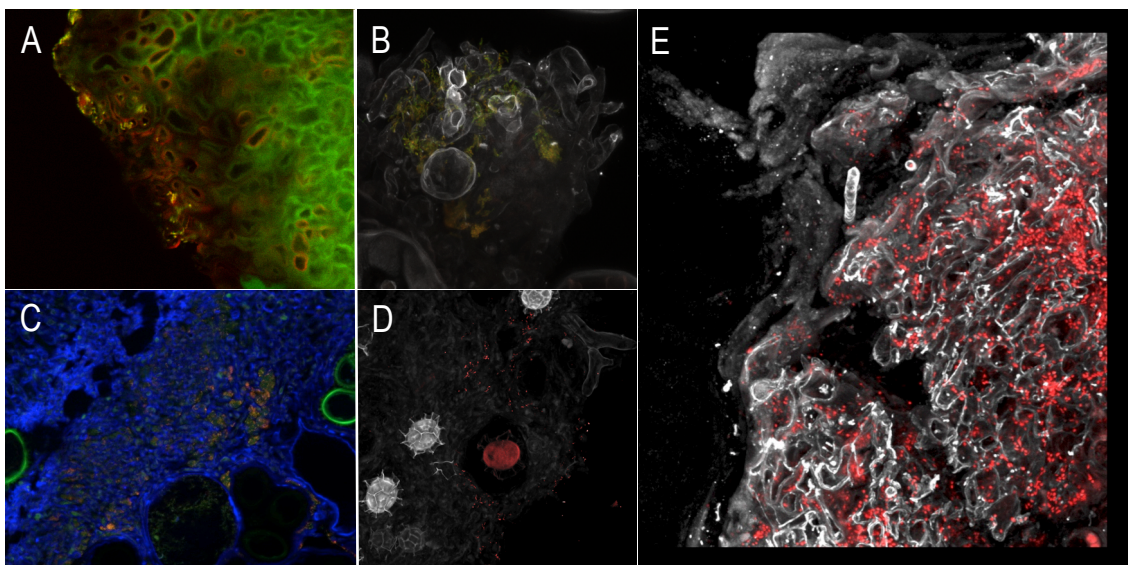


Figure 25. Visualisation par hybridation in situ de la colonisation du périidium et de la gleba de différentes espèces de truffes par les bactéries par microscopie confocale à balayage laser.

A. Présence de bactéries (jaunes) à la surface du périidium de *T. melanosporum* (vert) **B.** Présence de bactéries à la surface du périidium de *T. magnatum* (gris). Les bactéries appartenant au groupe des alpha-Proteobactéries en jaune et les bactéries appartenant à d'autres Phyla en vert. **C.** Présence de bactéries dans la gleba de *T. melanosporum* (bleu). Les bactéries appartenant au groupe des alpha-Proteobactéries en orange et les bactéries appartenant à d'autres Phyla en vert. Les spores présentent une forte autofluorescence dans le vert. **D.** Présence de bactéries dans la gleba de *T. magnatum* (gris). Les bactéries appartenant au groupe des alpha-Proteobactéries en rouge. **E.** Présence de bactéries (rouge) dans la gleba (gris) d'une truffette au stade 1. L'ensemble des images a été réalisé à partir de coupes transversales. Les hyphes sont marqués avec du WGA couplé à l'Alexa fluor 488.

Principaux résultats

1. La truffe, un habitat spécifique pour les bactéries

Les truffes sont massivement colonisées par des bactéries à leur surface (péridium) mais aussi à l'intérieur des ascocarpes, dans la gleba. Les bactéries y forment des colonies plus ou moins denses, réparties de manière hétérogène sous forme d'amas entre les hyphes clairement visibles par hybridation *in situ* (FISH, Figure 25). Nous n'avons pas observé la présence de bactéries intracellulaires aussi bien dans les hyphes des ascocarpes que dans ceux conservés en culture pure dans les laboratoires. Si nous ne pouvons pas exclure l'existence de bactéries intracellulaires chez les truffes, celles-ci sont très minoritaires par rapport aux bactéries extracellulaires qui se multiplient dans la gleba.

Nous avons observé le même type de colonisation chez *T. melanosporum* (Antony-Babu *et al.*, 2014), *T. borchii* (Splivallo *et al.*, 2015) et *T. magnatum* (non publié, Figure 25B, D), pourtant phylogénétiquement relativement éloignées et vivant dans des sols souvent distincts (Zambonelli *et al.*, 2016). Bien qu'il existe encore à l'heure actuelle des incertitudes concernant la dynamique de développement des ascocarpes des truffes, il est généralement considéré que ceux-ci se développent lentement pendant plusieurs mois, contrairement à beaucoup de champignons dont les fructifications se développent sur l'espace de quelques jours. Dans le cas de la truffe noire *T. melanosporum*, l'embryogénèse débiterait à la fin du printemps (mai-juin) pour aboutir à des ascocarpes matures 6 à 8 mois plus tard. Certains indices laissent néanmoins penser que des naissances tardives pourraient avoir lieu pendant l'automne (C. Robin INRAE, communication personnelle).

Quelle que soit la dynamique de croissance des ascocarpes, la question se pose de savoir quand et comment les bactéries colonisent les tissus internes de la truffe. Nous avons pu détecter de manière certaine des bactéries dans la gleba de truffes immatures. Nous avons également observé la présence massive de bactéries dans des truffettes du stade 1a, ce qui laisse à penser que la colonisation pourrait se faire de manière extrêmement précoce (Figure 25 E). Toutefois, les truffettes que j'ai eu la chance de pouvoir étudier ont été fournies par un collègue qui garde secret la méthode utilisée pour récolter ces truffettes et nous ne pouvons pas exclure qu'il s'agisse de contaminations liées au procédé d'échantillonnage. La deuxième question est celle de l'origine de ces bactéries. Plusieurs hypothèses sont envisageables. La première et la plus évidente est celle du sol puisque c'est là que s'y développent les ascocarpes des truffes depuis la fécondation des gamètes jusqu'à la maturation finale. Les communautés microbiennes du sol sont le principal réservoir pour la colonisation des racines des plantes et il peut donc sembler logique qu'il en soit de même pour les champignons hypogés. Toutefois d'autres hypothèses sont envisageables, notamment un apport par les gamètes. Il est désormais clairement démontré que l'ascocarpe des truffes naît de la rencontre entre un mycélium haploïde provenant d'une ectomycorhize et d'un mycélium issu de la germination d'une spore (Taschen *et al.*, 2016). Or les ectomycorhizes sont elles aussi colonisées par des communautés bactériennes complexes, comme nous le verrons plus tard. Certains membres de ces communautés sont présents à la fois dans les ectomycorhizes et dans les ascocarpes (Deveau, Antony-Babu, *et al.*, 2016). Dans la mesure où la truffette est connectée tout au long de son développement avec son arbre hôte par réseau de mycélium fongique (Le Tacon *et al.*, 2013; Deveau *et al.*, 2019) et que de nombreuses bactéries peuvent être transportées activement ou passivement

par des hyphes dans le sol (Simon *et al.*, 2015), il est envisageable que des bactéries empruntent les autoroutes à hyphes pour coloniser les truffes depuis les ectomycorhizes. En accord avec cette hypothèse, nous avons observé la présence de bactéries au niveau de la structure de connexion d'une truffette de *T. aestivum* (Figure 26). Toutefois il s'agit d'une observation unique qui demande à être répétée.

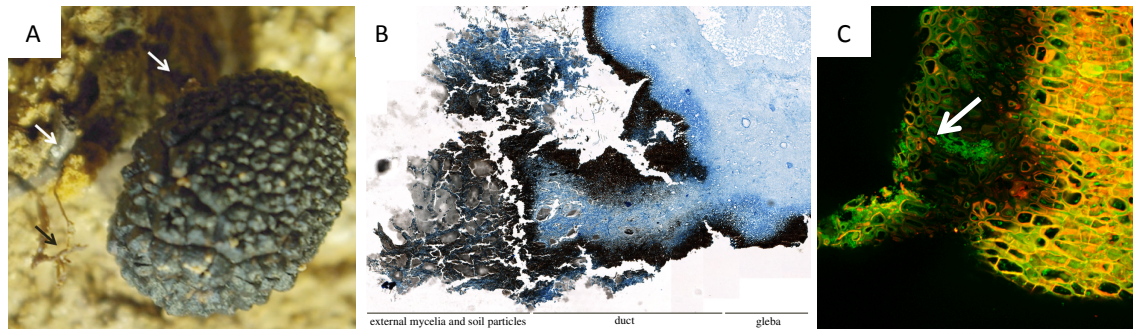


Figure 26. Etude de la structure de connexion entre l'ascocarpe de la truffe *T. aestivum* et la racine de l'arbre hôte. **A.** Truffette en place dans la carrière souterraine de Bonneuil-sous-Valois. Les flèches blanches et noire indiquent les racines et les ectomycorhizes à proximité de la truffette et qui y sont probablement connectées **B.** Coupe transversale de la structure de connexion reliant la truffe à la racine. **C.** Présence de bactéries (rouge) à proximité de la structure de connection entre la truffe et la racine.

Les observations réalisées par microscopie confocale à balayage laser couplée à l'hybridation in situ de sondes taxonomiques fluorescentes (FISH) indiquent une dominance de bactéries appartenant aux classes des alpha- et des beta-Protéobactéries. Afin d'obtenir une vision plus exhaustive de la composition des communautés bactériennes des truffes, nous avons utilisé le séquençage haut débit d'amplicons du marqueur taxonomique 16S. Une première étude réalisée sur un nombre restreint d'ascocarpes de *T. melanosporum* a permis de confirmer cette dominance des alpha- et des beta-Protéobactéries (Antony-Babu *et al.*, 2014). Ces travaux ont également montré qu'un nombre restreint de genres bactériens, environ une cinquantaine, étaient susceptibles de se développer dans la gleba de la truffe noire. Parmi eux, le genre *Bradyrhizobium* était particulièrement abondant dans la gleba de *T. melanosporum* et représentait en moyenne 75% de l'ensemble des observations. Toutefois, des études sur un plus large nombre de truffes noires ($n > 25$) de *T. melanosporum* (non publié) et *T. aestivum* (Splivallo *et al.*, 2019) et de la truffe blanche *T. magnatum* (Niimi *et al.*, 2021b) ont montré une situation plus complexe et ont mis à jour une forte disparité dans la composition des communautés bactériennes de truffes au même stade de maturité et en bon état de conservation. Si 50 à 60% des truffes récoltées sont majoritairement colonisées par des bactéries du genre *Bradyrhizobium*, d'autres genres bactériens tels que les genres *Polaromonas* (b-Protéobactéries) et *Pedobacter* (Bacteroidetes) peuvent entièrement remplacer *Bradyrhizobium*. Un troisième groupe de truffes est colonisé par des communautés ayant une diversité beaucoup plus large et équilibrée (Figure 27 A). Pourtant, toutes ces truffes présentent une apparence externe similaire et sont dépourvus de défauts visibles (blessures, attaque du gel ou d'insectes, arôme...).

Le fait de trouver de manière récurrente ce type de distribution dans différentes truffières et chez différentes espèces de truffes suggère que la structuration de la composition des communautés bactériennes des truffes répond à des facteurs déterministes. Ceux-ci peuvent être divisés en deux

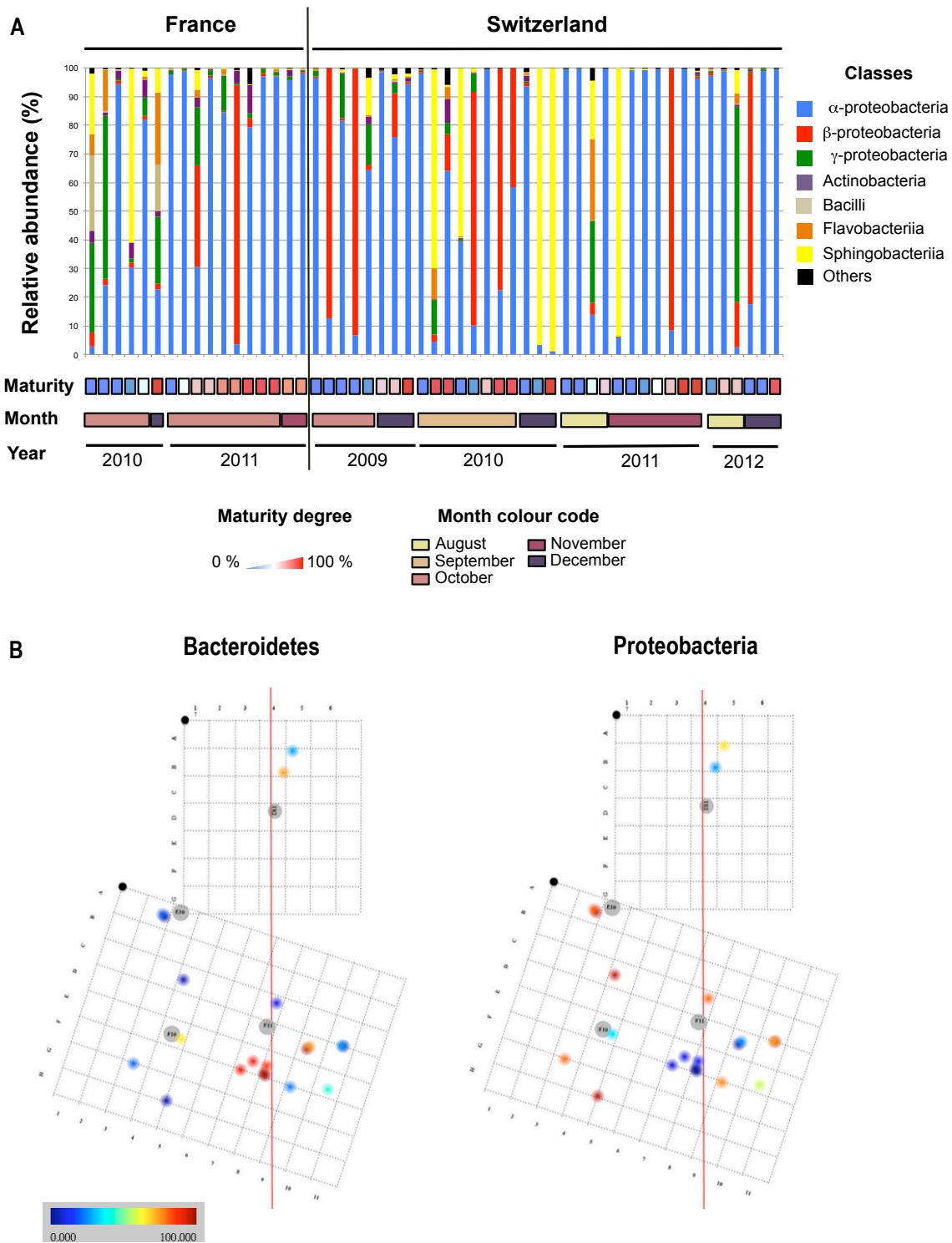


Figure 27. Variation spatio-temporelle de la composition des communautés bactériennes des ascocarpes de *T. aestivum* et *T. melanosporum*. **A.** Abondances relatives des principaux taxons bactériens détectés par séquençage Illumina Miseq d’amplicons 16S dans la gleba des ascocarpes de *T. aestivum* récoltés à différents niveaux de maturité au cours de deux saisons de production dans deux truffières. **B.** Géolocalisation d’ascocarpes de *T. melanosporum* dans la truffière de Rollainville et de leur colonisation relative par des bactéries appartenant aux Phyla des Bactéroidetes (carte de gauche) et des Protéobactéries (carte de droite). Chaque point coloré représente un ascocarpe, et la couleur le degré de colonisation de 0 (bleu) à 100%(rouge) par un phylum donné. Les points gris indiquent la position des arbres et le trait rouge l’axe Nord-Sud.

grandes catégories : les facteurs extrinsèques (e.g propriétés physico-chimiques du sol environnant, température, humidité...) et intrinsèques (e.g. génotype, type sexuel, degré de maturité...). Grâce à un échantillonnage intensif dans deux truffières de *T. aestivum* plantées situées en Bourgogne et dans le Valais Suisse au fil des saisons et sur plusieurs années, nous avons tenté de déterminer l'influence des saisons, de l'espace (position dans la truffière), du génotype maternel, du type sexuel maternel et du niveau de maturité des truffes sur la composition des communautés bactériennes des truffes (Splivallo *et al.*, 2019). A l'image des résultats obtenus par Barbieri et collaborateurs (2010) sur *T. magnatum*, nous n'avons observé aucun lien entre le degré de maturité des truffes et les communautés bactériennes de *T. aestivum* (Barbieri *et al.*, 2010). Ce résultat est en accord avec l'hypothèse d'une colonisation précoce des truffes mais contraste avec les observations faites sur *T. melanosporum* (Antony-Babu *et al.*, 2014). Nous avons en effet observé des différences de composition des communautés présentes dans la gleba entre les truffes immatures collectées en octobre et des truffes à maturité collectées en décembre et janvier. Nous avons alors émis l'hypothèse que ces différences pouvaient être dues aux modifications de la composition en sucres et en protéines des truffes durant le processus de maturation, créant ainsi une modification de l'habitat pour les bactéries. Ces différences de comportement entre *T. aestivum* et *T. melanosporum* pourraient s'expliquer par des cycles de vie relativement contrastés. En effet, contrairement à *T. melanosporum*, la fructification de *T. aestivum*, qui se produit pendant l'été, serait beaucoup plus courte et moins synchronisée temporellement: plusieurs cycles de fructification pourraient avoir lieu au cours d'une même saison estivale et l'on retrouve couramment simultanément des ascocarpes matures et immatures tout au long de la saison de production. Cette asynchronie permet de découpler facilement l'effet saison du stade de maturité, ce qui est plus difficilement faisable pour *T. melanosporum*. En outre, il est important de noter que les premiers travaux initiés sur *T. melanosporum* ont été réalisés avec un échantillonnage réduit de trois truffes par échantillonnage sous un seul arbre. Or nous savons désormais qu'il existe de fortes disparités entre les ascocarpes et il est possible que l'effet temporel observé soit lié à un biais d'échantillonnage. Un échantillonnage plus exhaustif réalisé sur l'ensemble de la truffière a en effet montré la coexistence sous le même arbre à quelques décimètres de distance d'ascocarpes colonisés au même stade de maturité de manière dominante par *Bradyrhizobium* ou *Pedobacter* (non publié, Figure 27B).

Les facteurs de structuration que nous avons pu identifier étaient propres à chacune des deux truffières. Ainsi la seule variable testée significative dans la truffière de Bourgogne était l'effet année et elle permettait d'expliquer 11% des variations des communautés microbiennes des truffes récoltées. Les variations au sein des communautés bactériennes des truffes récoltées dans la truffière valaisanne s'expliquaient, elles, par leur position au sein de la truffière (18% de la variabilité) et le type sexuel maternel (9%). Il n'en reste pas moins 70% de la variabilité qui reste inexpliquée à ce stade. L'un des facteurs potentiellement déterminant manquant dans cette étude est la composition du microbiote du sol associé. Il s'agit en effet d'un réservoir potentiellement important de micro-organismes, comme évoqué précédemment. Les effets « année » et « localisation » pourraient être expliqués par des variations interannuelles et locales dans les communautés microbiennes du sol. Il est en effet clairement établi que celles-ci suivent une dynamique saisonnière et sont fortement affectées par les variations intra- et interannuelles des conditions environnementales (ex. humidité, température... (Fierer *et al.*, 2007; Courty, Franc, *et al.*, 2010). Ces variations au sein des communautés du sol pourraient en retour avoir un effet sur la colonisation des ascocarpes naissants, comme cela a été montré pour les racines (Mangeot-Peter *et al.*, 2020). Néanmoins, il est difficile

d'étudier la composition du microbiote du sol environnant les truffes aux premières étapes de leur développement car il est quasiment impossible de connaître la position des truffettes naissantes. L'utilisation de « pièges à truffes » consistant à ensemercer localement massivement des spores pour faciliter la reproduction et la production pourrait permettre de résoudre ce problème.

Un autre facteur potentiel de structuration des communautés bactériennes des truffes qui n'a jusqu'à présent pas été exploré est celui du microbiote fongique des truffes. En effet, bactéries et champignons sont en interaction constante dans de nombreux environnements et en particulier dans les sols où ils sont susceptibles d'influencer mutuellement leurs comportements (Frey-Klett *et al.*, 2011; Deveau *et al.*, 2018). Bien que la colonisation des truffes par de nombreux champignons filamenteux et levures soit reconnue depuis longtemps (Pacioni *et al.*, 2007), très peu d'études ont été réalisées sur le mycobiote des truffes, essentiellement en raison de difficultés pratiques (Giorgio *et al.*, 2022). En effet, le séquençage haut débit de marqueurs moléculaires taxonomiques fongiques est inévitablement pollué par la présence majoritaire d'ADN de truffe qui sature complètement le séquençage (Perlińska-Lenart *et al.*, 2020). Ce problème est également rencontré par les écologues microbiens qui s'intéressent au microbiote des plantes et qui doivent faire face à la pollution des séquences engendrée par les plastes, les mitochondries et les marqueurs de plantes. De nouvelles approches permettant le blocage de ces amplifications ont été développées (Lundberg *et al.*, 2013; Mayer *et al.*, 2021) et ont pu être appliquées avec succès à *T. magnatum* (Giorgio *et al.* 2022). Il a ainsi pu être montré que la gleba de *T. magnatum* abrite plus d'une vingtaine d'espèces de champignons. Toutefois, les auteurs de cette étude n'ont pas cherché ici l'existence de liens potentiels entre la structuration des communautés bactériennes et fongiques de la gleba. Cette question reste donc ouverte et des travaux complémentaires sont nécessaires pour identifier les mécanismes en jeu dans la structuration du microbiote des truffes.

