



**HAL**  
open science

## Les Bases de la spécificité des champignons ectomycorhiziens vis-à-vis de leur hôte.

J. Guillot

► **To cite this version:**

J. Guillot. Les Bases de la spécificité des champignons ectomycorhiziens vis-à-vis de leur hôte.. Revue forestière française, 1997, 49 (sp), pp.57-66. 10.4267/2042/5675 . hal-03444058

**HAL Id: hal-03444058**

**<https://hal.science/hal-03444058v1>**

Submitted on 23 Nov 2021

**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.



# LES BASES DE LA SPÉCIFICITÉ DES CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS VIS-À-VIS DE LEUR HÔTE

J. GUILLOT

Si la connaissance des aspects morphologiques, physiologiques et métaboliques des mycorhizes en général et des ectomycorhizes en particulier a fait des progrès considérables au cours des dernières années, un domaine reste encore en partie à explorer, celui des mécanismes moléculaires conduisant à la reconnaissance entre les deux partenaires, l'arbre et le champignon.

Au cours de la formation des ectomycorhizes, l'association ne se fait pas au hasard ; la plante comme le mycète choisissent, au sein de la population complexe de la rhizosphère, un ou des associés. D'autre part, bien que la symbiose apparaisse en général peu spécifique, il existe cependant de nombreux exemples dans lesquels le champignon manifeste, au moins dans les conditions naturelles, une affinité absolue pour un genre voire une espèce particulière ; il en est ainsi de beaucoup de Bolétacées, notamment des genres *Suillus* et *Leccinum*, de Lactariorussulacées ou encore d'Hygrophoracées. Il est alors logique d'admettre que les deux phénomènes, reconnaissance et spécificité, découlent d'un seul et même mécanisme à l'échelle moléculaire et correspondent à un événement précoce dans l'association mycorhizienne.

Parmi les diverses hypothèses proposées pour expliquer la reconnaissance et la spécificité — ce problème dépassant d'ailleurs le domaine de la symbiose, des mécanismes analogues sinon identiques existant sans doute lors des contacts qui aboutissent à un parasitisme, ou bien lors de l'assemblage des cellules d'un même organisme au cours de l'embryogénèse — l'intervention des lectines <sup>(1)</sup> semble très probable dans bien des cas. Connues depuis une centaine d'années, ces molécules, élaborées par beaucoup de végétaux et d'animaux, sont des protéines ou des glycoprotéines qui ont pour propriété essentielle de se lier à des résidus osidiques d'une manière plus ou moins réversible. On conçoit que cette faculté, qui n'est pas sans rappeler les interactions spécifiques du type enzyme-substrat ou anticorps-antigène, puisse expliquer l'affinité existant entre un hôte et son symbiote à condition que l'un possède au niveau de sa membrane ou de sa paroi une lectine et l'autre une structure complémentaire.

(1) Lectines : protéines ou glycoprotéines d'origine non immune capables, grâce à deux ou plusieurs sites de liaison avec des sucres, d'agglutiner des cellules et/ou de précipiter des glycoconjugués.

## UN MODÈLE D'ÉTUDE DES MÉCANISMES DE RECONNAISSANCE : LA SYMBIOSE ENTRE LES PLANTES ET LES MICRO-ORGANISMES FIXATEURS D'AZOTE

L'hypothèse selon laquelle les lectines pourraient jouer un rôle dans les mécanismes de reconnaissance lors des premiers événements d'une symbiose a tout d'abord été proposée pour expliquer la spécificité observée dans les associations que contractent des plantes vertes avec des micro-organismes fixateurs d'azote, *Rhizobium*, actinomycètes ou cyanobactéries.

### La symbiose *Rhizobium* - Légumineuses

Elle a fait l'objet des premiers travaux et, bien que certaines étapes conduisant à la formation des nodules soient maintenant bien connues, des points restent encore à élucider.

Les premiers travaux de Hamblin et Kent (1973) ayant montré qu'une lectine de graines de haricot pouvait se lier au symbiote de cette même plante, *Rhizobium phaseoli*, les auteurs ont alors émis l'hypothèse que les lectines des Légumineuses étaient le support de la spécificité entre l'hôte et le microsymbiote. Cette théorie a reçu un important appui à la suite des recherches de Dazzo et Truchet (1983) qui ont supposé qu'une lectine bivalente sécrétée par la plante reconnaissait une structure identique sur la bactérie et le poil absorbant en formant un pont entre les deux.

Deux critiques majeures ont cependant été adressées à cette théorie. L'une concerne la spécificité des lectines elles-mêmes qui semble être la même au sein de certaines tribus. En fait, ces spécificités vis-à-vis des sucres ne sont pas identiques mais leur étude nécessite d'utiliser des saccharides complexes ou des glycoprotéines ainsi que des méthodes de quantification plus performantes (1986).

L'autre est la découverte d'un dialogue moléculaire entre la plante et le *Rhizobium* qui semble antérieur à l'intervention des lectines. La première étape de la symbiose est la sécrétion par la plante d'un flavonoïde<sup>(2)</sup> qui, réagissant d'une façon spécifique avec une protéine désignée par NodD, en provoque l'activation, NodD induisant à son tour la transcription des gènes nod du *Rhizobium*. Les facteurs de nodulation alors sécrétés sont des lipooligosaccharides, toutes les espèces de *Rhizobium* produisant la même structure de base, un enchaînement de quatre ou cinq *N*-acétylglucosamines liées en  $\beta$  1 - > 4, portant un acide gras à une extrémité glucosamine non réduite. Cependant, chaque différente espèce de *Rhizobium* est caractérisée par une des nombreuses variations de cette structure commune : les deux glucosamines terminales portent des groupements spécifiques et la nature de l'acide gras diffère selon les espèces. Dans un premier temps, les gènes nod communs à toutes les espèces de *Rhizobium*, les gènes nod ABC, codent les enzymes qui synthétisent la structure de base des facteurs de nodulation ; par la suite, les gènes nod spécifiques de chacune des espèces de *Rhizobium* "décorent" la structure de base. Le lipooligosaccharide se lie alors avec un récepteur situé à la surface de la racine et active les gènes de la nodulation appartenant à la plante (Lerouge *et al.*, 1990). Ce récepteur spécifique et capable de reconnaître un résidu saccharidique est probablement une lectine.

L'intervention d'un mécanisme lectinique de reconnaissance a été mise en évidence dans d'autres types de symbiose permettant une fixation de l'azote atmosphérique parmi lesquelles :

— **la symbiose lichénique** : des études menées par Lockhart *et al.* (1978) puis par Petit *et al.* (1983) sur divers lichens des genres *Peltigera* et *Evernia* ont permis l'isolement d'une lectine semblant appartenir à l'élément fongique et susceptible de reconnaître des déterminants sur la paroi de l'algue. Les relations morphologiques et physiologiques entre les deux partenaires seraient modulées par des variations dans la nature des oses présents sur la paroi du phycobionte.

(2) Flavonoïde : composés phénoliques simples, souvent de couleur jaune ; ils possèdent un noyau aromatique et des chaînes latérales courtes.

## Le fonctionnement des symbioses mycorhiziennes

— la symbiose *Anabaena - Azolla* : les *Azolla* sont des petites fougères d'eau largement réparties sur le globe, notamment dans les régions tropicales. Elles sont associées à la cyanobactérie *Anabaena azollae* qui assure la totalité de l'approvisionnement en azote.