Les ascocarpes ne sont pas les seuls organes des truffes à offrir un habitat à des communautés bactériennes. Les ectomycorhizes qui relient l'arbre hôte à l'ascocarpe (Le Tacon *et al.*, 2013; Deveau *et al.*, 2019) sont, elles aussi, massivement colonisées par des communautés bactériennes qui se distinguent fortement de celles de la gleba et du périidium de *T. melanosporum* (Antony-Babu *et al.*, 2014; Deveau, Antony-Babu, *et al.*, 2016) (Figure 28). Ces différences de communautés sont probablement dues au métabolisme de la plante hôte qui se mêle à celui du champignon. Un comportement similaire a été observé pour les ectomycorhizes de *T. aestivum* (Gryndler *et al.*, 2013). Il est probable que des bactéries interagissent aussi avec le mycélium de truffes dans la phase saprotrophe et lors des phases initiales de la reproduction (Figure 24), toutefois aucune donnée n'est disponible à l'heure actuelle à ce sujet. Si plusieurs études ont été menées pour identifier des bactéries auxiliaires de la mycorhization de truffes (Gryndler *et al.*, 2013; Navarro-Ródenas *et al.*, 2016; Piñuela *et al.*, 2020), peu de travaux solides ont été conduits pour rechercher des corrélations positives ou négatives entre la production de truffes et les interactions bactéries-champignons dans les sols aux stades précoces. Dans la mesure où la production des truffières aménagées est fortement variable d'une année à l'autre et d'une truffière à l'autre et apparaît pour beaucoup de trufficulteurs comme relativement imprévisible, chercher les facteurs à l'origine de cette variation est critique pour les trufficulteurs. Si les pratiques culturales et la disponibilité en eau sont probablement des facteurs clés, un effet du microbiote du sol est à considérer. Des travaux devront être réalisés dans le futur pour répondre à cette question.

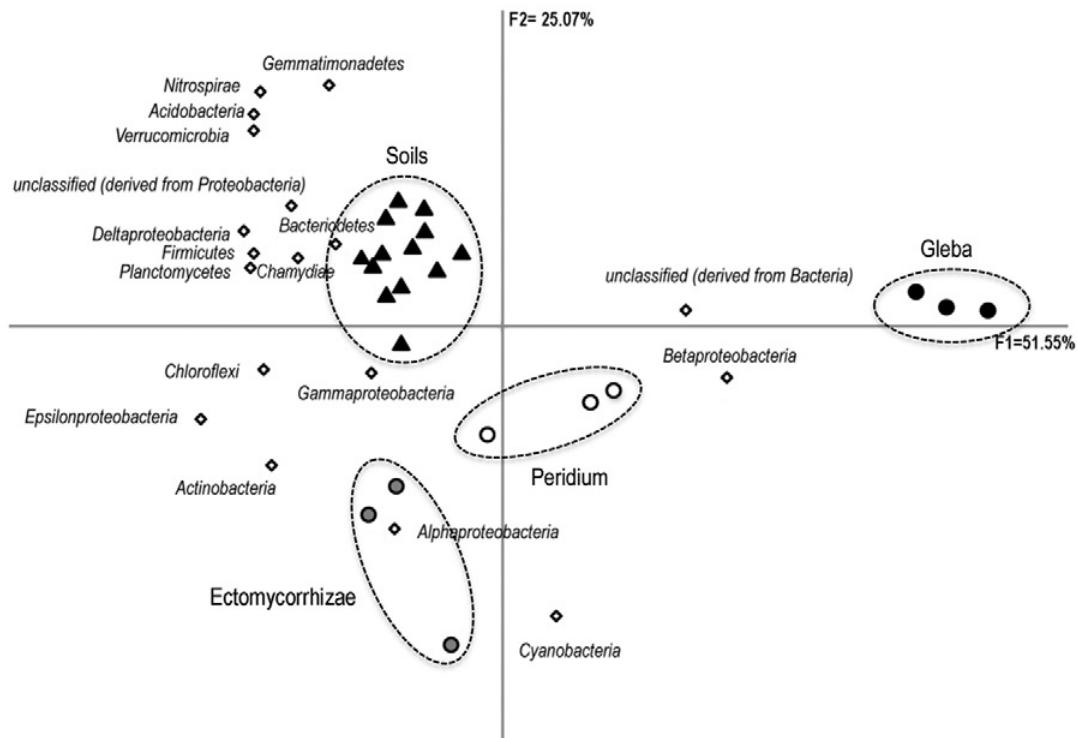


Figure 28. Les ectomycorhizes et les ascocarpes de *T. melanosporum* sont colonisés par des communautés bactériennes différentes. Analyse multivariée des communautés bactériennes associées aux ectomycorhizes, aux ascocarpes et aux sols associés collectés en novembre 2010 identifiées par pyrosequençage 454 d'amplicons 16S. Extrait de Babu et al. 2014

2. Arômes des truffes : quels rôles pour les bactéries ?

Les truffes sont très prisées des gourmets pour leurs arômes complexes si particuliers. Si il est possible de reproduire le parfum typique de la truffe noire *T. melanosporum* ou de la truffe blanche *T. magnatum* en rassemblant un nombre réduit de composés organiques volatiles (i.e. Truffe noire Diméthyl sulfides, 2-méthyl butanal ; truffe blanche 2,4-dithiapentane) (Fiechi *et al.*, 1967; Talou *et al.*, 1989), les amateurs ne se font pas piéger et n'y trouvent pas leur compte. Cela tient au fait que l'arôme des truffes est le produit d'une combinaison de plus d'une quinzaine de composés majeurs dont l'assemblage dans diverses proportions fait toute la subtilité (Figure 29). Un assemblage instable qu'il est malaisé de reproduire artificiellement. L'arôme des truffes est l'objet de nombreuses controverses, à la fois politiques et scientifiques. Existe-t-il des terroirs pour les truffes à l'image des vins qui pourraient justifier des Appellations d'Origine Contrôlée et des tarifs différenciés en fonction des origines ? Les truffes sont-elles seules productrices de leurs arômes ? Peut-on produire naturellement des arômes de truffes, sans truffes... Nous avons tenté d'apporter des réponses concrètes à ces questions à travers plusieurs études sur trois espèces de truffes : la truffe blanchette *T. borchii*, la truffe noire d'été *T. aestivum* et la truffe blanche *T. magnatum*. Le cas de la truffe noire *T. melanosporum* a été abordé au travers d'une méta-analyse de données déjà publiées (Vahdatzadeh *et al.*, 2015).

L'acquisition du génome de *T. melanosporum* et son analyse approfondie ont montré que ce champignon possède les gènes lui permettant de produire l'ensemble des composés organiques volatiles majeurs impliqués dans la production de son arôme (Martin *et al.*, 2010). Toutefois, *T.*

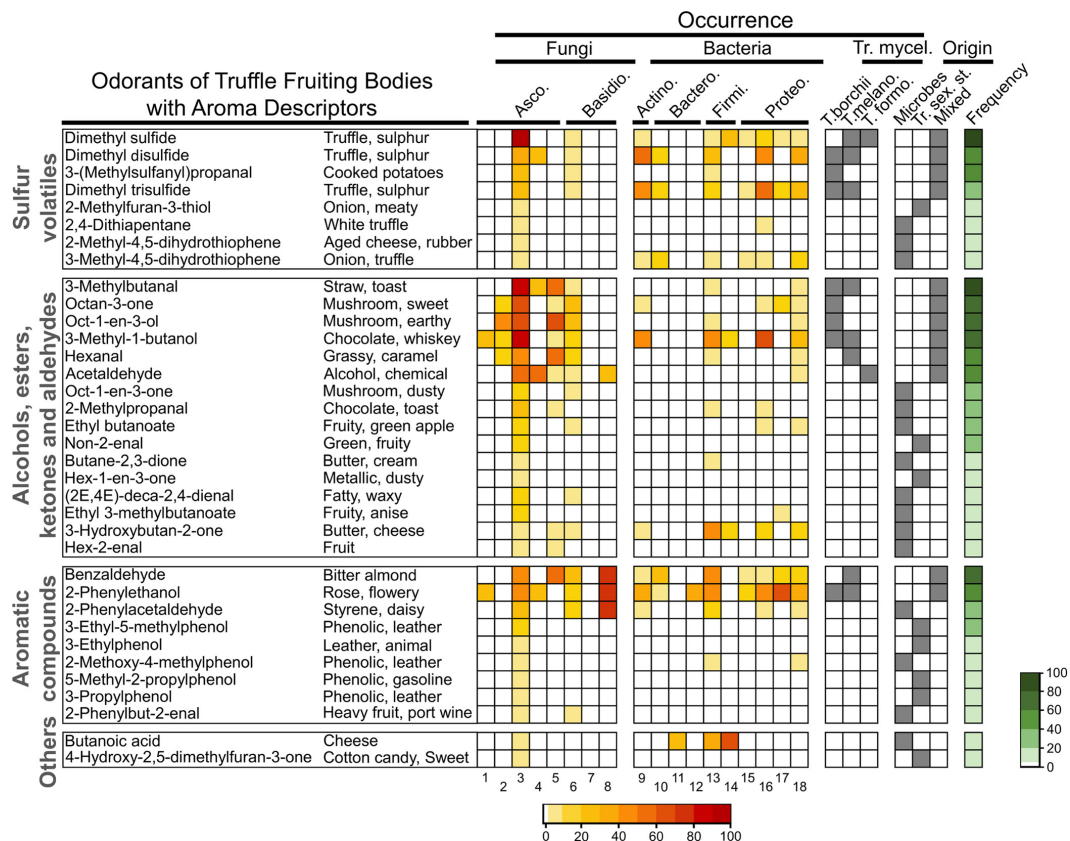


Figure 29. Capacités des différents taxa de micro-organismes fongiques et bactériens, et des truffes en cultures pures in vitro ou stade d'ascocarpe à produire des composés organiques volatiles typiques des truffes. Le gradient de couleurs de blanc à rouge représente le taux d'occurrences de production d'un composé donné par des micro-organismes d'un groupe taxonomique d'après le données mVOC et la littérature. « Origin » fait référence à l'origine spéculative des substances odorantes dans les fructifications des truffes, où certaines substances odorantes pourraient être produites par des microbes uniquement (microbes), par la truffe uniquement à son stade sexuel (Tr. sex. st.), ou par des microbes et des truffes (mixte). La fréquence (vert) représente le pourcentage d'occurrence de chaque substance odorante dans les fructifications de 13 espèces de truffes. Extrait de Vahdatzadeh et al. 2015

melanosporum, et ses cousines, ne sont pas les seuls champignons capables de produire ces composés (Figure 29). De nombreux autres champignons, aussi bien des Ascomycètes et que des Basidiomycètes, ont la capacité de produire un ou plusieurs des composés impliqués. Les voies métaboliques sont aussi présentes chez certains groupes bactériens pouvant coloniser les truffes. Nous avons donc postulé que les composés dominants dans l'arôme des truffes étaient issus de l'activité des truffes elles-mêmes et potentiellement de l'activité combinée d'autres micro-organismes présents à la surface et dans les truffes. A l'inverse, un certain nombre de composés parmi les moins abondants au sein de l'arôme des truffes ne peuvent pas être produits par les truffes elles-mêmes. Il est donc probable que ceux-ci soient issus du métabolisme du microbiote des truffes. Nous avons ainsi démontré avec R. Splivallo que le thiophène, composé volatile sulfuré caractéristique de *T. borchii*, n'est pas produit par le champignon mais par des bactéries qui lui sont associées (Splivallo *et al.*, 2015). Ainsi, il est possible que des variations dans la composition du microbiote des truffes aient des conséquences sur l'arôme des truffes. Nous avons tenté, à travers plusieurs études sur *T. aestivum* et *T. magnatum*, de rechercher des corrélations entre la présence de certains genres bactériens et les composés volatiles aromatiques produits par ces truffes. Ces

études n'ont pas été concluantes, à l'exception de quelques composés volatiles non odorant détectés chez *T. magnatum* (Niimi *et al.*, 2021b). Ce résultat négatif peut être dû à des redondances fonctionnelles entre les micro-organismes qui colonisent les truffes (Vahdatzadeh *et al.*, 2015). Néanmoins, l'approche de corrélation utilisée reposant sur des travaux de métagénomique monogénique et de profils de composés aromatiques mériterait d'être complétée par des analyses plus spécifiques avec des souches bactériennes isolées en culture pure. La collection de plusieurs centaines de souches bactériennes créée par S. Antony Babu durant son post-doctorat dans le laboratoire pourrait être exploitée à cette fin dans le futur.

Si la qualité de l'arôme est un élément essentiel pour la commercialisation des truffes, sa stabilité dans le temps est également importante. A l'instar de nombreux produits alimentaires frais, les truffes sont très vite périssables et leur conservation est un enjeu pour la filière. Nous nous sommes intéressés avec R. Splivallo à l'évolution de l'arôme de la truffe noire *T. aestivum* et de la truffe blanche *T. magnatum* ainsi qu'au devenir de leurs communautés bactériennes après la récolte des truffes. Pour ce faire, nous avons analysé conjointement les arômes et les communautés bactériennes de truffes conservées à température ambiante pendant une dizaine de jours, en réalisant des mesures tous les trois jours. L'arôme des truffes se dégrade rapidement, dès trois jours après la récolte (Maryam *et al.*, 2015; Niimi *et al.*, 2021a). L'abondance des composés aromatiques typiques des deux truffes diminuent drastiquement au cours du temps tandis que des composés typiques de pourriture (ex. methylbutanol, triméthylamine) augmentent fortement. De même, les communautés bactériennes changent très rapidement de composition et les genres dominants (*Bradyrhizobium*, *Pedobacter*) sont rapidement remplacés par des groupes bactériens typiques des aliments en décomposition (ex. Enterobacterales) et en cours de fermentation (ex. Lactobacilliales). Ces données nous indiquent que les bactéries qui dominent naturellement dans les truffes au moment de leur récolte ne sont pas responsables de la décomposition des ascocarpes ni de l'odeur déplaisante qui résulte de cette décomposition. Elles suggèrent également que la récolte de truffes et la rupture du lien physique qui unit la truffe à son arbre hôte induit un changement drastique de l'habitat qui est défavorable à ces communautés et suggère donc l'existence d'interactions métaboliques entre le champignon et les bactéries de la gleba qui sont rompus lors de la récolte. Enfin, les bactéries responsables de la décomposition des truffes semblent être déjà présentes, en très faible proportion, dans les truffes au moment de leur récolte. Il ne s'agit donc pas de contaminants acquis pendant leur manipulation et leur transport après la récolte. Il est probable que ces bactéries soient impliquées dans le cycle naturel de la truffe au cours duquel l'ascocarpe se décompose pour libérer les spores. Il est d'ailleurs intéressant de noter que l'un des genres bactériens dominant présent dans les truffes de *T. magnatum* après 9 jours est *Stenotrophomonas*. Ce genre bactérien est souvent retrouvé au contact de nécromasse fongique (Brabcová *et al.*, 2016; Maillard *et al.*, 2021). Pourtant, *Stenotrophomonas maltophilia* est aussi trouvé en association avec le mycélium de *T. magnatum* dès lors que le champignon est cultivé en culture pure au laboratoire. Il est alors très difficile d'éliminer cette bactérie des hyphes du champignon, suggérant une association intime et complexe entre ces deux micro-organismes, qu'il pourrait être intéressant d'analyser plus en détail.

D'un point de vue pratique, les résultats obtenus signifient que la préservation des truffes pour leur consommation pourrait être améliorée en conditionnant les truffes de manière à prévenir le développement de ces bactéries. Certaines bactéries pourraient également être utilisées comme indicateur de fraîcheur des truffes.

3. Pourquoi certaines bactéries colonisent-elles massivement les truffes ?

Si certaines bactéries présentes dans les truffes sont très probablement impliquées dans la décomposition des ascocarpes en fin de cycle de vie, celles-ci ne semblent pas être majoritaires pendant le développement des ascocarpes, comme nous l'avons vu précédemment. Dès lors comment expliquer la présence massive, mais instable, de certains genres bactériens, et quels rôles jouent-ils dans la biologie du champignon ? Nous avons entrepris d'aborder ces questions sous deux angles d'approche complémentaires : en utilisant d'une part une approche globale et sans a priori de métagénomique via la technique des Geochips (He *et al.*, 2007), d'autre part en créant une collection de bactéries isolées d'ascocarpes de *T. melanosporum* à différents stades de développement, du sol et d'ectomycorrhizes collectés sous les mêmes arbres de la truffière de Rollainville (88). La première approche, réalisée sur un nombre réduit d'échantillons, suggère un enrichissement de gènes impliqués dans le métabolisme du soufre et de l'azote parmi les micro-organismes colonisant *T. melanosporum* par comparaison de ceux présents dans les sols. Si le métabolisme du soufre peut être mis en relation avec la formation de l'arôme, comme évoqué dans la section précédente, le métabolisme de l'azote est lui aussi intéressant. En effet, Barbieri et collaborateurs ont montré que les bactéries présentes dans les ascocarpes de *T. magnatum* sont capables de fixer l'azote atmosphérique (Barbieri *et al.*, 2010). Plus récemment, un autre groupe a obtenu des résultats similaires sur la truffe de Chine *T. indicum* (Chen *et al.*, 2019). Il a ainsi été proposé que ces bactéries participent à la nutrition azotée des ascocarpes. Toutefois, aucun travail publié n'a montré de transfert d'azote depuis les bactéries vers le champignon. Dans la mesure où les genres *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* et *Mesorhizobium* sont abondamment présents dans les ascocarpes des différentes espèces de truffes noires et de truffe blanche, et que ces genres bactériens sont connus pour leur capacité à fixer l'azote atmosphérique, il est tentant de spéculer que les observations faites sur *T. magnatum* et *T. indicum* s'étendent à *T. melanosporum* et *T. aestivum*. Cependant les résultats de marquages isotopiques de l'azote réalisés par F. Le Tacon & B. Zeller ne sont pas en faveur de cette hypothèse et indiquent plutôt que l'essentiel de l'azote présent dans les ascocarpes de *T. melanosporum* serait fourni par l'arbre hôte (Zeller *et al.*, 2008). Des travaux complémentaires semblent donc nécessaires pour clore cette controverse.

Conclusions

Si les travaux menés sur les communautés bactériennes des truffes ont permis de mettre en lumière la diversité et la complexité de ces communautés ainsi que le rôle de certaines bactéries dans le cycle de vie de ce champignon iconique, de nombreux points restent mystérieux. Le premier concerne la nature des interactions entre le champignon et son microbiote : le champignon tire-t-il des bénéfices de la colonisation de ses tissus par des communautés bactériennes ? Inversement, quels paramètres de la biologie des truffes en font un habitat spécifique favorable à une communauté relativement restreinte de micro-organismes ? Pourquoi ces bactéries ne peuvent-elles se maintenir que lorsque la truffe est vivante ? La liste des questions en suspens pourrait être très longue et les années à venir se révéleront certainement très riches en découvertes.

Epilogue

Ces travaux reposent sur l'activité de recherche de S. Anthony-Babu (post-doctorant 2010-2012), O. Niccolitch (M2), Isabelle Canihac (M1), avec l'appui technique de B. Palin. Ils sont le fruit de collaborations internes – P. Frey-Klett, S. Uroz, C. Murat, F. Le Tacon, locales – C. Robin (Laboratoire LAE, ENSAIA), C. Bontemps (Laboratoire Dynamic, Université de Lorraine), nationale – M-A Sélosse, L. Schneider Maunoury, P. Reich (Muséum National d'Histoire Naturelle) et internationales – R. Splivallo, M. Vahdatzadeh, J. Niimi (Université de Francfort).

Financement

Ces travaux ont été financés via l'ANR, le LABEX ARBRE et Lorraine Université d'Excellence (Tableau 3).

Tableau 3. Liste des financements que j'ai obtenus et auxquels j'ai participé pour alimenter le projet portant sur les communautés bactériennes des truffes

Années	Origine	Type	Projet	Montant	Rôle
2010-2014	ANR	Projet de recherche	Bases d'une gestion écologique durable, des écosystèmes truffiers producteurs de <i>Tuber melanosporum</i>		Partenaire (Leader M-A Sélosse)
2014 - 2016	PEPS Mirabelle	Projet de recherche	Truffles' microbial interaction inference by network analysis	14 k€	Partenaire (Leader A. Gueudin EICL)
2014	LABEX ARBRE	Projet de recherche	Functional characterization of bacterial communities of the black truffle <i>Tuber melanosporum</i> along its life cycle	15 k€	Coordinatrice
2018	LUE	Projet de recherche	Le microbiote de la truffe, nouvelle source de biomolécules	10 k€	Co-coordinatrice (C. Bontemps, Uni Lorraine)

Diffusion des résultats

Ces travaux ont donné lieu à 11 publications dans des revues internationales à comité de lecture, un article de revue et 3 articles de vulgarisation. Ils ont été présentés à travers plusieurs conférences grand public (Journée de restitution de l'ANR Systruf, Comité technique des trufficulteurs, Fête de la truffe).

Publications dans des revues à comité de lecture

Jun Niimi, **Aurélié Deveau**, Richard Splivallo. Geographical-based variations in white truffle *Tuber magnatum* aroma is explained by quantitative differences in key volatile compounds. **New Phytologist**, Wiley, 2021, 230, pp.1623 - 1638. { 10.1111/nph.17259 }. { hal-03225171 }

Jun Niimi, **Aurélié Deveau**, Richard Splivallo. Aroma and bacterial communities dramatically change with storage of fresh white truffle *Tuber magnatum*. **LWT - Food Science and Technology**, Elsevier, 2021, 151, { 10.1016/j.lwt.2021.112125 }. { hal-03287238 }

Laure Schneider-Maunoury, **Aurélié Deveau**, Myriam Moreno, Flora Todesco, Simone Belmondo, et al. Two ectomycorrhizal truffles, *Tuber melanosporum* and *T. aestivum*, endophytically colonise roots of non-ectomycorrhizal plants in natural environments. **New Phytologist**, Wiley, 2020, 225 (6), pp.2542-2556. { 10.1111/nph.16321 }. { hal-02912732 }

Maryam Vahdatzadeh, **Aurélie Deveau**, Richard Splivallo. Are bacteria responsible for aroma deterioration upon storage of the black truffle *Tuber aestivum*: A microbiome and volatilome study. **Food Microbiology**, Elsevier, 2019, 84, pp.103251. { 10.1016/j.fm.2019.103251 }. { hal-02352502 }

Aurélie Deveau, Philippe Clowez, François Petit, Jean-Paul Maurice, Flora Todesco, et al.. New insights into black truffle biology: Discovery of the potential connecting structure between a *Tuber aestivum* ascocarp and its host root. **Mycorrhiza**, Springer Verlag, 2019, 29 (3), pp.219-226. { 10.1007/s00572-019-00892-4 }. { hal-02177354 }

Richard Splivallo, **Maryam Vahdatzadeh**, Jose G Maciá-Vicente, Virginie Molinier, Martina Peter, **Aurélie Deveau**. Orchard Conditions and Fruiting Body Characteristics Drive the Microbiome of the Black Truffle *Tuber aestivum*. **Frontiers in Microbiology**, Frontiers Media, 2019, 10, pp.1437. { 10.3389/fmicb.2019.01437 }. { hal-02264371 }

Aurélie Deveau, Sanjay Antony-Babu, François Le Tacon, Christophe Robin, Pascale Frey-Klett, et al. Temporal changes of bacterial communities in the *Tuber melanosporum* ectomycorrhizosphere during ascocarp development. **Mycorrhiza**, Springer Verlag, 2016, 26 (5), pp.389-399. { 10.1007/s00572-015-0679-7 }. { hal-01477465 }

François Le Tacon, Andrea Rubini, Claude Murat, Claudia Riccioni, Christophe Robin, et al.. Certainties and uncertainties about the life cycle of the Périgord black truffle (*Tuber melanosporum* Vittad.). **Annals of Forest Science**, Springer Nature (since 2011)/EDP Science (until 2010), 2016, 73 (1), pp.105-117. { 10.1007/s13595-015-0461-1 }. { hal-01284231 }

Maryam Vahdatzadeh, **Aurélie Deveau**, Richard Splivallo. The Role of the Microbiome of Truffles in Aroma Formation: a Meta-Analysis Approach. **Applied and Environmental Microbiology**, American Society for Microbiology, 2015, 81 (20), pp.6946-6952. { 10.1128/AEM.01098-15 }. { hal-01269458 }

Richard Splivallo, **Aurélie Deveau**, Nayuf Valdez, Nina Kirchhoff, Pascale Frey-Klett, et al.. Bacteria associated with truffle-fruited bodies contribute to truffle aroma. **Environmental Microbiology**, Society for Applied Microbiology and Wiley-Blackwell, 2015, 17 (8), pp.2647-2660. { 10.1111/1462-2920.12521 }. { hal-01579586 }

Sanjay Antony-Babu, **Aurélie Deveau**, Joy D. van Nostrand, Jizhong Zhou, François Le Tacon, et al.. Black truffle-associated bacterial communities during the development and maturation of *Tuber melanosporum* ascocarps and putative functional roles. **Environmental Microbiology**, Society for Applied Microbiology and Wiley-Blackwell, 2014, 16 (9), pp.2831-2847. { 10.1111/1462-2920.12294 }. { hal-01270208 }

Articles de vulgarisation

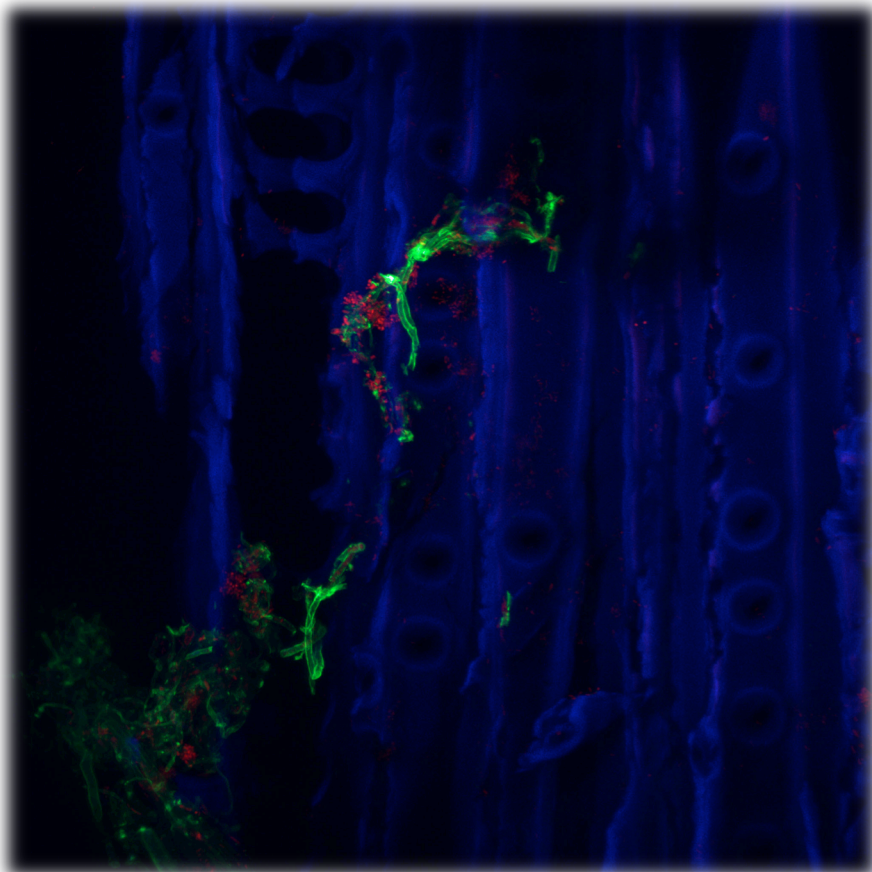
Aurélie Deveau, Philippe Clowez, François Petit, Jean-Paul Maurice, Flora Todesco, et al.. A la recherche de la structure d'attache entre la truffe d'été et son hôte. *Le Trufficulteur Français*, 2020, pp.1-5. { hal-03794287 }

Aurélie Deveau, Annegret Kohler, François Le Tacon, Francis Martin, Virginie Molinier, et al.. Le trufficulteur : Un trait d'union indispensable entre trufficulteurs et scientifiques. *Le Trufficulteur Français*, 2017, n°100 spécial, pp.9-10. { hal-02620110 }

Aurélie Deveau, Sanjay Antony-Babu, Christophe Robin, François F. Le Tacon, Stéphane S. Uroz, et al.. Les bactéries, des partenaires méconnus de la truffe. *Le Trufficulteur Français*, 2014, 87 (2),

PARTIE 2

PROJET DE RECHERCHE



Contexte

Les travaux menés dans les 15 dernières années à travers le monde ont permis d'acquérir une connaissance étendue de la biodiversité microbienne des sols forestiers et du microbiote des arbres, révélant ainsi la très grande diversité des micro-organismes interagissant avec les arbres. A l'inverse, notre compréhension des activités réalisées par ces micro-organismes reste parcellaire. Si nous connaissons les bénéfices et les dommages induits par les micro-organismes d'un point de vue général – nutrition des plantes, protection contre les stress biotiques et abiotiques, maladies... -, il nous est généralement difficile de prédire la nature des activités des différents micro-organismes dans les conditions naturelles. Cela tient essentiellement à trois raisons : premièrement, les capacités fonctionnelles d'une grande partie des micro-organismes restent inconnues, à l'exception des grands groupes représentés par les champignons pathogènes et les champignons mycorhiziens. Deuxièmement, nous connaissons généralement le comportement des micro-organismes en culture pure alors que les interactions avec d'autres (micro-)organismes peuvent modifier du tout au tout leurs activités. Enfin de manière corolaire, les micro-organismes sont par nature extrêmement versatiles et adaptent leurs comportements à leur environnement biotique et abiotique. Ainsi des micro-organismes bénéfiques dans certaines conditions peuvent devenir néfastes dans d'autres conditions. De plus, notre vision des activités de certains grands groupes microbiens est probablement trop restrictive. Ainsi, les champignons ectomycorhiziens, abondamment étudiés pour leur capacité à vivre en symbiose avec les racines des arbres, sont probablement susceptibles de coloniser d'autres plantes de manière endophyte sans former de mycorhizes, accomplissant potentiellement ici un rôle complètement différent de celui de symbiote.

Par ailleurs, notre connaissance des conséquences exactes des modifications au sein du microbiote sur la physiologie des arbres hôtes est réduite à ce jour. Les modifications naturelles ou induites du microbiote des arbres ont-elles des effets majeurs sur la physiologie des arbres ou ces processus sont-ils à la marge ? Si l'utilisation du microbiote comme outil d'ingénierie écologique pour améliorer la santé et/ou la croissance des plantes est une piste fréquemment évoquée dans les processus de gestion durable des agrosystèmes, les connaissances de base permettant de passer d'une vision théorique potentiellement utopique à la pratique sont loin d'être acquises. L'étude intégrative de la biologie du couple arbre-microbiote semble nécessaire pour pouvoir apporter des réponses sur ce sujet.

Objectifs et approches

Face à ces enjeux, mes travaux de recherche seront axés autour de trois objectifs principaux. Il s'agira, d'une part, d'identifier les interactions majeures mises en œuvre par les micro-organismes dans leur environnement naturel, d'autre part, de poursuivre l'étude des mécanismes impliqués dans la sélection du microbiote par l'arbre et enfin d'analyser les conséquences fonctionnelles pour l'hôte de modifications des communautés microbiennes au sein du microbiote, plus particulièrement concernant la nutrition minérale et la résistance au stress hydrique.

Pour atteindre ces objectifs, nous combinerons des approches mécanistiques basées sur l'utilisation d'organismes modèles génétiquement modifiables (peuplier, souches fongiques et bactériennes en

collection) cultivés en microcosmes à une approche d'écologie microbienne dans des écosystèmes naturels forestiers.

Programme de recherche

1. Rôle des phytohormones de défense de la sélection du microbiote du peuplier.

Les résultats obtenus par L. Mangeot-Peter et F. Fracchia suggèrent que les phytohormones végétales peuvent être impliquées dans le contrôle de la composition et des activités des communautés microbiennes du peuplier. Une augmentation de la production d'éthylène par le peuplier pourrait limiter la colonisation du système racinaire par l'ensemble des champignons et modifier la composition des communautés bactériennes des feuilles (Fracchia, 2022). A l'inverse, l'inhibition du déclenchement des voies de défense induites par l'acide jasmonique favoriserait la colonisation des racines par certains champignons EcM au dépend des endophytes (Mangeot-Peter, 2020). Néanmoins ces résultats nécessitent d'être confirmés et complétés. Nous poursuivrons donc l'analyse des lignées mutantes de peuplier générées par F. Fracchia en se focalisant sur trois groupes de lignées. Le premier groupe est composée de lignées d'interférence à ARN affectées dans la production du régulateur PtJAZ6 impliqué dans la signalisation de la voie de l'acide jasmonique. Des travaux au sein du laboratoire ont montré que ce régulateur est la cible de la petite protéine sécrétée Missp7 par le champignon EcM *L. bicolor* (J.M. Plett *et al.*, 2014). Cette protéine fongique pénètre dans le noyau des cellules racinaires du peuplier et interagit avec le régulateur transcriptionnel PtJAZ6, empêchant ainsi la fixation du methyl jasmonate à ce même régulateur et le déclenchement des voies de défense, permettant ainsi la formation du réseau de Hartig à l'intérieur des racines. Nous émettons l'hypothèse que PtJAZ6 contrôlerait plus largement la colonisation des racines par les micro-organismes.

Le deuxième groupe de lignées mutantes portent sur le gène *npr1* qui code pour un récepteur de l'acide salicylique (AS). NPR1 est un co-activateur transcriptionnel d'une vaste gamme de gènes de défense. En l'absence d'AS, NPR1 est séquestré dans le cytoplasme. L'accumulation d'AS dans le cytoplasme en réponse à l'attaque de pathogènes induit un changement dans l'état redox de NPR1 qui conduit à son transport dans le noyau où il active les facteurs de transcription TGA des gènes de défense de la voie de l'AS, tel que PR-1 chez *Arabidopsis thaliana*. Plusieurs études réalisées sur l'arabette suggèrent que l'AS joue un rôle dans la structuration des communautés bactériennes racinaires et foliaires chez cette plante. Toutefois, *A. thaliana* est une plante annuelle qui n'est pas colonisée par les champignons mycorhiziens. Elle n'est donc pas un bon modèle végétal pour les arbres. Le peuplier a la particularité de posséder naturellement un niveau très élevé de salicylates dans ses tissus mais leurs concentrations varient en fonction du stade de développement de l'arbre. De plus, des corrélations ont été établies entre le niveau de concentrations en salicylates dans les tissus et la composition des communautés microbiennes de certains génotypes de peupliers (Bailey *et al.*, 2015; Veach *et al.*, 2019). Toutefois, ces études ont été réalisées en milieu naturel et d'autres facteurs confondant pourraient expliquer les différences observées. L'utilisation de mutants ayant des niveaux de salicylates variables devrait permettre de clarifier le rôle de cette phytohormone dans la régulation du microbiote du peuplier.

Le troisième groupe de lignées mutantes cible un gène codant pour une terpène cyclase. La transcription de ce gène est régulée par un large spectre de champignons EcM, ce qui laisse à penser

que son produit joue un rôle critique dans le processus de formation des EcM (Kohler, Marque Galvez et al, non publié). La surexpression de ce gène conduit à une diminution du niveau de mycorhization par *L. bicolor* in vitro (Fracchia et al. non publié). La nature du produit de cette terpène cyclase, identifié avec l'aide de N. Lackus et T. Koellner (Max Planck Institute for Chemical Ecology) suggère qu'il pourrait être impliqué dans la régulation de la colonisation des tissus endophytes par les micro-organismes.

Pour ces trois groupes de lignées, nous analyserons la dynamique de colonisation du système racinaire par les différentes guildes de micro-organismes (symbiotes, endophytes, copiotrophes) bactériens et fongiques en combinant microscopie confocale, métagénomique monogénique et métatranscriptomique. De plus, nous analyserons l'impact des changements de communautés sur la physiologie du peuplier (métabolome foliaire et racinaire, flux C-N, croissance/stockage). Il s'agira ici de déterminer dans quelle mesure des modifications de la composition du microbiote, en particulier de la balance AM/EcM/endophytes et de certaines bactéries « clés » affectent la nutrition de l'arbre et hôte et sa résistance au stress hydrique. Des marqueurs isotopiques ($^{15}\text{NH}_4^+$, H_2^{18}O) ainsi que des marqueurs physiologiques seront utilisés pour déterminer le rôle relatif des différents micro-organismes dans la nutrition minérale et la résistance au stress hydrique.

Outre les mécanismes mis en œuvre par le peuplier pour contrôler la colonisation de ses tissus par les communautés microbiennes, la composition de ces dernières dépend également de processus d'interactions entre les micro-organismes eux-mêmes. Ceux-ci restent pour le moment très mal décrits in situ. Nous explorerons les rôles relatifs de la compétition et de la coopération entre micro-organismes dans le processus de stabilisation du microbiote. Pour ce faire, nous utiliserons à la fois une approche *in situ* utilisant les microcosmes permettant le suivi de la colonisation de racines naïves par les communautés microbiennes naturelles du sol (système développé et mis en œuvre par F. Fracchia, Fracchia et al. (2021)) et une approche basée sur la construction de communautés synthétiques bactéries-champignons (collection préexistante issue de la collaboration PMI). Nous déterminerons in vitro les capacités de compétition et de collaborations entre les principaux micro-organismes impliqués dans la dynamique de colonisation en présence ou non d'exsudats racinaires. Pour ce faire, nous nous appuyerons sur les résultats obtenus pendant la thèse de M. Gonzalo (2016-2019) sur les interactions entre micro-organismes et les travaux qui s'en sont suivis (collaboration B. Aigle UMR Dynamic, V. Carré LPCA2MC, projet NECROROOT). Les interactions in situ seront suivies par microscopie confocale couplée à l'hybridation in situ multi-espèces et l'imagerie par spectrométrie de masse.

Ces travaux seront réalisés en étroite collaboration avec les membres C. Veneault Fourrey, A. Kohler et C. Bonnot (UMR IAM), les collègues de l'UMR SILVA et l'Oak Ridge National Laboratory (USA). Ils seront en partie financés par le programme Plant Microbe Interface (2022-2027, ORNL-DOE) et un projet ANR (PRME MycoDrought 2024-2028, sous réserve de financement). Les résultats serviront de base pour des travaux complémentaires sur le rôle du microbiote dans la résistance au stress hydrique en milieu forestier.

2. Rôle des communautés microbiennes dans la résistance au stress hydrique

Le rôle du microbiote dans la résistance à la sécheresse est pour le moment mal caractérisé. S'il est clairement démontré que la sécheresse a un effet marqué sur les communautés microbiennes des sols et le microbiote des arbres, les conséquences fonctionnelles sont pour le moment peu connues. Ainsi se pose la question des capacités fonctionnelles des micro-organismes qui survivent en condition de sécheresse : ont-ils des effets bénéfiques pour les arbres ou sont-ils seulement plus résistants au stress hydrique ? Il a par exemple été clairement démontré que le champignon EcM *Cenococcum geophilum* est particulièrement résistant aux épisodes de sécheresse et domine sur les systèmes racinaires des hêtres en période de sécheresse mais il n'existe quasiment pas de données sur ses activités et en particulier sa capacité à fournir de l'eau et des nutriments à son hôte. Je propose donc, à travers une approche intégrative combinant l'étude taxonomique et fonctionnelle des communautés microbiennes, le suivi de la physiologie des arbres et des cycles biogéochimiques, de tenter de répondre aux questions suivantes :

1. Quels sont les impacts des sécheresses printanières, estivales et automnales sur le microbiote des arbres et son rôle fonctionnel ?
2. Existe-t-il des communautés microbiennes qui améliorent la résistance des arbres aux sécheresses ?
3. Peut-on envisager d'exploiter des alliances microbiennes pour produire des plants « microbiotés » à l'image de la mycorhization contrôlée pour favoriser la résistance à la sécheresse et aux dépérissements ?

Des expérimentations ont déjà été engagées en 2021 pour répondre à ces questions au travers de projets portant sur la sécheresse chez le hêtre (projets Droughtmic et Donuts) et le dépérissement du chêne en forêt de Chantilly (Projet « Sauvons le forêt de Chantilly », 2022-2024, 100k€). Ces projets visent dans un premier temps à décrire la réponse des communautés microbiennes à la sécheresse et/ou au dépérissement à travers des suivis temporels in situ (dispositif d'exclusion d'eau, site dépérissant vs sain) et en serre. Le couplage de ces mesures à celui du suivi de croissance des arbres et de fonctionnement des cycles biogéochimiques devrait permettre d'identifier de potentiels acteurs microbiens bénéfiques. Il s'agira ensuite de déterminer par quels mécanismes leur présence est bénéfique. Une attention particulière sera apportée aux synergies potentielles entre champignons et bactéries et notamment au rôle des champignons dans le maintien de l'activité des bactéries dans les sols. Des résultats préliminaires indiquent en effet que les activités PGPR des bactéries du sol sont drastiquement réduites lorsqu'elles sont soumises à un stress hydrique bien que leur croissance ne soit pas affectée (Deveau & Uroz, non publié). Certains champignons étant capable de puiser de l'eau à distance grâce à leur réseau mycélien et d'en transférer une partie aux bactéries de leurs hyphosphères (Worrich *et al.*, 2017), il serait intéressant de tester si les champignons pourraient contribuer au maintien de l'activité des bactéries dans les sols en période de sécheresse. Outre l'aspect fondamental de ces travaux pour mieux comprendre comment les arbres et leurs microbiotes interagissent en réponse à la sécheresse, un volet appliqué est envisagé sur le long terme. Ce dernier vise à tester la faisabilité et la pertinence d'inoculer des microbiens pour améliorer la résistance de jeunes plants à la sécheresse à l'image de la mycorhization contrôlée par *Laccaria bicolor* ou la truffe. Cette approche d'ingénierie écologique est très souvent proposée dans les projets mais est globalement considérée par une partie de la communauté scientifique comme une utopie car son succès serait dépendant de trop de facteurs

non maîtrisés (variabilité des conditions édaphiques et physico-chimiques, microbiote indigène...). Il est certain que la solution ne viendra probablement pas d'une seule souche ou d'un consortium miracle mais plus probablement d'un panel de consortia plus ou moins adaptés aux différents arbres et types de sols. Il me semble néanmoins important de tester ce type d'application. Toutefois ces travaux ne pourront pas être mis en œuvre sans une collaboration étroite avec des pépiniéristes, après démonstration de la preuve de concept.

Ces travaux de recherche fondamentale seront réalisées en collaboration étroite avec S. Uroz (IAM) avec qui ce projet a été débuté ainsi qu'avec les collègues spécialistes de la biogéochimie des sols (M-P. Turpault, L. Saint-André, UR BEF Nancy), de l'écophysiologie des arbres (C. Plain, D. Le Thiec, UMR Silva Nancy) et des pathogènes du chêne (C. Robin, UMR Biogeco Bordeaux). Des financements ont déjà été acquis pour ces travaux et seront complétés à l'avenir via la réponse à des appels d'offres (ANR, PEPR Forrest, Métaprogramme Climae). Les fonds acquis permettent de financer l'embauche pour un an d'une technicienne en CDD qui prendra en charge les analyses en laboratoire.

3. Rôles des bactéries dans le cycle de vie des truffes du genre *Tuber*

Le troisième axe de recherche que je compte maintenir dans les années qui viennent porte sur l'exploration des interactions entre les truffes et leurs communautés bactériennes. Il s'agira d'une part de poursuivre l'exploitation des données acquises au cours de cette décennie. Nous avons en effet collecté un large spectre de données sur les capacités fonctionnelles des bactéries isolées de la truffe par S. Antony Babu au travers des stages de recherche d'O. Niccolitch, C. Noëllet et I. Canihac ainsi que des données de métagénomique et de métatranscriptomique des ascocarpes de truffes de *T. aestivum* et *T. melanosporum*. L'interprétation de ces données devrait être facilitée par la connaissance détaillée que nous avons obtenue de la dynamique des communautés bactériennes dans les truffes (cf. chapitre 3). D'après nos analyses, deux types de bactéries semblent coexister dans les truffes. La communauté dominante en terme d'abondance serait composée de bactéries dont la présence requiert que l'ascocarpe soit connecté avec son arbre hôte. Il s'agira de déterminer quels rôles jouent ces bactéries en dehors de la modulation de l'arôme. Le deuxième groupe est constitué de bactéries plutôt rares en terme d'abondance dans les truffes matures et qui seraient impliquées dans la dégradation de l'ascocarpe en fin de cycle de vie, permettant ainsi la libération des spores dans le sol. Ces bactéries seraient en partie responsable de la dégradation de l'arôme des truffes et coloniseraient massivement les ascocarpes au stade très tardif post-maturité. Cependant, des phénomènes de pourrissement précoce des truffes, bien avant qu'elles n'atteignent la maturité, sont également rapportés régulièrement par les trufficulteurs. Ceux-ci attribuent ce phénomène à un « feu bactérien ». Je désire dans le futur étudier ce phénomène pour déterminer s'il est causé par les mêmes bactéries nécrotrophes qui se développent normalement en fin de cycle ou par d'autres micro-organismes. Pour ce faire une étude préliminaire a été engagée à l'automne 2022 avec quelques trufficulteurs. Si les résultats démontrent qu'il s'agit en effet d'un problème d'origine microbienne, un projet plus large sera mis en place pour essayer de comprendre les facteurs responsables de ces attaques. Le rôle de potentiels champignons sera également pris en compte. En effet la perte des récoltes en Australie liées à des phénomènes de pourrissement dans les années 2010 avait été attribuée à la colonisation des ascocarpes par deux champignons de pourriture (Eslick,

2016). Peu de données sont disponibles à l'heure actuelle concernant les communautés fongiques présentes à la surface des ascocarpes et dans la gleba, comme précédemment évoqué. Des analyses par mise en culture indiquent néanmoins la présence de levures et de champignons filamenteux (Pacioni *et al.*, 2007; Giorgio *et al.*, 2022). Il est possible que ceux-ci soient impliqués dans la structuration des communautés bactériennes. Des analyses de type métagénomique monogénique ciblant les champignons seront réalisées sur les échantillons pour lesquels nous avons déjà analysé la composition des communautés bactériennes, ainsi que sur les échantillons de truffes avortées collectées par les trufficulteurs. Des sondes bloquant l'amplification des séquences de la truffe seront utilisées pour supprimer la pollution des données par les séquences de truffes, qui constituent sinon 99% des lectures obtenues. Des analyses de co-occurrence seront ensuite réalisées pour déterminer si la variation des communautés bactériennes s'explique par la présence de certains champignons. Nous revisiterons également les données obtenues sur les arômes de la truffe pour tester l'implication de ces champignons dans l'élaboration des arômes et leur dégradation dans le temps. La mise en place de ce nouveau projet sur la truffe nécessitera l'obtention de fonds spécifiques. Les travaux préliminaires seront réalisés sur fonds propres issus des collaborations précédentes. Si ces travaux préliminaires sont concluants, un projet de recherche sera proposé pour obtenir un financement adéquat et le recrutement d'un étudiant en thèse (fonds envisagés : Mécénat, métaprogramme Holoflux). Ma participation actuelle au projet Européen INTACT visant à stimuler les projets de recherche collaboratifs sur la truffe devrait permettre d'étendre mon réseau de collaborateurs sur ce sujet et d'éventuellement développer de nouveaux partenariats (H2020 projet 101007623).

4. Mécanismes des interactions bactéries-champignons régissant la colonisation de bois traités

Nous avons initié des travaux sur les interactions entre bactéries et champignons colonisant les bois traités dans le cadre de l'ANR Woodwaste portée par M. Rouhier et à laquelle j'ai collaboré (2019-2023, ANR-18-CE04-0012). Les recherches menées par G. Pandharikar, post-doctorant dans le laboratoire sous ma direction, ont mis au jour des résultats particulièrement intéressants et qui alimentent les travaux menés dans les autres axes sur les dynamiques d'interactions entre micro-organismes dans un environnement sous contrainte. Ces recherches s'inscrivent dans le cadre de la mise au point de procédé de détoxification de bois traités. L'augmentation considérable de l'utilisation du bois comme biomatériau dans l'industrie de la construction a été possible au cours des dernières décennies grâce à l'utilisation de conservateurs à base de cuivre (Cu) qui protègent le bois contre l'invasion de microbes en décomposition. Cette pratique a généré des millions de tonnes de bois traité nocifs qui ne peuvent pas être recyclés et qui doivent être incinérés (ADEME, CODIFAB/FCBA). Face à ce problème, des solutions alternatives durables sont envisageables. Bien que les conservateurs soient conçus pour supprimer la croissance microbienne, un certain nombre de champignons et de bactéries sont capables de les surmonter, ce qui offre la possibilité de développer des stratégies de remédiation microbienne.

Dans ce contexte, des consortia de champignons (pourriture blanche et brune) et de 10 bactéries qui ont la capacité de décontaminer le bois traité ont été mis au point. Nous avons cherché à déterminer les mécanismes moléculaires impliqués dans les interactions permettant le développement et l'action synergique de ces communautés complexes afin d'identifier de potentiels

biocatalystes impliqués dans la détoxification et qui pourraient être utilisés de manière industrielle pour décontaminer le bois. G. Pandharikar et C. Claudien (doctorant sous la direction de M. Morel) ont montré que les deux champignons utilisés contournaient la toxicité du Tanalith E3474 selon des mécanismes très différents (Pandharikar *et al.*, 2022). Le champignon de la pourriture brune chélaterait le Cu via la production massive d'oxalate, tandis que le champignon de pourriture blanche utiliserait la biosorption pour résister à la toxicité du Cu. Les bactéries, quant à elles, stimulent la croissance des champignons mais sont incapables de survivre en leur absence. Elles semblent participer à la détoxification mais selon des processus et des dynamiques différents en fonction du champignon présent. Ces interactions mutualistes reposeraient sur la combinaison de phénomènes de cross-feeding métaboliques, de chélation et de séquestration du Cu par un large panel de molécules produites par les champignons et les bactéries et une dégradation des antifongiques azolés par les bactéries. Nous désirons poursuivre ces travaux pour valider ces hypothèses par la combinaison d'approches descriptives de type -omics et d'approches ciblées de mutagenèse. Outre l'aspect potentiellement appliqué des retombées de ces travaux, la compréhension des mécanismes de coopération au sein de communautés bactéries-champignons multipartenaires et de leurs dynamiques est un front de science. Cette question rejoint celles également abordées dans les trois autres axes de recherche et contribuera donc aux orientations prises dans ces autres projets, d'un point de vue méthodologique et théorique. Néanmoins, la poursuite de ce quatrième axe de recherche, qui repose essentiellement sur l'activité de recherche de G. Pandharikar, dépendra des financements que je serai en mesure d'obtenir pour maintenir son contrat de recherche lorsque l'ANR prendra fin au printemps 2023.

5. Intégration dans le projet de l'unité Interactions Arbres Micro-organismes.

Le projet de l'UMR IAM vise i) à comprendre le développement et le fonctionnement du continuum d'interactions qui prend place entre les arbres, les micro-organismes (champignons et bactéries) et le sol, dans les écosystèmes forestiers, et ii) à comprendre comment ces interactions contribuent à un fonctionnement durable ou au contraire à un dysfonctionnement de ces écosystèmes dans un environnement changeant. Ce projet est abordé dans l'unité à différents niveaux le long de gradients d'échelles et de disciplines scientifiques en se reposant sur l'utilisation d'espèces végétales, fongiques et bactériennes modèles ou de dispositifs expérimentaux au sein d'écosystèmes forestiers divers (sites ateliers, sites naturels, gradients écologiques).

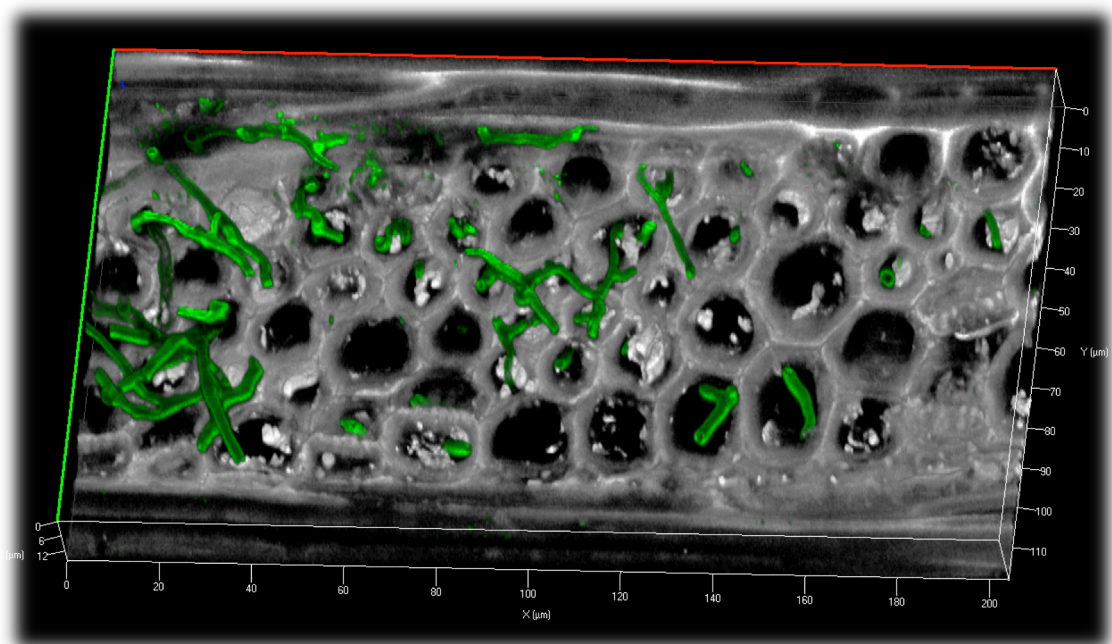
L'équipe « Ecogénomique des interactions », à laquelle je suis rattachée, s'est fixé comme objectifs pour les cinq ans à venir de i) poursuivre l'acquisition et l'analyse de nouvelles ressources génomiques afin de compléter notre connaissance de l'organisation et de l'évolution des génomes et de leur expression pour identifier des indicateurs de traits adaptatifs et/ou évolutifs des espèces (axe 1) ; ii) de déchiffrer les mécanismes moléculaires qui régissent le continuum des interactions entre le sol, les bactéries, les champignons et les arbres, en considérant différentes interfaces de l'arbre telles que l'endosphère, la rhizosphère et la phyllosphère (axe 2) et iii) d'améliorer notre compréhension des interactions fonctionnelles entre les arbres et les communautés microbiennes forestières, à l'échelle de l'écosystème (axe 3). Ainsi mes travaux de recherche sont ancrés au cœur du projet de recherche de mon équipe et contribue fortement à la réalisation des axe 2 et 3. Le projet portant sur les mécanismes d'interactions entre micro-organismes conduisant à la détoxification du bois traité est un projet plus transversal qui s'inscrit en partie dans le projet développé par l'équipe « Réponse aux stress et régulations redox » de l'UMR IAM. L'un des objectifs de cette équipe est d'élucider les

mécanismes moléculaires mis en jeu par les champignons en réponse à la toxicité de certaines molécules d'origine végétale, en particulier les extractibles de bois.

Comme évoqué précédemment, mes recherches seront réalisées en collaboration étroite avec les autres chercheurs de l'unité, tant pour la construction des projets et leurs financements (co-écriture, coordination conjointe), que dans leur mise en œuvre (co-encadrement d'étudiants, analyse de données et publications conjointes).

PARTIE 3

ENSEIGNEMENT ET ACTIONS POUR LE COLLECTIF



1. Activités d'enseignement et de diffusion des connaissances

La recherche scientifique est une activité passionnante qui pourrait se suffire à elle-même tant elle satisfait l'esprit de celui qui la mène. Néanmoins, à l'échelle de la société, elle ne présente d'intérêt que si le fruit des travaux est communiqué et enseigné au plus grand nombre. L'expansion galopante de croyances en des théories farfelues et les réactions épidermiques d'une part non négligeable de la population en réponse aux avancées scientifiques démontrent la nécessité d'éduquer à la méthode scientifique, de transmettre les connaissances et d'ouvrir les esprits aux principes et fonctionnement de la recherche. N'ayant pas de formation en pédagogie de l'enseignement et un goût peu marqué pour l'enseignement en tant que tel, je donne très peu de cours à l'université. Toutefois, j'essaie de contribuer à cet effort de la communauté scientifique à mon échelle en participant à la diffusion des connaissances auprès de différents publics : étudiants, professionnels et grand public.

1.1 Enseignement par la recherche

L'essentiel de mon activité d'enseignement se fait par la recherche : j'y consacre environ 25% de mon temps d'activité en encadrant les travaux de recherche d'étudiants en thèse, de post-doctorant et d'étudiants en master. J'accueille en moyenne 1 à 2 étudiants de niveau master chaque année et un étudiant en thèse. Au total, j'ai co-encadré 4 thèses, 7 étudiants en Master, 4 étudiants en 1^{er} cycle universitaire et 3 étudiants étrangers en séjours sabbatiques depuis 2011 (Tableau 4). En parallèle de ces activités d'encadrements, j'ai participé à 10 comités de suivis de thèses réalisées dans d'autres laboratoires depuis 2013. Je participe également régulièrement à des jurys de thèse en tant qu'examinatrice en France et en Europe (Tableau 5).

Par ailleurs, je forme régulièrement le personnel, interne et externe, à l'unité à l'utilisation du microscope confocal à balayage laser de la plateforme SilvaTech (~ 4-5 formations /an depuis 2014).

1.2 Enseignement auprès des professionnels et vulgarisation scientifique

Je contribue également régulièrement à la diffusion des connaissances issues de la recherche pour la vulgariser auprès de différents publics : trufficulteurs professionnels et amateurs, et pour le grand public de manière générale. Pour ce faire, j'utilise différents média : articles dans des revues de vulgarisation scientifique ou professionnelles (e.g. Pour la science, Trufficulteur magazine), des conférences grand public, l'animation du stand INRA au salon de l'agriculture ou la participation à des films. L'ensemble de ces contributions est détaillé dans le Tableau 6.

Table 4. Liste des encadrements réalisés. *En italique : étudiants préparant des diplômes dans des universités étrangères accueillis pour des séjours courts*

Type	Nom	Année	Sujet de recherche	Encadrement ou diplôme préparé
Chercheur post-doctorant	Gaurav Pandharikar	2021-2023	Mechanisms of interactions between the fungus <i>Phanerochaete chrysosporium</i> and bacteria during wood detoxication	100%
Thèse de doctorat	Félix Fracchia	2019-2022	Les phytohormones, des régulateurs clés du microbiome racinaire du peuplier ?	Co-encadrement avec ACT C. Veneault-Fourrey (INRAE Nancy)
	<i>Maria Jesus Sutta Martiarena</i>	<i>2020-2021</i>	<i>Fungal helper bacteria communities in attine ant fungal gardens</i>	<i>Séjour d'étude 12 mois Université de Sao Paolo, Brésil</i>
	Lauralie Mangeot Peter	2016-2020	Etude des facteurs biotiques et abiotiques influant sur la structuration et la composition du microbiome racinaire du peuplier	Co-encadrement avec ACT, F. Martin (INRAE Nancy)
	Milena Gonzalo	2016-2019	Caractérisation des bactéries du sol forestier isolées au niveau de microhabitats et de leurs interactions avec le peuplier	Co-encadrement avec ACT B. Aigle (Université de Lorraine)
	<i>Giovanni Ragaglia</i>	<i>2015</i>	<i>Studies of the role of Mycorrhization Helper Bacteria in ectomycorrhizal symbiosis between <i>Tuber borchii</i> Vittad. and species of the Mediterranean flora in different forest ecosystems of Sardinia</i>	<i>Séjour d'étude 6 mois Université de Sassari, Sardaigne</i>
	Cora Miquel Guennoc	2013-2017	Etude de l'interaction physique entre le champignon ectomycorhizien <i>Laccaria bicolor</i> S238N et la bactérie auxiliaire de la mycorhization <i>Pseudomonas fluorescens</i> BBc6R8	Co-encadrement avec ACT J. Labbé (Oak Ridge National Institute, USA) , F. Martin (INRAE)
Master 2	Clément Beitz	2022	Etude de l'adaptation du microbiote associé aux hêtres à un historique de sécheresse	Master Microbiologie (Uni. Lorraine)
	Gabrielle Laval	2021	NECROROOT	Master Microbiologie (Uni. Lorraine)
	Félix Fracchia	2018	Etude du rôle de la modulation des voies de signalisation hormonales dans les interactions arbre- microbiote par l'intermédiaire de lignées transgéniques de peupliers	Master FAGE (Uni. Lorraine)
	Sébastien Schweitzer	2016	Mise au point de l'étude transcriptomique de la bactérie <i>Pseudomonas fluorescens</i> BBc6R8 formant du biofilm sur le champignon <i>Laccaria bicolor</i> S238N	Master BIOMANE (Uni. Lorraine)
	<i>Davide Finelli</i>	<i>2016</i>	<i>Analysis of bacterial communities associated to truffles</i>	<i>Università degli Studi del Molise, Italy (ERASMUS PLUS)</i>
	Océane Niccolitch	2014	Caractérisation fonctionnelle des communautés bactériennes associées à la truffe noire du Périgord au cours de son cycle de vie	Master BIOMANE (Uni. Lorraine)

Type	Nom	Année	Sujet de recherche	Encadrement ou diplôme préparé
Master 1	Maud Bednareck	2022	Caractérisations des communautés microbiennes du sol et de la rhizosphère de hêtres et de chênes dans un contexte de sécheresse	Master Microbiologie (Uni. Lorraine)
	Isabelle Cahinac	2018	Recherche d'activités antimicrobiennes et herbicides chez des bactéries du microbiome de la truffe	Master Microbiologie (Uni. Clermont Ferrand)
Licence 3	Charlotte Doer	2022	Mécanismes de détoxification par des micro-organismes de bois traités	Sciences de la Vie (Uni. Lorraine)
	Lea Jacquot	2018	Dynamique de colonisation des racines de peupliers par les communautés de micro-organismes	Sciences de la Vie (Uni. Lorraine)
Licence Pro	Sébastien Torres	2016	Suivi in-situ de l'évolution des populations microbiennes lors de la dégradation du bois par des approches de microscopie. Développement des méthodes FISH et corrélative	Santé Biologie Analytique et Expérimentale (Uni. Lorraine)
BTS 1 ^{ère} année	Cornelia Noëllet	2015	Caractérisation de souches bactériennes associés à la truffe noire du Périgord (<i>Tuber melanosporum</i>)	BTS Biotechnologie (Nancy)
Chercheur post-doctorant	Gaurav Pandharikar	2021-2023	Mechanisms of interactions between the fungus <i>Phanerochaete chrysosporium</i> and bacteria during wood detoxication	100%

Tableau 5. Liste des jurys de thèse et comités de thèse auxquels j'ai participé.

Type	Impétrant	Sujet de recherche	Rattachement	Année
Comité de thèse	Vincent Lailheugue	Influence de la combinaison Greffon x Porte-greffe de vigne sur les microbiotes rhizosphériques et racinaires : mécanismes moléculaires impliqués et impact sur la croissance	Université de Bordeaux	2022
Comité de thèse	Vincent Arricastres	Quelles sont les influences des composés chimiques émis par des espèces d'arbres de forêt tempérée et du pédoclimat sur les flux de méthane du sol	Université de Lorraine	2022-...
Comité de thèse	Sarah Troilo	Approche multi-échelle d'un procédé de recyclage du MDF par voie biologique	Université de Lorraine	2020-...
Comité de thèse	Lilian Gréau	Etude des microorganismes endophytes (bactéries et champignons impliqués dans la biodégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques et la stimulation des plantes	Université de Lorraine	2019-2023
Comité de thèse	Barbara Fifani	Exploitation of the bacterial/fungal molecular dialogue for designing new processes for production of secondary metabolites	Université Lille Nord	2018-2021
Comité de thèse	Veronica Basso	Controlling hormonal balance in mutualistic interaction between trees and fungi	Université de Lorraine	2017-2020
Comité de thèse	Antoine Gobert	Interactions between non <i>Saccharomyces</i> yeasts and <i>Saccharomyces cerevisiae</i> to control mixed starters in wine	Université de Bourgogne	2017
Comité de thèse	Samir Rezszi	Structuration, dynamique et réponse des communautés microbiennes associées aux graines lors de la transmission d'agents phytopathogènes	Université d'Angers	2015-2016
Comité de thèse	Alexandre Fruleux	Développement racinaire du hêtre (<i>Fagus sylvatica</i>) en interaction avec d'autres espèces forestières et en fonction de la disponibilité en eau : conséquences sur la croissance et le fonctionnement hydrique et carboné	Université de Lorraine	2015
Comité de thèse	Youzhong Liu	Etude des interactions levures/bactérie par métabolomique	Université de Bourgogne	2013-2014
Jury de thèse	Théophile Franzino	Comment la nature des métabolites primaires exsudés par les plantes régule la dénitrification dans la rhizosphère	Université Lyon 1	2022
Jury de thèse	Guillaume Chesneau	Décryptage des processus d'assemblage du microbiote des graines dans le but de limiter la transmission d'agents pathogènes	Université d'Angers	2021
Jury de thèse	Barbara Fifani	Exploitation of the bacterial/fungal molecular dialogue for designing new processes for production of secondary metabolites	Université Lille Nord/Université Gembloux (Belgique)	2021
Jury de thèse	Tanvia Taparua	A multifaceted analysis of bacterial blotch diseases of mushrooms	Wageningen University	2021
Jury de thèse	Ruth Schmidt	Volatile-mediated communication between fungi and bacteria	Wageningen University	2017
Jury de thèse	Marie Larousse	Étude de l'interaction entre <i>Phytophthora parasitica</i> et le microbiote rhizosphérique à la surface de la plante hôte <i>Solanum lycopersicum</i>	Université de Nice Sophia Antipolis	2016

Tableau 6. Liste des actions de vulgarisation réalisées depuis 2011

Nature de la contribution	Public visé	Titre	Date	Media
Article de vulgarisation	Grand public	Des bactéries à la rescousse des champignons symbiotiques	2008	Biofutur (n°284)
Article de vulgarisation	Grand public	Microbiote : les plantes aussi !	2016	Pour la Science (n°469)
Article de vulgarisation	Trufficulteurs	A la recherche de la structure d'attache entre le truffe d'été et son hôte	2020	Le trufficulteur Français
Article de vulgarisation	Trufficulteurs	Le trufficulteur : un trait d'union indispensable entre trufficulteurs et scientifiques	2020	Le trufficulteur Français
Formation	Trufficulteurs	Journées techniques des trufficulteurs de la région Est	2014	Oral
Conférence	Trufficulteurs	Les bactéries : amies ou ennemies des truffes ?	2013	Restitution Grand Public de l'ANR Systruf
Conférence	Professionnels	Apports de la métagénomique pour l'étude des écosystèmes forestiers de la gestion des activités sylvicoles	2016	Colloque Meta Seed
Conférence	Trufficulteurs	Les bactéries : amies ou ennemies des truffes ?	2017	Assemblée Générale de l'association interprofessionnelle des trufficulteurs de la région Grand Ouest
Conférence	Public averti	Le microbiote des plantes	2020	Colloque de la Société Nationale d'Horticulture
Animations	Grand Public	Salon de l'Agriculture	2017, 2019	Stand INRA
Animations	Grand Public	Voyage en images au pays des micro-organismes symbiotiques des sols forestiers	2016	Portes ouvertes 70 ans INRA
Film	Grand public	« Le génie des arbres » réalisé par Emmanuelle Nobécourt	2020	Télévision, DVD, festivals
Film	Grand public		2022	Télévision, DVD, festivals
Film	Grand public	Interview France 3 Lorraine	2022	Télévision

1.3 Enseignement Universitaire

Pour finir, mes activités d'enseignement dans les cursus universitaires sont extrêmement réduites. Bien qu'ayant obtenu les qualifications pour concourir aux postes de maître de conférence des sections 66, 67 et 68 après mon doctorat, je n'ai pas cherché à obtenir de poste de maître de conférence après mon post-doctorat, mon intérêt pour la recherche fondamentale étant bien supérieur à celui pour l'enseignement dans le cadre universitaire. Après mon recrutement en tant que chargée de recherche à l'INRA en 2011, je me suis concentrée sur le développement de mon projet de recherche et j'ai réalisé des enseignements à l'université de manière homéopathique. Ainsi, mes activités d'enseignement universitaire se résument à quelques heures par an via la participation à des modules de masters (Tableau 7) et la participation à des jurys de stage chaque année pour un total d'une centaine d'heures d'enseignement depuis 2011. Ces cours sont réalisés pour l'essentiel à l'université de Lorraine. J'ai également participé à deux écoles chercheurs en 2010 et 2011 (Molecular Mycology : Current Approaches to Fungal Pathogenesis Course, MBL, Woods Hole, USA)

Tableau 7. Liste des enseignements réalisés depuis 2013.

Type	UE	Lieu / contexte	Années	Nombres d'heures
Master 2 Biologie Moléculaire et Cellulaire, spécialité Microbiologie	Parasitologie et mycologie fondamentale	Hopital de la Pitié Salpêtrière, Paris	2013, 2014	2h
Master 2 BIOMANE	8.04, Interactions complexes	Université de Lorraine	2013, 2014, 2017, 2018	2h
Master 2 Microbiologie	9.18 Interactions complexes	Université de Lorraine	2019, 2020, 2021	6h
Licence 3	Physiologie Végétale	Université de Lorraine	2006, 2008	36h
Master 1 Phage	Méthode d'analyse des écosystèmes	Université de Lorraine	2006	4h
Master BIOMANE	Jury d'évaluation stages M1	Université de Lorraine	2013	8h
Master PHAGE	Jury d'évaluation stages M1	Université de Lorraine	2016	4h
TOTAL				118 heures

2. Responsabilités administratives et scientifiques pour le collectif

La recherche n'est jamais menée seule mais au sein d'un collectif local et national qui ne fonctionne que si chacun s'y investit. Outre de menues participations au fonctionnement du laboratoire au quotidien (gestion des fuites d'eau, pannes de climatisation...), je contribue régulièrement à diverses activités administratives et scientifiques aux échelles locale (unité, Centre Nancy Grand Est), nationale et internationale.

2.1 Responsabilités administratives

Je suis membre élue du conseil de service de l'UMR IAM 1136 depuis 2014 et du conseil de Centre depuis 2020. De plus, je suis référente APA pour le département ECODIV. Enfin, je participe régulièrement à des jurys de recrutement de personnel technique et de maîtres de conférence en tant que membre externe ou interne (Tableau 8).

Tableau 8. Liste des jurys de recrutement auxquels j'ai participé.

Type	Rôle	Poste	Date
Assistant Ingénieur BAPA	Membre externe	Assistant en techniques biologiques CNRS/Université de Lorraine	Septembre 2013
Maitre de conférence	Membre interne	MCF-0291 Université de Lorraine	Mai 2014
Maitre de conférence	Membre externe	MCF-4136 Muséum d'Histoire Naturelle	Mai 2017
Maitre de conférence	Membre interne	MCF-1326 Université de Lorraine	Mai 2018
Thèse	Membre interne	Thèse UMR IAM – UR BEF	Juin 2018
Maitre de conférence	Membre externe	MCF-4354 Université d'Angers	Mai 2020
Maitre de conférence	Membre externe	MCF-0526 Université d'Angers	Mai 2021

2.2 Responsabilités scientifiques

A l'échelle locale, j'ai organisé les séminaires hebdomadaires de l'unité entre 2011 et 2022 à raison d'environ 25 séminaires par an. Ces séminaires sont composés pour les trois quarts de présentations faites par le personnel du laboratoire (étudiants en Master, doctorants, post-doctorants et dans une moindre mesure chercheurs) et pour le quart restant par des chercheurs invités venant d'autres laboratoires français ou internationaux. J'ai aidé également à trois reprises à l'organisation de la journée annuelle des Doctorants et des Post-Doctorants du LABEX ARBRE durant laquelle une cinquantaine d'étudiants membres de ce collectif scientifique construisent leurs réseaux scientifiques, visitent des infrastructures de recherche et présentent leurs travaux de recherche. A une échelle plus internationale, j'ai participé à l'organisation de colloques internationaux en tant que co-organisatrice de conférences (Conférence J. Monod, Workshop satellites) ou de sessions au sein de conférences (Tableau 9).

Tableau 9. Liste des conférences pour lesquelles j'ai contribué à l'organisation et fonctions prises en charge.

Type	Nom de la conférence	Activité	Lieu - Date
Conférence	Ecology of Soil Microorganisms	Chairwoman	Helsinki – Juin 2018
Conférence	ICOM 9	Co-organisation de la session « Mycorrhizal microbiomes »	Prague – Juin 2017
Workshop Satellite	Fungal Genetics	Co-organisation de la session « Bacterial-Fungal Interactions »	Asilomar – Mars 2017
Workshop Satellite	European Conference on Fungal Genetics	Organisation de la session « Bacterial-Fungal Interactions »	Paris – Mars 2016
Conférence	Conférence Jacques Monod « Bacterial-Fungal Interactions : hyphens between agricultural, clinical, environmental and food microbiologists »	Rédaction du projet, l'établissement du programme scientifique et sélection des communications orales	Roscoff – Décembre 2013
Conférence	ICOM 7	Chairwoman session « Interaction Bactéries-Champignons »	New Dehli – Janvier 2013

Je participe également au bon fonctionnement de la recherche en étant lectrice arbitre pour des revues scientifiques de catégorie A : *New Phytologist*, *Current Biology*, *Microbial Ecology*, *FEMS Microbial Ecology*, *Environmental Microbiology*, *Mycorrhiza*, *Molecular Microbiology*, *Cahier Technique de l'INRA...* pour lesquels j'analyse une petite dizaine d'articles soumis par an. Je suis également éditrice à la revue *mSystems* depuis 2016.

Enfin j'évalue de temps à autre des projets de recherche pour des organismes internationaux (Tableau 10).

Tableau 10. Liste des évaluations de projets réalisées

Type	Origine	Organisme	Date
Science and Technology Research			
Collaboration Project	France/Afrique du Sud - NRF	NRF	2014
Bourse post-doctorale	Canada	Banting Trust	2018
Projet de recherche	Grande Bretagne	Leverhulme Trust	2020
Projet de recherche	Suisse	Swiss Forest Lab	2020
Bourse de thèse	France	Ecole Doctorale ABIES	2021

2.3 Gestion de la microscopie confocale pour l'UMR et la plateforme Silva-tech

Depuis 2014, je m'occupe de l'équipement de microscopie confocale qui est aujourd'hui intégré au Pôle Imagerie/Microscopie de la plateforme Silvatech (<https://www6.nancy.inrae.fr/silva/Plateformes/SilvaTech>). J'assure le suivi des maintenances et du bon fonctionnement de la machine, la recherche de financement pour l'installation de nouveaux modules pour améliorer la performance et élargir la gamme d'utilisation (ex. nouveaux objectifs, système Airyscan). Je réalise également une partie des formations pour les utilisateurs (formations

avancées), du conseil scientifique vis à vis de projets impliquant de l'imagerie et je réalise les prises d'images pour certains étudiants ou chercheurs n'ayant pas le temps ou la possibilité de se former à l'usage de la machine. Enfin, je participe ponctuellement à des démonstrations dans le cadre de journées portes ouvertes, écoles-chercheurs... Cet investissement pour le collectif est un choix personnel. Suite au départ d'une maitre de conférence spécialisée en microscopie de notre groupe, j'ai repris la gestion du confocal pour les besoins de l'UMR et j'ai découvert les potentiels que pouvait apporter ce type d'équipement pour mes propres travaux (Guennoc *et al.*, 2017, 2018; Deveau *et al.*, 2019; Schneider-Maunoury *et al.*, 2020; Besserer *et al.*, 2023; Fracchia *et al.*, 2023) et ceux de mes collègues (ex. Feng *et al.* 2019, Perez de Lis *et al.* in prep), mais aussi le plaisir de réaliser des images d'une grande beauté (le beau étant subjectif !). Plusieurs des clichés réalisés avec mon aide ont servi d'illustrations pour des couvertures de journaux scientifiques (ex. *New Phytologist* 2022 vol 234 n°5), pour des livres d'enseignement ou ont été utilisés dans des tournages de documentaires pour la télévision (2021, 2022). Ces différents aspects sont particulièrement satisfaisants et stimulants, même si l'activité est parfois très éloignée de mon domaine de recherche et s'apparente parfois plus au métier d'une ingénieure de recherche de plateforme technique.

BIBLIOGRAPHIE

- Antony-Babu, S., Deveau, A., Van Nostrand, J.D., Zhou, J., Le Tacon, F., Robin, C., et al. (2014) Black truffle-associated bacterial communities during the development and maturation of *Tuber melanosporum* ascocarps and putative functional roles. *Environ. Microbiol.* **16**:
- Bailey, J., Deckert, R., Schweitzer, J., Rehill, B., Lindroth, R., Gehring, C., and Whitham, T.G. (2015) Host plant genetics affect hidden ecological players: links among *Populus*, condensed tannins, and fungal endophyte infection. *Can. J. Bot.* **88**: 356–361.
- Barbieri, E., Ceccaroli, P., Saltarelli, R., Guidi, C., Potenza, L., Basaglia, M., et al. (2010) New evidence for nitrogen fixation within the Italian white truffle *Tuber magnatum*. *Fungal Biol.* **114**: 936–942.
- Besserer, A., Rose, C., and Deveau, A. (2023) Visualisation of fungi during wood colonisation and degradation by microscopy: from light to electron microscopy. In, Martin, F. and Uroz (eds), *Microbial Environmental Genomics (MEG)*. Springer Nature, pp. 337–361.
- Brabcová, V., Nováková, M., Davidová, A., and Baldrian, P. (2016) Dead fungal mycelium in forest soil represents a decomposition hotspot and a habitat for a specific microbial community. *New Phytol.* **210**: 1369–1381.
- Brulé, C., Frey-Klett, P., Pierrat, J.C., Courrier, S., Gérard, F., Lemoine, M.C., et al. (2001) Survival in the soil of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* and the effects of a mycorrhiza helper *Pseudomonas fluorescens*. *Soil Biol. Biochem.* **33**: 1683–1694.
- Butaitė, E., Baumgartner, M., Wyder, S., and Kümmerli, R. (2017) Siderophore cheating and cheating resistance shape competition for iron in soil and freshwater *Pseudomonas* communities. *Nat. Commun.* **8**: 414.
- Chen, J., Li, J.-M., Tang, Y.-J., Xing, Y.-M., Qiao, P., Li, Y., et al. (2019) Chinese Black Truffle-Associated Bacterial Communities of *Tuber indicum* From Different Geographical Regions With Nitrogen Fixing Bioactivity. *Front. Microbiol.* **10**:
- Courty, P.-E., Buée, M., Diedhiou, A.G., Frey-Klett, P., Le Tacon, F., Rineau, F., et al. (2010) The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes: New perspectives and emerging concepts. *Soil Biol. Biochem.* **42**: 679–698.
- Courty, P.-E., Franc, A., and Garbaye, J. (2010) Temporal and functional pattern of secreted enzyme activities in an ectomycorrhizal community. *Soil Biol. Biochem.* **42**: 2022–2025.
- Cregger, M.A., Carper, D.L., Christel, S., Doktycz, M.J., Labbé, J., Michener, J.K., et al. (2021) Plant–Microbe Interactions: From Genes to Ecosystems Using *Populus* as a Model System. *Phytobiomes J.* **5**: 29–38.
- Cregger, M.A., Veach, A.M., Yang, Z.K., Crouch, M.J., Vilgalys, R., Tuskan, G.A., and Schadt, C.W. (2018) The *Populus* holobiont: dissecting the effects of plant niches and genotype on the microbiome. *Microbiome* **6**: 1–14.
- Cusano, A.M., Burlinson, P., Deveau, A., Vion, P., Uroz, S., Preston, G.M., and Frey-Klett, P. (2011) *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 type III secretion mutants no longer promote ectomycorrhizal symbiosis. *Environ. Microbiol. Rep.* **3**:
- Daghino, S., Martino, E., Voyron, S., and Perotto, S. (2022) Metabarcoding of fungal assemblages in *Vaccinium myrtillus* endosphere suggests colonization of above-ground organs by some ericoid mycorrhizal and DSE fungi. *Sci. Rep.* **12**: 11013.
- Deveau, A., Antony-Babu, S., Le Tacon, F., Robin, C., Frey-Klett, P., and Uroz, S. (2016) Temporal changes of bacterial communities in the *Tuber melanosporum* ectomycorrhizosphere during ascocarp development. *Mycorrhiza* **26**:
- Deveau, A., Barret, M., Diedhiou, A.G., Leveau, J., de Boer, W., Martin, F., et al. (2014) Pairwise

- Transcriptomic Analysis of the Interactions Between the Ectomycorrhizal Fungus *Laccaria bicolor* S238N and Three Beneficial, Neutral and Antagonistic Soil Bacteria. *Microb. Ecol.* **69**..
- Deveau, A., Bonito, G., Uehling, J., Paoletti, M., Becker, M., Bindschedler, S., et al. (2018) Bacterial-fungal interactions: Ecology, mechanisms and challenges. *FEMS Microbiol. Rev.* **42**..
- Deveau, A., Brulé, C., Palin, B., Champmartin, D., Rubini, P., Garbaye, J., et al. (2010) Role of fungal trehalose and bacterial thiamine in the improved survival and growth of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N and the helper bacterium *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8. *Environ. Microbiol. Rep.* **2**..
- Deveau, A., Clowez, P., Petit, F., Maurice, J.-P., Todesco, F., Murat, C., et al. (2019) New insights into black truffle biology : discovery of the potential connecting structure between a *Tuber aestivum* ascocarp and its host root. *Mycorrhiza*.
- Deveau, A., Gross, H., Morin, E., Karpinets, T., Utturkar, S., Mehnaz, S., et al. (2014) Genome sequence of the mycorrhizal helper bacterium *pseudomonas fluorescens* BBc6R8. *Genome Announc.* **2**..
- Deveau, A., Gross, H., Palin, B., Mehnaz, S., Schnepf, M., Leblond, P., et al. (2016) Role of secondary metabolites in the interaction between *Pseudomonas fluorescens* and soil microorganisms under iron-limited conditions. *FEMS Microbiol. Ecol.* **92**: fiw107.
- Deveau, A. and Hogan, D.A. (2011) Linking quorum sensing regulation and biofilm formation by *Candida albicans*. *Methods Mol. Biol.* **692**..
- Deveau, A., Kohler, A., Frey-Klett, P., and Martin, F. (2008) The major pathways of carbohydrate metabolism in the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* S238N. *New Phytol.* **180**..
- Deveau, A. and Labbé, J. (2016) Mycorrhiza helper bacteria.
- Deveau, A., Palin, B., Delaruelle, C., Peter, M., Kohler, A., Pierrat, J.C., et al. (2007) The mycorrhiza helper *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 has a specific priming effect on the growth, morphology and gene expression of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N. *New Phytol.* **175**..
- Dora, S., Terrett, O.M., and Sánchez-Rodríguez, C. (2022) Plant–microbe interactions in the apoplast: Communication at the plant cell wall. *Plant Cell* **34**: 1532–1550.
- Eslick, H. (2016) Factors affecting truffle production and quality in Western Australia.
- Faivre-Rampant, P., Zaina, G., Jorge, V., Giacomello, S., Segura, V., Scalabrin, S., et al. (2016) New resources for genetic studies in *Populus nigra*: genome-wide SNP discovery and development of a 12k Infinium array. *Mol. Ecol. Resour.* **16**: 1023–1036.
- Fieocchi, A., Kienle, M.G., Scala, A., and Cabella, P. (1967) Bis-methylthiomethane, an odorous substance from white truffle, *tuber magnatum* pico. *Tetrahedron Lett.* **8**: 1681–1682.
- Fierer, N., Bradford, M.A., and Jackson, R.B. (2007) TOWARD AN ECOLOGICAL CLASSIFICATION OF SOIL BACTERIA. *Ecology* **88**: 1354–1364.
- Foulon, J., Zappellini, C., Durand, A., Valot, B., Girardclos, O., Blaudez, D., and Chalot, M. (2016) Environmental metabarcoding reveals contrasting microbial communities at two poplar phytomanagement sites. *Sci. Total Environ.* **571**: 1230–1240.
- Fracchia, F. (2022) Les phytohormones, des régulateurs clés du microbiote du peuplier ?
- Fracchia, F., Basso, V., Guinet, F., Veneault-Fourrey, C., and Deveau, A. (2023) Confocal Laser Scanning Microscopy Approach to Investigate Plant-Fungal Interactions. In, Martin, F. and Uroz, S. (eds), *Microbial Environmental Genomics (MEG)*. Springer Nature, pp. 325–335.
- Fracchia, F., Mangeot-Peter, L., Jacquot, L., Martin, F.M., Veneault-Fourrey, C., and Deveau, A. (2021) Colonization of Naive Roots from *Populus tremula* × *alba* Involves Successive Waves of Fungi

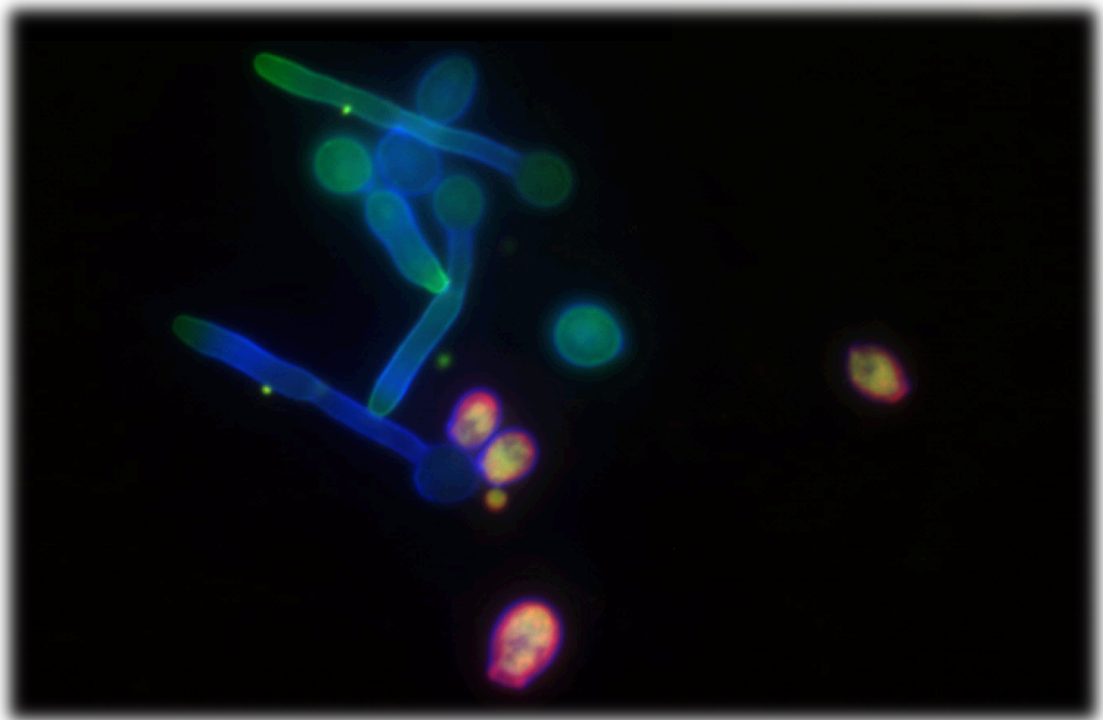
- and Bacteria with Different Trophic Abilities. *Appl. Environ. Microbiol.* **87**: e02541-20.
- Frey-Klett, P., Burlinson, P., Deveau, A., Barret, M., Tarkka, M., and Sarniguet, A. (2011) Bacterial-fungal interactions: Hyphens between agricultural, clinical, environmental, and food microbiologists. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **75**:
- Frey-Klett, P., Chavatte, M., Clause, M., Courrier, S., Roux, C. Le, Raaijmakers, J., et al. (2005) Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads. *New Phytol.* **165**: 317–328.
- Frey-Klett, P., Garbaye, J., and Tarkka, M. (2007) The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytol.* **176**: 22–36.
- Frey-klett, P., Pierrat, J.C., and Garbaye, J. (1997) Location and Survival of Mycorrhiza Helper Pseudomonas fluorescens during Establishment of Ectomycorrhizal Symbiosis between Laccaria bicolor and Douglas Fir. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 139–144.
- Frey, P., Frey-klett, P., Garbaye, J., and Berge, O. (1997) Metabolic and Genotypic Fingerprinting of Fluorescent Pseudomonads Associated with the Douglas Fir- Laccaria bicolor Mycorrhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 1852–1860.
- Galet, J., Deveau, A., Hôtel, L., Frey-Klett, P., Leblond, P., and Aigle, B. (2015) Pseudomonas fluorescens pirates both ferrioxamine and ferricoelichelin Siderophores from Streptomyces ambofaciens. *Appl. Environ. Microbiol.* **81**:
- Garbaye (1994) Helper bacteria : a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* **128**: 197–210.
- Garbaye, J. (1990) The Bacteria Associated with Laccaria Laccata Ectomycorrhizas or Sporocarps : Effect on Symbiosis Establishment on Douglas Fir. *Symbiosis* **9**: 267–273.
- Gehring, C.A., Sthultz, C.M., Flores-Rentería, L., Whipple, A. V., and Whitham, T.G. (2017) Tree genetics defines fungal partner communities that may confer drought tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **114**: 11169–11174.
- Giorgio, M., Niccolò, B.G.M., Benedetta, T., Luisa, M., Leonardo, B.F., Gregory, B., et al. (2022) Fungal and Bacterial Diversity in the Tuber magnatum Ecosystem and Microbiome. *Microb. Ecol.*
- Gonzalo, M., Deveau, A., and Aigle, B. (2020) Inhibitions Dominate but Stimulations and Growth Rescues Are Not Rare Among Bacterial Isolates from Grains of Forest Soil. *Microb. Ecol.* **80**: 872–884.
- Griffin, D.H. (1981) Fungal Physiology.
- Gryndler, M., Soukupová, L., Hřelová, H., Gryndlerová, H., Borovička, J., Streiblová, E., and Jansa, J. (2013) A quest for indigenous truffle helper prokaryotes. *Environ. Microbiol. Rep.* **5**: 346–352.
- Guennoc, C.M., Rose, C., Guinnet, F., Miquel, I., Labbé, J., and Deveau, A. (2017) A new method for qualitative multi-scale analysis of bacterial biofilms on filamentous fungal colonies using confocal and electron microscopy. *J. Vis. Exp.* **2017**:
- Guennoc, C.M., Rose, C., Labbé, J., and Deveau, A. (2018) Bacterial biofilm formation on the hyphae of ectomycorrhizal fungi: A widespread ability under controls? *FEMS Microbiol. Ecol.* **94**:
- Hartmann, A., Rothballer, M., and Schmid, M. (2008) Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant Soil* **312**: 7–14.
- Haselwandter, K., Häninger, G., Ganzera, M., Haas, H., Nicholson, G., and Winkelmann, G. (2013) Linear fusigen as the major hydroxamate siderophore of the ectomycorrhizal Basidiomycota Laccaria laccata and Laccaria bicolor. *BioMetals* **26**: 969–979.
- Hiltner, L. (1904) Ueber neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiete der Bodenbakteriologie und unter besonderer Berücksichtigung der Grundung und Brache. *Arb. Deut. Landw. Gesell*

- 98**: 59–78.
- He, Z., Gentry, T.J., Schadt, C.W., Wu, L., Liebich, J., Chong, S.C., et al. (2007) GeoChip: a comprehensive microarray for investigating biogeochemical, ecological and environmental processes. *ISME J.* **1**: 67–77.
- Kramer, J., Özkaya, Ö., and Kümmerli, R. (2020) Bacterial siderophores in community and host interactions. *Nat. Rev. Microbiol.* **18**: 152–163.
- Lefebvre, M. (2019) Variabilité génétique et plasticité phénotypique pour des caractères adaptatifs à l'échelle du semis chez le Peuplier noir (*Populus nigra* L.). Évaluation à partir d'expérimentations in situ et de transplantation réciproque.
- Liao, H.-L., Bonito, G., Rojas, J.A., Hameed, K., Wu, S., Schadt, C.W., et al. (2019) Fungal Endophytes of *Populus trichocarpa* Alter Host Phenotype, Gene Expression, and Rhizobiome Composition. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **32**: 853–864.
- Love, J., Björklund, S., Vahala, J., Hertzberg, M., Kangasjärvi, J., and Sundberg, B. (2009) Ethylene is an endogenous stimulator of cell division in the cambial meristem of *Populus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **106**: 5984–5989.
- Lundberg, D.S., Yourstone, S., Mieczkowski, P., Jones, C.D., and Dangl, J.L. (2013) Practical innovations for high-throughput amplicon sequencing. *Nat. Methods* **10**: 999–1002.
- Maillard, F., Kennedy, P.G., Adamczyk, B., Heinonsalo, J., and Buée, M. (2021) Root presence modifies the long-term decomposition dynamics of fungal necromass and the associated microbial communities in a boreal forest. *Mol. Ecol.* **30**: 1921–1935.
- Mangeot-Peter, L. (2020) Etude des facteurs biotiques et abiotiques influant sur la structuration et la composition du microbiote racinaire du peuplier.
- Mangeot-Peter, L., Tschaplinski, T.J., Engle, N.L., Veneault-Fourrey, C., Martin, F., and Deveau, A. (2020) Impacts of Soil Microbiome Variations on Root Colonization by Fungi and Bacteria and on the Metabolome of *Populus tremula* × *alba*. *Phytobiome* **4**: 142–155.
- Martin, F., Aerts, A., Ahrén, D., Brun, A., Danchin, E.G.J., Duchaussoy, F., et al. (2008) The genome of *Laccaria bicolor* provides insights into mycorrhizal symbiosis. *Nature* **452**:
- Martin, F., Kohler, A., Murat, C., Balestrini, R., Coutinho, P.M., Jaillon, O., et al. (2010) Périgord black truffle genome uncovers evolutionary origins and mechanisms of symbiosis. *Nature* **464**: 1033–1038.
- Marupakula, S., Mahmood, S., and Finlay, R.D. (2016) Analysis of single root tip microbiomes suggests that distinctive bacterial communities are selected by *Pinus sylvestris* roots colonized by different ectomycorrhizal fungi. *Environ. Microbiol.* **18**:
- Maryam, V., Aurélie, D., and Richard, S. (2015) The Role of the Microbiome of Truffles in Aroma Formation: a Meta-Analysis Approach. *Appl. Environ. Microbiol.* **81**: 6946–6952.
- Mayer, T., Mari, A., Almario, J., Murillo-Roos, M., Syed M. Abdullah, H., Dombrowski, N., et al. (2021) Obtaining deeper insights into microbiome diversity using a simple method to block host and nontargets in amplicon sequencing. *Mol. Ecol. Resour.* **21**: 1952–1965.
- Mazurier, S., Lemunier, M., Siblot, S., Mougél, C., and 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.
- McCann, H.C. and Guttman, D.S. (2008) Evolution of the type III secretion system and its effectors in plant–microbe interactions. *New Phytol.* **177**: 33–47.
- Navarro-Ródenas, A., Berná, L.M., Lozano-Carrillo, C., Andrino, A., and Morte, A. (2016) Beneficial native bacteria improve survival and mycorrhization of desert truffle mycorrhizal plants in

- nursery conditions. *Mycorrhiza* **26**: 769–779.
- Nazir, R., Tazetdinova, D.I., and van Elsas, J.D. (2014) Burkholderia terrae BS001 migrates proficiently with diverse fungal hosts through soil and provides protection from antifungal agents. *Front. Microbiol.* **5**:
- Niimi, J., Deveau, A., and Splivallo, R. (2021a) Aroma and bacterial communities dramatically change with storage of fresh white truffle *Tuber magnatum*. *LWT* **151**: 112125.
- Niimi, J., Deveau, A., and Splivallo, R. (2021b) Geographical-based variations in white truffle *Tuber magnatum* aroma is explained by quantitative differences in key volatile compounds. *New Phytol.* **230**: 1623–1638.
- Pacioni, G., Leonardi, M., Aimola, P., Ragnelli, A.M., Rubini, A., and Paolocci, F. (2007) Isolation and characterization of some mycelia inhabiting *Tuber ascomata*. *Mycol. Res.* **111**: 1450–1460.
- Pandharikar, G., Claudien, K., Rose, C., Billet, D., Pollier, B., Deveau, A., et al. (2022) Comparative Copper Resistance Strategies of *Rhodonia placenta* and *Phanerochaete chrysosporium* in a copper/azole treated wood microcosm. *J. Fungi* **8**: 2–16.
- Perlińska-Lenart, U., Piśtyk, S., Gryz, E., Turło, J., Hilszczańska, D., and Kruszewska, J.S. (2020) Identification of bacteria and fungi inhabiting fruiting bodies of Burgundy truffle (*Tuber aestivum* Vittad.). *Arch. Microbiol.* **202**: 2727–2738.
- Piñuela, Y., G. Alday, J., Oliach, D., Bolaño, F., Colinas, C., and Bonet, J.A. (2020) Use of Inoculator Bacteria to Promote *Tuber melanosporum* Root Colonization and Growth on *Quercus faginea* Saplings. *Forests* **11**:
- Plett, J.M., Daguerre, Y., Wittulsky, S., Vayssières, A., Deveau, A., Melton, S.J., et al. (2014) Effector MiSSP7 of the mutualistic fungus *Laccaria bicolor* stabilizes the *Populus* JAZ6 protein and represses jasmonic acid (JA) responsive genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111**:
- Plett, Jonathan M, Khachane, A., Ouassou, M., Sundberg, B., Kohler, A., and Martin, F. (2014) Ethylene and jasmonic acid act as negative modulators during mutualistic symbiosis between *Laccaria bicolor* and *Populus* roots. *New Phytol.* **202**: 270–286.
- Preston, G.M. (2007) Metropolitan Microbes : Type III Secretion in Multihost Symbionts. *Cell Host Microbe* **2**: 291–294.
- Schneider-Maunoury, L., Deveau, A., Moreno, M., Todesco, F., Belmondo, S., Murat, C., et al. (2020) Two ectomycorrhizal truffles, *Tuber melanosporum* and *T. aestivum*, endophytically colonise roots of non-ectomycorrhizal plants in natural environments. *New Phytol.* **225**: 2542–2556.
- Selosse, M.-A., Schneider-Maunoury, L., and Martos, F. (2018) Time to re-think fungal ecology? Fungal ecological niches are often prejudged. *New Phytol.* **217**: 968–972.
- Simon, A., Bindschedler, S., Job, D., Wick, L.Y., Filippidou, S., Kooli, W.M., et al. (2015) Exploiting the fungal highway: Development of a novel tool for the in situ isolation of bacteria migrating along fungal mycelium. *FEMS Microbiol. Ecol.* **91**: 1–13.
- Splivallo, R., Deveau, A., Valdez, N., Kirchhoff, N., Frey-Klett, P., and Karlovsky, P. (2015) Bacteria associated with truffle-fruiting bodies contribute to truffle aroma. *Environ. Microbiol.* **17**:
- Splivallo, R., Vahdatzadeh, M., Maciá-Vicente, J.G., Molinier, V., Peter, M., Egli, S., et al. (2019) Orchard Conditions and Fruiting Body Characteristics Drive the Microbiome of the Black Truffle *Tuber aestivum*. *Front. Microbiol.* **10**:
- Szuba, A. (2015) Ectomycorrhiza of *Populus*. *For. Ecol. Manage.* **347**: 156–169.
- Le Tacon, F. (1978) La mycorhization contrôlée et ses possibilités d'application . Les progrès réalisés aux EtatsUnis . *Rev. For. Française* 353–362.
- Le Tacon, F., Zeller, B., Plain, C., Hossann, C., Bréchet, C., and Robin, C. (2013) Carbon transfer from

- the host to *Tuber melanosporum* mycorrhizas and ascocarps followed using a ^{13}C pulse-labeling technique. *PLoS One* **8**: e64626.
- Talou, T., Delmas, M., and Gaset, A. (1989) Analysis of headspace volatiles from entire black truffle (*Tuber melanosporum*). *J. Sci. Food Agric.* **48**: 57–62.
- Taschen, E., Rousset, F., Sauve, M., Benoit, L., Dubois, M.-P., Richard, F., and Selosse, M.-A. (2016) How the truffle got its mate: insights from genetic structure in spontaneous and planted Mediterranean populations of *Tuber melanosporum*. *Mol. Ecol.* **25**: 5611–5627.
- Uehling, J., Deveau, A., and Paoletti, M. (2017) Do fungi have an innate immune response? An NLR-based comparison to plant and animal immune systems. *PLoS Pathog.* **13**:
- Vahdatzadeh, M., Deveau, A., and Splivallo, R. (2015) The role of the microbiome of truffles in aroma formation: A meta-analysis approach. *Appl. Environ. Microbiol.* **81**:
- Veach, A.M., Morris, R., Yip, D.Z., Yang, Z.K., Engle, N.L., Cregger, M.A., et al. (2019) Rhizosphere microbiomes diverge among *Populus trichocarpa* plant-host genotypes and chemotypes, but it depends on soil origin. *Microbiome* **7**: 1–15.
- Warmink, J.A. and van Elsas, J.D. (2008) Selection of bacterial populations in the mycosphere of *Laccaria proxima*: is type III secretion involved? *ISME J.* **2**: 887–900.
- Warmink, J.A., Nazir, R., and Van Elsas, J.D. (2009) Universal and species-specific bacterial ‘fungiphiles’ in the mycospheres of different basidiomycetous fungi. *Environ. Microbiol.* **11**: 300–312.
- Woeste, K.E., Ye, C., and Kieber, J.J. (1999) Two *Arabidopsis* mutants that overproduce ethylene are affected in the posttranscriptional regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase. *Plant Physiol.* **119**: 521–530.
- Wohlschlager, T., Butschi, A., Grassi, P., Sutov, G., Gauss, R., Hauck, D., et al. (2014) Methylated glycans as conserved targets of animal and fungal innate defense. *Proc. Natl. Acad. Sci.* e2787–e2796.
- Wohlschlager, T., Titz, A., Künzler, M., and Varrot, A. (2020) Expression, Purification, and Functional Characterization of Tectonin 2 from *Laccaria bicolor*: A Six-Bladed Beta-Propeller Lectin Specific for O-Methylated Glycans BT - Lectin Purification and Analysis: Methods and Protocols. In, Hirabayashi, J. (ed). Springer US, New York, NY, pp. 669–682.
- Worrich, A., Stryhanyuk, H., Musat, N., König, S., Banitz, T., Centler, F., et al. (2017) Mycelium-mediated transfer of water and nutrients stimulates bacterial activity in dry and oligotrophic environments. *Nat. Commun.* **8**:
- Zambonelli, A., Lotti, M., and Murat, C. (2016) True Truffle (*Tuber* spp.) in the World Soil Ecology, Systematics and Biochemistry Zambonelli, A., Lotti, M., and Murat, C. (eds) Springer Nature.
- Zeller, B., Brechet, C., Maurice, J.-P., and Le Tacon, F. (2008) Saprotrophic versus symbiotic strategy during truffle ascocarp development under holm oak. A response based on ^{13}C and ^{15}N natural abundance. *Ann. For. Sci.* **6**: 1–10.

ANNEXES



CURRICULUM VITAE

ETAT CIVIL

Aurélie DEVEAU

Née le 30 juillet 1981 à Saint-Mandé (94), France

Adresse professionnelle: UMR INRAE-Université de Lorraine1136 « Interactions Arbres-Micro-organismes », Centre INRAE de Nancy, 54280 Champenoux,
tél : 03-83-39-40-88, fax : 03-83-39-40-69,
e-mail: aurelie.deveau@inrae.fr

DIPLOMES & FORMATIONS COMPLEMENTAIRES

2008	Qualification aux fonctions d'enseignant chercheur, sections 66, 67, 68.
2007	Doctorat de Biologie Forestière, UHP Nancy Université
2004	Magistère de Biologie-Biochimie, Ecole Normale Supérieure, Paris.
2004	DEA de Biologie Forestière, UHP Nancy Université, mention TB
2003	Maîtrise de Biologie Cellulaire et Physiologie, mention Génétique Moléculaire et Cellulaire, Université M. Curie, Paris 6. Mention B.
2002	Licence de Biochimie, Université D. Diderot, Paris 7. Mention B
2001	DEUG Sciences de la Vie et de la Terre, Université D. Diderot, Paris 7. Mention TB.

CURSUS PROFESSIONNEL – EXPERIENCES DE RECHERCHE - MOBILITE

Sept – Dec 2017 : Séjour scientifique, Laboratoire du Dr. J. Plett, Hawkesbery Institute, Western Sydney University, Australie

Janv – Mai 2015 : Séjour scientifique, Laboratoire du Professeur P. Dorrestein. University of California San Diego, USA. Formation à l'utilisation de l'Imagerie par Spectrométrie de Masse.

Chargée de recherche INRA(E) Nancy Lorraine : 2011 - ... : UMR 1136 Interactions arbres-micro-organismes. Equipe Ecogénomique des interactions.

Post-doctorat : août 2008 – novembre 2010 : Mécanismes de signalisation intercellulaire chez le champignon pathogène *Candida albicans*. Laboratoire du Dr. D. A. Hogan, Département de Microbiologie et d'Immunologie, Dartmouth Medical School, USA.

Post-doctorat : décembre 2007-mars 2008 : Annotation *in silico* du génome de la bactérie auxiliaire de la mycorhization *Pseudomonas fluorescens* BbC6R8. Encadrant : Dr. F. Martin. UMR 1136 « Interactions Arbres/Micro-organismes » UHP Nancy Université, France.

Doctorat: novembre 2004 - novembre 2007. Déterminisme moléculaire des interactions entre le champignon ectomycorhizien *Laccaria bicolor* S238N et des bactéries du sol. Encadrement : Dr J. Garbaye, Dr. P. Frey-Klett, Dr. F. Martin (UMR 1136 « Interactions Arbres/Micro-organismes », INRA Nancy, France).

Stage de DEA: janvier 2004 – septembre 2004. Structuration fonctionnelle d'une communauté ectomycorhizienne dans un peuplement mélangé feuillus – résineux. Encadrant : Dr. J. Garbaye (UMR 1136 « Interactions Arbres/Micro-organismes », INRA Nancy).

Stage de maîtrise: février 2003 – juin 2003. Etude de la photosynthèse du cocotier: paramétrage du modèle de photosynthèse de Farquhar à l'aide de mesures à l'échelle foliaire. Modélisation de la photosynthèse à l'échelle de la canopée. Encadrant : Dr O. Roupsard (CIRAD-Centre Agronomique de Recherche et de Formation du Vanuatu, Vanuatu, Pacifique Sud).

Stage de licence: juillet 2002 – août 2002. Photosynthèse et structure d'un jeune couvert de hêtres : comparaison avec une forêt adulte. Encadrant : Pr. B. Saugier (Université d'Orsay Paris 11)

Stage de DEUG: mars 2001- juin 2001. Modélisation des rythmes stochastiques circadiens. Encadrant : Dr K. Pakdaman (INSERM UMR-S 707 Paris)

FORMATIONS COMPLEMENTAIRES

- Formation INRA *Notions de Bases pour l'utilisation de R.* 4 jours. 2016
- Formation INRA *FROGS – Outils pour l'analyse bioinformatique de données de métabarcoding 16S.* 2,5 jours. 2016
- Formation INRA *Sauveteur Secouriste du Travail.* 2 jours. 2018(recyclages 2019, 2021)
- Formation Apave *Habilitation à la conduite et à la maintenance d'autoclaves.* 6hrs. 2020

PRIX ET DISTINCTIONS

- Prix de la Dartmouth College Post-doctoral Association récompensant l'excellence des recherches (1000 \$). 2009
- Second prix de la thèse de la Région Lorraine (3500 €). 2008

Résumé des activités de recherche menées pendant le post-doctorat

Mécanismes de signalisation intercellulaire chez le champignon pathogène *C. albicans*

Post-Doctorat, Laboratoire du Dr. Hogan, Dartmouth Medical School, USA

2008-2010

Mes travaux de recherche au sein du laboratoire du Dr. Hogan portaient sur le champignon pathogène de l'homme *C. albicans* qui est responsable de très nombreuses infections et qui est fréquemment rencontré en association avec la bactérie *P. aeruginosa*. J'y ai analysé les mécanismes de communication intercellulaire chez *C. albicans* en me focalisant principalement sur deux aspects : la résistance au stress oxydatif et le développement des biofilms, deux éléments majeurs de la virulence de *C. albicans* également impliqués dans les interactions avec *P. aeruginosa*.

Mécanisme de protection contre le stress oxydatif via l'activité du farnesol chez *C. albicans*

Contexte et intérêt scientifique

C. albicans est un champignon dimorphique capable de se développer sous la forme de levures ou d'hyphes en fonction des conditions environnementales. La transition entre les deux formes morphologiques est strictement régulée et est indispensable pour la virulence du champignon. Les hyphes pénètrent les muqueuses et les tissus tandis que les levures sont généralement associées au phénomène de dispersion dans l'organisme.

C. albicans dispose d'un mécanisme de communication intercellulaire dont le farnesol est le médiateur. Cette molécule, qui est produite continuellement par le champignon, inhibe la filamentation de *C. albicans* et le développement de biofilms. Ces propriétés pourraient faire du farnesol une molécule prometteuse pour lutter contre les infections par *C. albicans*. Cependant, le farnesol augmente également la résistance au stress oxydatif créé par les espèces activées de l'oxygène (ROS) (Westwater *et al.*, 2005). Or la production de ROS est utilisée par les cellules du système immunitaire pour éliminer les pathogènes. Le farnesol pourrait dans ce cas favoriser l'infection par *C. albicans*. Dès lors, il s'avère important de déterminer par quel(s) mécanisme(s) le farnesol agit. Il a été montré que le farnesol inhibe la filamentation en réprimant l'activité de la voie de transduction du signal de l'AMP cyclique (Davis-Hanna *et al.*, 2008). A l'inverse, le mécanisme par lequel le farnesol protège *C. albicans* contre le stress oxydatif était inconnu et a fait l'objet de mes recherches.

Approche

Afin de répondre à cette question, j'ai testé deux hypothèses non-exclusives. La première, basée sur l'observation que le farnesol agit comme une toxine vis-à-vis de nombreux micro-organismes, propose que le farnesol induise chez *C. albicans* un stress oxydatif modéré auquel le champignon réagirait par une activation de ses défenses contre les ROS. Cette activation permettrait au champignon de posséder un niveau de défense élevé contre le stress oxydatif avant même d'être confronté au système immunitaire. Alternativement, le farnesol pourrait perturber une/plusieurs voies de transduction du signal et induire une protection élevée contre le stress oxydatif et ce en l'absence de tout stress. En effet, le farnesol est connu pour affecter trois voies de transduction du signal qui régulent la résistance au stress oxydatif.

Résultats

À l'aide de techniques de détection des ROS par fluorimétrie et de microscopie à épifluorescence, j'ai montré que, dans les conditions où le farnesol protège contre le stress oxydatif, le farnesol induit l'accumulation de ROS dans les cellules de *C. albicans*. Toutefois la suppression de ces ROS par des antioxydants n'annule pas l'effet protecteur du farnesol. La production de ROS ne serait donc pas nécessaire à l'activité protectrice du farnesol.

Dans un deuxième temps, j'ai analysé, par des méthodes de génétique inverse, le rôle des différentes voies de transduction du signal impliquées dans la résistance au stress oxydatif et qui sont régulées par le farnesol. Ces cascades ont pour point commun de réguler la transcription de gènes dont les produits sont impliqués dans la réponse au stress oxydatif. J'ai tout d'abord démontré qu'une augmentation de la transcription de ces gènes est suffisante pour induire une protection contre le peroxyde d'hydrogène grâce à la méthode de cytométrie en flux. J'ai ensuite analysé la résistance au stress oxydatif de souches mutées dans différentes voies de transduction du signal. J'ai ainsi pu montrer que la cascade Ras1 – AMP cyclique joue un rôle prépondérant dans la protection contre le stress oxydatif induite par le farnesol puisque les mutants dans cette cascade ne sont plus protégés par le farnesol. À l'inverse, mes données suggèrent que les autres voies de signalisation (Hog1 MAP kinase et Chk1) ne sont pas nécessaires à cette même protection. Toutefois cette analyse a révélé l'existence d'un dialogue moléculaire entre la cascade de l'AMP cyclique et la voie des MAP kinases Hog1. Ce résultat est particulièrement important car s'il est connu depuis longtemps que la voie de l'AMPc réprime l'expression des gènes impliqués dans la protection contre le stress oxydatif, les mécanismes de cette répression sont inconnus. Or ce processus semble jouer un rôle important dans la résistance des levures de *C. albicans* à leur élimination par les cellules du système immunitaire.

Conclusion

A partir de ces résultats, et de ceux publiés par d'autres groupes (Machida & Tanaka, 1999; Semighini *et al.*, 2006), nous avons proposé le modèle suivant

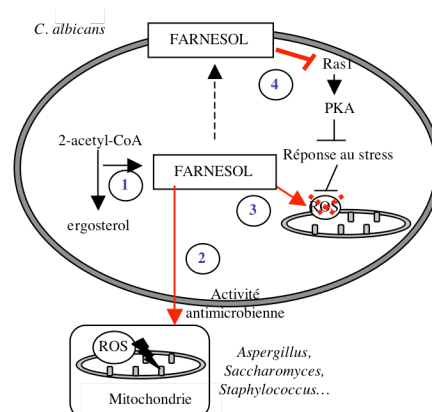


Fig 1. Modèle du mode de protection du farnesol contre le stress oxydatif.

d'action du farnesol (Fig. 1) : le farnesol produit par *C. albicans* (1), en étant sécrété dans le milieu environnant, agirait comme une toxine vis-à-vis des autres micro-organismes en générant un stress oxydatif léthal (2). *C. albicans* serait protégé contre ce stress oxydatif car contrairement aux autres micro-organismes, l'inhibition de la voie de l'AMPc par le farnesol augmenterait la résistance du champignon au stress oxydatif (3,4). Le farnesol aurait, par ailleurs, une activité de molécule autorégulatrice, en régulant le processus de filamentation. Ces résultats suggèrent que la voie Ras1-AMPc joue un rôle prépondérant dans l'activité du farnesol et qu'elle est responsable de la majorité des effets du farnesol sur la physiologie de *C. albicans*. Ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans la revue *Eukaryotic Cell* (Deveau *et al.* in 2010). En complément de cette étude, j'ai entrepris d'analyser le mécanisme d'action du farnesol lors du processus d'invasion des tissus afin de déterminer si d'autres mécanismes que l'inhibition de la voie de l'AMPc sont impliqués dans l'activité du farnesol dans d'autres environnements.

Rôle de la production de farnesol dans le développement et la virulence des biofilms.

Contexte et intérêt scientifique

Un nombre grandissant d'infections généralisées causées par *C. albicans* en milieu hospitalier sont dues à des contaminations du matériel biomédical (cathéters, valves cardiaques ...) sur lequel le champignon forme des biofilms mono ou plurispécifiques. Les biofilms libèrent dans le milieu extérieur des cellules qui se dispersent dans l'organisme par l'intermédiaire du système sanguin et infectent les organes vitaux. Les infections dues à ces biofilms sont particulièrement difficiles à traiter en raison de leur résistance très élevée aux antifongiques. Il existe à l'heure actuelle une forte demande pour la découverte de nouvelles molécules qui pourraient permettre d'éradiquer les biofilms de *C. albicans*.

Si notre connaissance des mécanismes de formation des biofilms s'est grandement accrue ces dernières années, la physiologie des biofilms matures, leur mécanisme de dispersion et les caractéristiques des cellules libérées restent méconnus. Pourtant, ce sont ces cellules qui vont ensuite infecter l'organisme et une meilleure connaissance de leurs particularités pourrait être utile pour créer de nouvelles molécules antifongiques.

Il a été proposé que le farnesol puisse jouer un rôle clé dans le développement, le fonctionnement et la dispersion des biofilms (Nickerson *et al.*, 2006). Le farnesol, qui est continuellement produit par *C. albicans*, s'accumule dans les biofilms et pourrait induire leur désagrégation. Si les cellules ainsi libérées ont été stimulées par le farnesol, elles devraient être fortement résistantes au stress oxydatif et donc au système immunitaire.

Approche

Afin de tester ces hypothèses, j'ai mis au point des méthodes de croissance de biofilms de *C. albicans* sur différents matériaux biomédicaux, des protocoles de collecte des cellules libérées par les biofilms et des techniques d'analyse des propriétés de ces cellules et des biofilms (microscopie, analyses métaboliques et physiques), aucune de ces méthodes n'étant utilisée au laboratoire à mon arrivée. J'ai utilisé ces techniques pour étudier le rôle du farnesol dans le développement et la dispersion des biofilms de *C. albicans*. Tout d'abord, j'ai étudié *in vivo*

l'expression de gènes rapporteurs de la réponse au farnesol à l'aide de fusion entre les promoteurs de ces gènes et le gène de la GFP (*Green Fluorescent Protein*). Cette technique, utilisant la microscopie à épifluorescence et la microscopie confocale, permet de déterminer en temps réel au sein d'un biofilm si des cellules répondent au farnesol et le devenir de ces cellules. Puis, mon modèle prédisant que ces cellules sont résistantes au stress oxydatif, j'ai entrepris de tester la survie de ces cellules à un traitement au peroxyde d'hydrogène. Enfin, j'ai analysé la capacité d'une souche mutante produisant quatre fois moins de farnesol à produire des biofilms. Si le farnesol est impliqué dans la dispersion des biofilms, cette souche, qui accumule moins de farnesol que la souche sauvage devrait former des biofilms plus robustes qui se dispersent plus tardivement.

Résultats

Le suivi de l'expression de gènes rapporteurs de la réponse au farnesol au cours du développement des biofilms et de leur désagrégation suggère que conformément à notre hypothèse, le farnesol est impliqué dans la structuration et le fonctionnement des biofilms de *C. albicans*. J'ai ainsi observé une corrélation entre le stade de développement des biofilms et l'expression de ces gènes, le nombre de cellules fluorescentes augmentant avec le temps. D'autre part, l'expression de ces gènes n'était pas homogène au sein de ces biofilms mais apparaissait sous forme d'îlots, suggérant l'existence de sous populations fonctionnellement différenciées au sein des biofilms matures. Les cellules libérées par ces biofilms présentaient un fort niveau d'expression des gènes rapporteurs de la réponse au farnesol et une résistance élevée au stress oxydatif suggérant que le farnesol stimule la libération de cellules par les biofilms matures. En accord avec ces résultats, la souche mutante *Ddpp3* qui produit moins de farnesol que la souche sauvage, forme des biofilms plus denses que la souche sauvage.

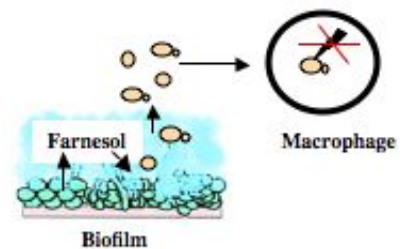


Fig 2. Modèle de l'effet du farnesol sur la virulence des biofilms. L'accumulation de farnesol dans les biofilms induit le bourgeonnement de levures résistantes au stress oxydatif. Ces cellules gagnent le système sanguin où elles ne peuvent pas être éliminées par les macrophages en raison de leur résistance aux ROS.

Conclusion

Ces résultats montrent que le farnesol joue également un rôle important dans la virulence des biofilms de *C. albicans* (Fig. 2). J'ai poursuivi ces travaux afin de caractériser les propriétés infectieuses de cellules libérées par les biofilms en réponse au farnesol. Les développements méthodologiques ont été publiés sous forme d'un chapitre dans l'ouvrage « *Methods in Molecular Biology – Quorum sensing edition* » (2010) et j'ai utilisé ces techniques pour tester l'efficacité de composés antifongiques contre les biofilms de *C. albicans* pour le compte de la société pharmaceutique Glaxo Smith Wellcome.

Dissection moléculaire du mécanisme d'action du farnesol.

Contexte et intérêt scientifique

Le farnesol ne peut être utilisé directement en tant qu'antifongique du fait de sa toxicité partielle vis-à-vis des cellules humaines. Par contre, il est envisageable de créer des molécules qui auraient le même mécanisme d'action. Le mécanisme précis par lequel le farnesol interfère avec la voie de signalisation Ras-AMPC reste à déterminer. Plusieurs hypothèses sont envisageables : existence d'un récepteur au farnesol, interaction/compétition avec des protéines de signalisation, perturbations membranaires... Des études préliminaires réalisées par A. Piispanen, doctorante au sein du laboratoire qui étudie les régulations de l'activité de la protéine Ras, et moi-même suggèrent que le farnesol modifie la mobilité de la protéine Ras dans la membrane plasmique.

Approche

Afin de tester cette hypothèse, j'ai entrepris d'analyser la localisation du farnesol et de la protéine Ras1 dans les différents compartiments cellulaires. Dans une seconde étape, il était prévu de tester, en étroite collaboration avec A. Piispanen et M. Bassilana (Université de Nice) les effets du farnesol sur la dynamique de mobilité de la protéine Ras1 dans la membrane plasmique à l'aide de la technique de FRAP (Fluorescence Recovery After Photobleaching⁷) qui permet de mesurer la vitesse de diffusion moléculaire *in vivo*. Ces données devaient permettre de déterminer si le farnesol modifie l'activité de la protéine Ras1 en perturbant sa localisation et sa mobilité au sein des membranes plasmiques.

Résultats

J'ai observé, en utilisant une forme active fluorescente du farnesol que ce dernier est majoritairement présent dans les membranes plasmiques. Afin de confirmer ce résultat, j'ai développé une méthode d'extraction et de détection du farnesol par chromatographie sur couches minces. Cette méthode a été validée et va être prochainement utilisée pour étudier la répartition du farnesol dans les fractions membranaires et cytoplasmiques. En parallèle, A. Piispanen et moi-même avons démontré que la protéine Ras1 est associée aux membranes plasmiques et que le farnesol ne chasse pas la protéine des membranes. Différentes souches porteuses de la protéine GFP fusionnée à la protéine Ras1 ont été générées par A. Lindsay et A. Piispanen après mon départ pour analyser les effets du farnesol sur la dynamique de mobilité de la protéine Ras1 dans la membrane plasmique à l'aide de la technique de FRAP.

Conclusion

Bien qu'étant encore à un stade préliminaire, ces études du mode précis d'action du farnesol m'ont permis d'acquérir de nouvelles compétences en génétique fongique et en microscopie confocale, deux techniques clés pour l'analyse des déterminants géniques des interactions bactéries-champignons *in vitro* et *in situ*. Ces travaux ont été poursuivis après mon départ et ont donné lieu à deux publications (Piispanen et al. 2011, Lindsay et al. 2012).

Liste des publications

Articles dans des périodiques à comité de lecture

Les doctorants encadrés sont indiqués en grisé.

ACL 42 Martiarena, M.J., **Deveau, A.**, Montoya, Q.V., Florez, L. V, and Rodrigues, A. (2023) The Hyphosphere of Leaf – Cutting Ant Cultivars Is Enriched with Helper Bacteria. *Microb. Ecol.* doi: 10.1007/s00248-023-02187-w.

ACL 41 Pandharikar G., Claudien K., Rose C., Billet D., Pollier B., **Deveau A.**, Besserer A., Morel-Rouhier M. (2022). Comparative Copper Resistance Strategies of *Rhodonia placenta* and *Phanerochaete chrysosporium* in a Copper/Azole-Treated Wood Microcosm. *Journal of Fungi*, 8 (7), 1-16, <https://dx.doi.org/10.3390/jof8070706>

ACL40 Félix Fracchia, Lauralie Mangeot-Peter, Lea Jacquot, Francis Martin, Claire Veneault-Fourrey, **Aurélié Deveau**. Colonization of Naive Roots from *Populus tremula* × *alba* Involves Successive Waves of Fungi and Bacteria with Different Trophic Abilities. **Applied and Environmental Microbiology**, American Society for Microbiology, 2021, 87 (6), (10.1128/AEM.02541-20). (hal-03156567)

ACL39 Jun Niimi, **Aurélié Deveau**, Richard Splivallo. Geographical-based variations in white truffle *Tuber magnatum* aroma is explained by quantitative differences in key volatile compounds. **New Phytologist**, Wiley, 2021, 230, pp.1623 - 1638. (10.1111/nph.17259). (hal-03225171)

ACL38 Jun Niimi, **Aurélié Deveau**, Richard Splivallo. Aroma and bacterial communities dramatically change with storage of fresh white truffle *Tuber magnatum*. **LWT - Food Science and Technology**, Elsevier, 2021, 151, (10.1016/j.lwt.2021.112125). (hal-03287238)

ACL37 Milena Gonzalo, **Aurélié Deveau**, Bertrand Aigle. Inhibitions Dominate but Stimulations and Growth Rescues Are Not Rare Among Bacterial Isolates from Grains of Forest Soil. **Microbial Ecology**, Springer Verlag, 2020, (10.1007/s00248-020-01579-6). (hal-02935408)

ACL36 Laure Schneider-maunoury, **Aurélié Deveau**, Myriam Moreno, Flora Todesco, Simone Belmondo, et al. Two ectomycorrhizal truffles, *Tuber melanosporum* and *T. aestivum*, endophytically colonise roots of non-ectomycorrhizal plants in natural environments. **New Phytologist**, Wiley, 2020, 225 (6), pp.2542-2556. (10.1111/nph.16321). (hal-02912732)

ACL35 L Mangeot-Peter, T Tschaplinski, N Engle, C Veneault-Fourrey, Francis Martin, **Aurélié Deveau**. Impacts of Soil Microbiome Variations on Root Colonization by Fungi and Bacteria and on the Metabolome of *Populus tremula* × *alba*. **Phytobiomes Journal** • 2020 •, 2020, 4, pp.142 - 155. (10.1094/PBIOMES-08-19-0042-R). (hal-02939170)

ACL34 Maryam Vahdatzadeh, **Aurélié Deveau**, Richard Splivallo. Are bacteria responsible for aroma deterioration upon storage of the black truffle *Tuber aestivum*: A microbiome and volatilome study. **Food Microbiology**, Elsevier, 2019, 84, pp.103251. (10.1016/j.fm.2019.103251). (hal-02352502)

ACL33 Denis Schenkel, **Aurélié Deveau**, Jun Niimi, Pierre Mariotte, Amarante Vitra, et al.. Linking soil's volatilome to microbes and plant roots highlights the importance of microbes as emitters of belowground volatile signals. **Environmental Microbiology**, Society for Applied Microbiology and Wiley-Blackwell, 2019, 21 (9), pp.3313-3327. (10.1111/1462-2920.14599). (hal-02352501)

- ACL32 Aurélie Deveau**, Philippe Clowez, François Petit, Jean-Paul Maurice, Flora Todesco, et al.. New insights into black truffle biology: Discovery of the potential connecting structure between a *Tuber aestivum* ascocarp and its host root. **Mycorrhiza**, Springer Verlag, 2019, 29 (3), pp.219-226. {10.1007/s00572-019-00892-4}. {hal-02177354}
- ACL31** Richard Splivallo, **Maryam Vahdatzadeh**, Jose G Maciá-Vicente, Virginie Molinier, Martina Peter, **Aurélie Deveau**. Orchard Conditions and Fruiting Body Characteristics Drive the Microbiome of the Black Truffle *Tuber aestivum*. **Frontiers in Microbiology**, Frontiers Media, 2019, 10, pp.1437. {10.3389/fmicb.2019.01437}. {hal-02264371}
- ACL30** Larry Millet, Jayde Aufrecht, Jessy Labbé, Jessie Uehling, Rytas Vilgalys, **Cora Miquel Guennoc**, **Aurélie Deveau** et al.. Increasing access to microfluidics for studying fungi and other branched biological structures. **Fungal Biology and Biotechnology**, Biomed Central, 2019, 6 (1), {10.1186/s40694-019-0071-z}. {hal-02939175}
- ACL29** Feng Zhang, George Anasontzis, Aurore Labourel, Charlotte Champion, **Aurélie Deveau** et al.. The ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* releases a secreted b-1,4 endoglucanase that plays a key role in symbiosis development. **New Phytologist**, Wiley, 2018, {10.1111/nph.15113}. {hal-02939180}
- ACL28** Alexandre Fruleux, Marie-Béatrice Bogeat-Triboulot, Catherine Collet, **Aurélie Deveau**, Laurent Saint-André, et al.. Aboveground overyielding in a mixed temperate forest is not explained by belowground processes. **Oecologia**, Springer Verlag, 2018, 188 (4), pp.1183-1193. {10.1007/s00442-018-4278-0}. {hal-02621043}
- ACL27** **Cora Guennoc**, Christophe Rose, Jessy Labbé, **Aurélie Deveau**. Bacterial biofilm formation on the hyphae of ectomycorrhizal fungi: A widespread ability under controls? **FEMS Microbiology Ecology**, Wiley-Blackwell, 2018, 94 (7), {10.1093/femsec/fiy093}. {hal-01890693}
- ACL26** **Aurélie Deveau**, Gregory Bonito, Jessie Uehling, Mathieu Paoletti, Matthias Becker, et al.. Bacterial-fungal interactions: ecology, mechanisms and challenges. **FEMS Microbiology Reviews**, Wiley-Blackwell, 2018, 42 (3), pp.335-352. {10.1093/femsre/fuy008}. {hal-01954717}
- ACL25** **Cora Miquel Guennoc**, Christophe Rose, Frédéric Guinet, Igor Miquel, Jessy Labbé, **Aurélie Deveau**. A new method for qualitative multi-scale analysis of bacterial biofilms on filamentous fungal colonies using confocal and electron microscopy. **Journal of visualized experiments : JoVE**, JoVE, 2017, {10.3791/54771}. {hal-01547565}
- ACL24** Jessie Uehling, **Aurélie Deveau**, Mathieu Paoletti. Do fungi have an innate immune response? An NLR-based comparison to plant and animal immune systems. **PLoS Pathogens**, Public Library of Science, 2017, 13 (10), pp.1-8. {10.1371/journal.ppat.1006578}. {hal-02628840}
- ACL23** Stéphane Uroz, Marc Buee, **Aurélie Deveau**, Sophie Mieszkin, Francis Martin. Ecology of the forest microbiome: Highlights of temperate and boreal ecosystems. **Soil Biology and Biochemistry**, Elsevier, 2016, 103, pp.471-488. {10.1016/j.soilbio.2016.09.006}. {hal-01490075}
- ACL22** **Aurélie Deveau**, Sanjay Antony-Babu, François Le Tacon, Christophe Robin, Pascale Frey-Klett, et al. Temporal changes of bacterial communities in the *Tuber melanosporum* ectomycorrhizosphere during ascocarp development. **Mycorrhiza**, Springer Verlag, 2016, 26 (5), pp.389-399. {10.1007/s00572-015-0679-7}. {hal-01477465}
- ACL21** François Le Tacon, Andrea Rubini, Claude Murat, Claudia Riccioni, Christophe Robin, et al.. Certainties and uncertainties about the life cycle of the Périgord black truffle (*Tuber*

- melanosporum* Vittad.). **Annals of Forest Science**, Springer Nature (since 2011)/EDP Science (until 2010), 2016, 73 (1), pp.105-117. {10.1007/s13595-015-0461-1}. {hal-01284231}
- ACL20 Aurélie Deveau**, Harald Gross, Béatrice Palin, Samina Mehnaz, Max Schnepf, et al. Role of secondary metabolites in the interaction between *Pseudomonas fluorescens* and soil microorganisms under iron-limited conditions. **FEMS Microbiology Ecology**, Wiley-Blackwell, 2016, 92 (8), pp.1-11. {10.1093/femsec/fiw107}. {hal-01490770}
- ACL19 Maryam Vahdatzadeh**, **Aurélie Deveau**, Richard Splivallo. The Role of the Microbiome of Truffles in Aroma Formation: a Meta-Analysis Approach. **Applied and Environmental Microbiology**, American Society for Microbiology, 2015, 81 (20), pp.6946-6952. {10.1128/AEM.01098-15}. {hal-01269458}
- ACL18** Richard Splivallo, **Aurélie Deveau**, Nayuf Valdez, Nina Kirchhoff, Pascale Frey-Klett, et al.. Bacteria associated with truffle-fruited bodies contribute to truffle aroma. **Environmental Microbiology**, Society for Applied Microbiology and Wiley-Blackwell, 2015, 17 (8), pp.2647-2660. {10.1111/1462-2920.12521}. {hal-01579586}
- ACL17 Aurélie Deveau**, Matthieu Barret, Abdala Gamby Diedhiou, Johan Leveau, Wietse de Boer, et al. Pairwise transcriptomic analysis of the interactions between the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N and three beneficial, neutral and antagonistic soil bacteria. **Microbial Ecology**, Springer Verlag, 2015, 69 (1), pp.146-159. {10.1007/s00248-014-0445-y}. {hal-01208788}
- ACL16** Justine Galet, **Aurélie Deveau**, Laurence Hotel, Pascale Frey-Klett, Pierre Leblond, et al.. *Pseudomonas fluorescens* Pirates both Ferrioxamine and Ferricoelichelin Siderophores from *Streptomyces ambofaciens*. **Applied and Environmental Microbiology**, American Society for Microbiology, 2015, 81 (9), pp.3132-3141. {10.1128/AEM.03520-14}. {hal-01269032}
- ACL15 Aurélie Deveau**, H Gross, Emmanuelle Morin, T Karpinets, S Utturkar, et al. Genome Sequence of the Mycorrhizal Helper Bacterium *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8. **Genome Announcements**, American Society for Microbiology, 2014, 2 (1), pp.e01152-13 - e01152-13. {10.1128/genomeA.01152-13}. {hal-01579698}
- ACL14** Sanjay Antony-Babu, **Aurélie Deveau**, Joy D. van Nostrand, Jizhong Zhou, François Le Tacon, et al.. Black truffle-associated bacterial communities during the development and maturation of *Tuber melanosporum* ascocarps and putative functional roles. **Environmental Microbiology**, Society for Applied Microbiology and Wiley-Blackwell, 2014, 16 (9), pp.2831-2847. {10.1111/1462-2920.12294}. {hal-01270208}
- ACL13** Timothy J. Tschaplinski, Jonathan Michael Plett, Nancy L. Engle, **Aurélie Deveau**, Katherine C. Cushman, et al.. *Populus trichocarpa* and *Populus deltoides* Exhibit Different Metabolomic Responses to Colonization by the Symbiotic Fungus *Laccaria bicolor*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, American Phytopathological Society, 2014, 27 (6), pp.546 - 556. {10.1094/MPMI-09-13-0286-R}. {hal-01268595}
- ACL12** Jonathan Michael Plett, Yohann Daguerre, Sebastian Wittulsky, Alice Vayssières, **Aurélie Deveau**, et al.. Effector MiSSP7 of the mutualistic fungus *Laccaria] bicolor* stabilizes the *Populus* JAZ6 protein and represses jasmonic acid (JA) responsive genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, National Academy of Sciences, 2014, 111 (22), pp.8299-8304. {10.1073/pnas.1322671111}. {hal-01268578}
- ACL11** Justine Galet, **Aurélie Deveau**, Laurence Hotel, Pierre Leblond, Pascale Frey-Klett, et al.. Gluconic acid-producing *Pseudomonas* sp. prevent γ -actinorhodin biosynthesis by *Streptomyces*

- coelicolor* A3(2). **Archives of Microbiology**, Springer Verlag, 2014, 196 (9), pp.619-627. {10.1007/s00203-014-1000-4}. {hal-01268576}
- ACL 10** Allia K. Lindsay, **Aurélié Deveau**, Amy E. Piispanen, Deborah A. Hogan. Farnesol and cyclic AMP signaling effects on the hypha-to-yeast transition in *Candida albicans*. **Eukaryotic Cell**, American Society for Microbiology, 2012, 11 (10), pp.1219-1225. {10.1128/EC.00144-12}. {hal-01267875}
- ACL 9** Angéla Cusano, Peter Burlinson, Aurélié Deveau, Patrice Vion, Stéphane Uroz, et al.. *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 type III secretion mutants no longer promote ectomycorrhizal symbiosis. **Environmental Microbiology Reports**, Wiley, 2011, 3 (2), pp.203-210. {10.1111/j.1758-2229.2010.00209.x}. {hal-02650375}
- ACL 8** Amy E. Piispanen, Ophélie Bonnefoi, Sarah Carden, **Aurélié Deveau**, Martine Bassilana, et al.. Roles of Ras1 membrane localization during *Candida albicans* hyphal growth and farnesol response. **Eukaryotic Cell**, American Society for Microbiology, 2011, 10 (11), pp.1473-1484. {10.1128/EC.05153-11}. {hal-02645868}
- ACL 7** Pascale Frey-Klett, Peter Burlinson, **Aurélié Deveau**, Matthieu Barret, M. Tarkka, et al.. Bacterial-fungal Interactions: hyphens between agricultural, clinical, environmental, and food microbiologists. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, American Society for Microbiology, 2011, 75 (4), pp.583 - +. {10.1128/MMBR.00020-11}. {hal-02651157}
- ACL6** **Aurélié Deveau**, Amy E Piispanen, Angelyca A Jackson, Deborah A Hogan. Farnesol induces hydrogen peroxide resistance in *Candida albicans* yeast by inhibiting the Ras-cyclic AMP signaling pathway.. **Eukaryotic Cell**, American Society for Microbiology, 2010, 9 (4), pp.569-577. {10.1128/EC.00321-09}. {hal-02659326}
- ACL5** **Aurélié Deveau**, Cédric Brulé, Béatrice Palin, D. Champmartin, P. Rubini, et al.. Role of fungal trehalose and bacterial thiamine in the improved survival and growth of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N and the helper bacterium *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8. **Environmental Microbiology Reports**, Wiley, 2010, 2 (4), pp.560-568. {10.1111/j.1758-2229.2010.00145.x}. {hal-02663710}
- ACL4** F. Martin, A. Aerts, D. Ahrén, A. Brun, E. G. J. Danchin, et al.. The genome of *Laccaria bicolor* provides insights into mycorrhizal symbiosis. **Nature**, Nature Publishing Group, 2008, 452 (7183), pp.88-93. {10.1038/nature06556}. {halsde-00261893}
- ACL3** **Aurélié Deveau**, Annegret Kohler, Pascale Frey-Klett, Francis Martin. The major pathways of carbohydrate metabolism in the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* S238N. **New Phytologist**, Wiley, 2008, 180 (2), pp.379-390. {10.1111/j.1469-8137.2008.02581.x}. {hal-02661726}
- ACL2** Olivier Rouspard, Jean Dautat, Yann Nouvellon, **Aurélié Deveau**, Laurène Feintrenie, et al.. Cross-validating sun-shade and 3D models of light absorption by a tree-crop canopy. **Agricultural and Forest Meteorology**, Elsevier Masson, 2008, 148 (4), pp.549-564. {10.1016/j.agrformet.2007.11.002}. {halsde-00322311}
- ACL1** **Aurélié Deveau**, Béatrice Palin, Christine Delaruelle, Magali Peter, Annegret Kohler, et al.. The mycorrhiza helper *Pseudomonas fluorescens* BBc6R8 has a specific priming effect on the growth, morphology and gene expression of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* S238N. **New Phytologist**, Wiley, 2007, 175 (4), pp.743-755. {10.1111/j.1469-8137.2007.02148.x}. {hal-01195008}

Chapitres d'ouvrages scientifiques

- O6** Fracchia, F., Basso, V., Guinet, F., Veneault-Fourrey, C., and **Deveau, A.** (2023) Confocal Laser Scanning Microscopy Approach to Investigate Plant-Fungal Interactions. In, Martin, F. and Uroz, S. (eds), **Microbial Environmental Genomics (MEG)**. Springer Nature, pp. 325–335.
- O5** Besserer, A., Rose, C., and **Deveau, A.** (2023) Visualisation of fungi during wood colonisation and degradation by microscopy: from light to electron microscopy. In, Martin, F. and Uroz (eds), **Microbial Environmental Genomics (MEG)**. Springer Nature, pp. 337–361
- O4** Mika Tarkka, **Aurélié Deveau.** 8 An Emerging Interdisciplinary Field: Fungal–Bacterial Interactions. Environmental and Microbial Relationships, Springer International Publishing, pp.161-178, 2016, (10.1007/978-3-319-29532-9_8). (hal-02989888)
- O3** **Aurélié Deveau**, Jessy Labbé. Mycorrhiza helper bacteria. Francis Martin. **Molecular Mycorrhizal Symbiosis**, John Wiley & Sons, Inc., pp.437-450, 2016, 9781118951446. (hal-01950235)
- O2** **Aurélié Deveau**, Jonathan Michael Plett, Valérie Legué, Pascale Frey-Klett, Francis Martin. Communication between plant, ectomycorrhizal fungi and helper bacteria. **Biocommunication of Fungi**, Springer, pp.229-247, 2012, 978-94-007-4263-5 978-94-007-4264-2. (hal-02804398)
- O1** **Aurélié Deveau**, Deborah A Hogan. Linking quorum sensing regulation and biofilm formation by *Candida albicans*. **Quorum Sensing : Methods and Protocols**, 692, Humana Press, 2011, Methods in Molecular Biology, 978-1-60761-971-0 978-1-60761-970-3. (10.1007/978-1-60761-971-0_16). (hal-02809928)

Conférences données à l'invitation du comité d'organisation dans un congrès

- C INV12** Aurélié Deveau. The tree root microbiome : dynamic, regulation and interactions. Colloque Symbiophyt. Mai 2021
- C INV11** Aurélié Deveau. Le microbiote des plantes. SNHF Colloque 2020 Santé des plantes: ressources naturelle et biologie contemporaine, Nov 2020, Paris, France. (hal-03318041)
- C INV10** Deveau A. (2019). Fungal Bacterial Interactions in the mycorrhizosphere: friends and foes, 4th International Molecular Mycorrhiza Meeting, 6 février 2019, Torino (Italie). Réf. HAL: hal-02940968
- C INV9** Deveau A. (2018). Bacterial biofilms on soil fungal hyphae: a widespread ability under control, Mini symposium: interactions matter: bacterial, fungal and plant strategies to thrive in the environment, 20 octobre 2018, Wageningen (Pays-Bas). Réf. HAL: hal-02948254
- C INV8** Deveau A. (2017). Characterizing the root microbiome, ASM Microbe, 1 juin 2017, New Orleans (États-Unis). Réf. HAL: hal-02948348
- C INV7** Deveau A. (2017). Ménage à trois (and more): bacterial biofilm on soil fungal hyphae and tree roots, 5th Eurobiofilms, 19 septembre 2017, Amsterdam (Pays-Bas). Réf. HAL: hal-02948370
- C INV6** Deveau A., Miquel Guennoc C., Rose C., Labbé J. Bacterial biofilm on fungal hyphae : a widespread ability under controls. Fungal Genetics Conference. Asilomar, USA. 14-18.03.17
- C INV5** Aurélié Deveau, Béatrice Palin, Océane Niccolitch, Annegret Kohler, Stéphane Uroz. Black truffles as a model to analyse fungal-bacterial interactions in forest ecosystem. ISME Conference, Aout 2016
- C INV4** Deveau A., Splivallo, R., Kirchoff N., Nicolitch O., Bontemps C., Antony-Babu S., Le Tacon F., Frey-Klett P., Kohler A., Uroz S. The Black Truffle : more than a niche for bacteria ?

International Mycology Conference, Bangkok, Session « Fungal-Bacterial Interaction », 3- 8 aout 2014.

C INV3 Deveau A. Functional and taxonomic characterization of Black truffle bacterial communities along ascocarp development and maturation. Jacques Monod Conference on Fungal Bacterial Interaction, Roscoff, France, dec 2013

C INV2 Deveau A., Frey-Klett P. The mycorrhiza helper bacteria : a model for the study of fungal-bacterial interactions. Society for General Microbiology Spring Conference 2013, Session « Fungal-Bacterial Interaction »

C INV1 Deveau A., Antony Babu S., Le Tacon F., Uroz, S., Frey-Klett P. Do bacterial communities associated with the black truffle contribute to the life cycle of the ectomycorrhizal fungus ? ICOM7, New Delhi, India, jan 2013. Session « Fungal Bacterial Interactions »

Séminaires sur invitation

S INV 8 Deveau A. (2021-05-27). *The tree root microbiome: dynamic, regulations and interactions*. Presented at : Symbiophyt days, webinaire, France (2021-05-27), <https://hal.inrae.fr/hal-03460838>

S INV 7 Deveau A. (2019-02-06). *Fungal Bacterial Interactions in the mycorrhizosphere: friends and foes*. Presented at : 4th International Molecular Mycorrhiza Meeting, Torino, Italie (2019-02-06), <https://hal.inrae.fr/hal-02940968>

S INV6 Role of poplar phytohormones in controlling the poplar root microbiome. Février 2018. Laboratoire d'Ecologie Microbienne, Lyon, France

S INV5 Bacterial biofilms on soil fungal hyphae : a widespread ability under control ? Mini symposium : Interactions matters. 10.2017. Wageningen University, Pays Bas

S INV4 Les bactéries : amies ou ennemies du trufficulteur ? 21.01.2017. Fête de la Truffe, Jarnac, France

S INV3 Apports de la métagénomique pour l'étude des écosystèmes forestiers et la gestion des activités sylvicoles. 17.11.2016. Colloque MetaSEED, Anger, France

S INV2 From mutualism to antagonism: iron acquisition during soil microbial interactions. 21.05.2015 Laboratoire Emersys, Anger France

S INV1 Les bactéries, des partenaires méconnus de la truffe. Séminaire grand public de restitution de l'ANR Systruf, 10.2013. Pont du Gard, France

Communications orales dans un congrès international ou national

COM 6 Deveau A., Fracchia F., Veneault-Fourrey C. (2021-11-16). *Le microbiote des racines de peuplier : dynamique, régulation et interactions*. Presented at : PHARE - Journées interdisciplinaires - Phases précoces du parasitisme tellurique et communication via l'exsudation racinaire, Sofia Antipolis, France (2021-11-16), <https://hal.inrae.fr/hal-03460823>

COM 5 Deveau A., Palin B., Galet J., Leblond P., Aigle B. From mutualism to antagonism : iron acquisition during soil microbial interactions. Ecology of soil microorganisms Conference. 29.11-03.12.2015., Prague, Czech Republic.

COM 4 Deveau A., Frey-Klett P. Fungal-Bacterial interactions and tree nutrition : deciphering the mycorrhiza helper effect. Journée des microbiologistes de l'INRA, L'île sur la Sorgue, France, nov 2012.

COM 3 Deveau A., Hogan, D. A. Integration of farnesol signaling in *Candida albicans* : effect on resistance to oxidative stress. 25th Fungal Genetics Conference, Asilomar, CA, USA, mars 2009

COM 2 Deveau A., Sarniguet A., Palin B., Martin F., Frey-Klett P. Regulation of fungal gene expression during the interaction between an ectomycorrhizal fungus and a mycorrhiza helper bacterium: a gene profiling approach. 7th International Plant Growth Promoting Rhizobacteria workshop, Leeuwenhorst, The Netherlands, mai 2006

COM 1 Deveau A., Sarniguet A., Palin B., Martin F., Frey-Klett P. Regulation of fungal gene expression during the interaction between an ectomycorrhizal fungus and a mycorrhiza helper bacterium National. Congrès National de la Société Française de Phytopathologie, Aussois, France, janvier 2006 (Communication orale)

Communications par affiche dans un congrès international ou national

Les doctorants encadrés sont indiqués en grisé.

AAF10 Félix Fracchia, Claire Veneault-Fourrey, Aurélie Deveau. Les Phytohormones, des régulateurs clefs du microbiome racinaire du peuplier ?. VIIIème colloque de l'Association Française d'Ecologie Microbienne, Dec 2019, Bussang, France. { hal-02948445 }

AAF9 Lauralie Mangeot-Peter, Claire Veneault-Fourrey, Nancy L. Engle, Timothy J. Tschaplinski, Francis M. Martin, et al.. Jasmonic acid signalling pathway alters the structuring of the root microbiome in Grey Poplar. 41st New Phytologist Symposium, Apr 2018, Nancy, France. { hal-02948429 }

AAF8 Lauralie Mangeot-Peter, Claire Veneault-Fourrey, Nancy L. Engle, Timothy J. Tschaplinski, Francis M. Martin, et al.. Jasmonic acid signalling pathway alters the structuring of the root microbiome in Grey Poplar. 3rd Conference on Ecology of Soil Microorganisms, Jun 2018, Helsinki, France. { hal-02948409 }

AAF7 Milena Gonzalo, Aurélie Deveau, Bertrand Aigle. Towards the understanding of molecular dialogues within soil forest microbial communities and their impact on plants. Actino2017, Oct 2017, Lyon, France. { hal-02948434 }

AAF6 Lauralie Mangeot-Peter, Aurélie Deveau, Claire Veneault-Fourrey, Nancy L. Engle, Timothy J. Tschaplinski, et al.. Effect of Poplar defence phytohormones on the structuration of Poplar root microbiome. ICOM 9, Jul 2017, Prague, Czech Republic. { hal-02948421 }

AAF5 Guennoc Cora, Christophe Rose, Béatrice Palin, Frédéric Guinet, Jessy Labbé, Aurélie Deveau. Biofilm formation in the mycorrhizal fungal-bacterial interactions. ISME 2016, Montréal, Canada

AAF4 Deveau A., Hogan D. A.. Multiple effects of farnesol in *C. albicans* : role of Ras1-cAMP signaling in morphogenesis and oxidative stress resistance. 10th ASM Conference on Candida and Candidiasis, Miami, USA, mars 2010

AAF3 Deveau A., Palin B., Pierrat J-C., Uroz S., Sarniguet A., Garbaye J., Martin F., Frey-Klett P. Molecular interactions between an ectomycorrhizal fungus and the surrounding bacteria : a gene profiling approach to explore interkingdom relationships. Molecular Plant Microbe Interactions Congress, Sorrento, Italy, juillet 2007.

AAF2 Deveau A., Garbaye J., Martin F., Frey-Klett P. Regulation of fungal gene expression during the interaction between an ectomycorrhizal fungus and a mycorrhiza helper bacterium. New Phytologist Symposium, Nancy, France, septembre 2006.

AAF1 Deveau A., Courty P-E, Garbaye J. Specific and functional structure of an ectomycorrhizal community in forest. Colloque Ecologie Microbienne, Obernai, France, mai 2

Abstract

Fungi and bacteria colonize an infinite number of habitats on Earth in which they coexist and form complex communities. Forest ecosystems offer a multitude of habitats for these micro-organisms: plant tissues - living and dead, above and below ground - and the soil, in all its complexity of horizons and micro-niches, are home to tens of thousands of fungal and bacterial micro-organisms. They carry out activities that are fundamental to the proper functioning of ecosystems: recycling organic matter, releasing complexed essential minerals, facilitating tree nutrition, protecting against abiotic and biotic stresses, etc. However, some of them are also deleterious by producing toxic compounds, competing with plants for their nutrition or causing diseases. All these activities are influenced by the environmental conditions encountered by the micro-organisms but also by the interactions they establish between them. Thus, it is crucial to understand how microorganisms interact in their natural habitat and how these interactions affect their activities.

In this context, my research aims to elucidate the mechanisms of bacteria-fungi-tree interactions and the impacts of these interactions on their biologies and activities. During the 15 years of research covered in this manuscript, I have focused on three main questions: i. by which mechanisms do soil bacteria stimulate or inhibit the formation of ectomycorrhizae by the fungus *Laccaria bicolor*; ii. what roles do soil bacteria play in the life cycle of *Tuber* fungi and in particular in the formation of truffles, iii. how does the poplar tree regulate the colonization of its tissues by bacteria and fungi ? This research was conducted at different scales, from simplified Petri dish systems on model organisms to more complex systems including the tree and its natural communities.

Résumé

Champignons et bactéries colonisent une infinité d'habitats sur Terre dans lesquels ils coexistent et forment des communautés complexes. Les écosystèmes forestiers offrent une multitude d'habitats pour ces micro-organismes : les tissus végétaux – vivants et morts, aériens et souterrains – et le sol, dans toute sa complexité d'horizons et de micro-niches, abritent des dizaines de milliers de micro-organismes fongiques et bactériens. Ils y exercent des activités fondamentales pour le bon fonctionnement des écosystèmes : recyclage de la matière organique, libération de minéraux essentiels complexés, facilitation de la nutrition des arbres, protection contre les stress abiotiques et biotiques... Mais certains sont aussi délétères via la production de composés toxiques, en entrant en compétition avec les plantes pour leur nutrition ou en étant responsables de maladies. L'ensemble de ces activités est influencé par les conditions environnementales rencontrées par les micro-organismes mais aussi et surtout par les interactions qu'ils établissent entre eux. Ainsi, il est crucial de comprendre comment les micro-organismes interagissent dans leur habitat naturel et en quoi ces interactions affectent leurs activités.

Dans ce contexte, mes travaux de recherche ont pour but d'élucider les mécanismes d'interactions bactéries-champignons-arbres et les impacts de ces interactions sur leur biologie et leurs activités. Pendant les 15 années de recherche que couvrent ce manuscrit, je me suis en particulier attachée à répondre à trois questions principales : i. par quels mécanismes des bactéries du sol stimulent ou au contraire inhibent la formation d'ectomycorhizes par le champignon *Laccaria bicolor* ; ii. quels rôles jouent les bactéries du sol sur le cycle de vie des champignons du genre *Tuber* et en particulier la formation des truffes, iii. comment le peuplier régule la colonisation de ses tissus par les bactéries et les champignons ? Ces recherches ont été menées à différentes échelles, depuis les systèmes simplifiés en boîte de Pétri sur des organismes modèles jusqu'à des systèmes plus complexes incluant l'arbre et ses communautés naturelles.