Les deux partenaires sont remarquablement adaptés l'un à l'autre et croissent en harmonie. Le sporophyte de la fougère se compose d'une tige flottante ramifiée portant des racines et des feuilles profondément bilobées possédant chacune un lobe dorsal et un lobe ventral. C'est dans des cavités particulières du lobe dorsal de chaque feuille, et nulle part ailleurs, que croît le microsymbionte en occupant rarement tout l'espace disponible. La symbiose paraît se propager par voie végétative mais il est intéressant de noter que la cyanobactérie reste en contact avec la fougère durant la reproduction de celle-ci : des spores dormantes à paroi épaisse d'*Anabaena* sont "piégées" dans le macrosporange en développement et éventuellement le microsporange (Peters, 1982).

Ces deux organismes qui ont coévolué et développé des relations du type gène à gène ont sans doute élaboré des systèmes de reconnaissance dans lesquels les lectines ont un rôle à jouer. Les quelques travaux qui ont été consacrés à ce problème (Mellor *et al.*, 1981 ; Ladha *et al.*, 1984) montrent que la lectine appartient à la fougère, qu'elle est différente selon les espèces d'*Azolla* et qu'elle reconnaît spécifiquement la souche de cyanobactérie avec laquelle elle a contracté la symbiose (McCowen *et al.*, 1987).

## LA SYMBIOSE ECTOMYCORHIZIENNE

L'observation de la présence de lectines dans des champignons impliqués dans des symbioses ectomycorhiziennes a conduit à penser que l'espèce fongique était sans doute celui des associés qui apportait cette molécule de reconnaissance, l'arbre offrant, en conséquence, les structures de nature glucidique complémentaires au niveau de son système racinaire.

### Travaux expérimentaux

Afin d'étudier en même temps le double aspect du mécanisme, à savoir la reconnaissance et la spécificité, le choix s'est porté dans les premiers travaux (Giollant, 1991 ; Giollant *et al.*, 1993) sur un modèle très démonstratif quant à la spécificité symbiotique, celui des lactaires à lait rouge de la section *Dapetes*, sous-section *Deliciosini*. Les trois lactaires étudiés, *Lactarius deliciosus*, *Lactarius deterrimus* et *Lactarius salmonicolor*, difficiles à distinguer morphologiquement car ils sont très proches du point de vue taxonomique, sont cependant respectivement et strictement inféodés au Pin, à l'Épicéa et au Sapin.

Pour étayer l'hypothèse lectinique, trois conditions essentielles devaient être vérifiées :

- les lectines isolées des trois lactaires sont différentes quant à leur structure et surtout leur spécificité ;
- les lectines, déjà connues dans les carpophores, sont également présentes à la surface des filaments mycéliens ;
- la surface de cellules particulières de l'appareil racinaire des arbres-hôtes porte des récepteurs spécifiques pour la lectine du champignon associé.

#### • Structure et spécificité des lectines

Pour en établir les caractéristiques biochimiques, il est possible d'isoler les lectines par des techniques de chromatographie d'affinité puis de les purifier sur des colonnes d'hydroxyapatite et par filtration sur gel de silice en chromatographie liquide haute pression.

On constate que les lectines isolées des trois lactaires montrent du point de vue de leur structure, une certaine parenté, ces convergences n'ayant rien de surprenant eu égard à la proximité taxonomique des espèces. Il existe toutefois des différences qui, pour limitées qu'elles soient pour certaines d'entre elles, sont cependant significatives. Ainsi, la lectine isolée de *Lactarius salmonicolor* apparaît sensiblement plus volumineuse (39 kDa <sup>(3)</sup>) que les deux autres (37 kDa) mais s'apparente quant à sa structure beaucoup plus à la lectine de *Lactarius deterrimus* qu'à celle de *Lactarius deliciosus*. Cette dernière, en effet, comporte deux sous-unités non semblables dans sa molécule (type A1B1), les molécules natives qui renferment peu de résidus méthionine <sup>(4)</sup> possédant, en revanche, une importante quantité de glycine <sup>(5)</sup> et d'acide glutamique <sup>(6)</sup>. À l'inverse, les lectines de *Lactarius salmonicolor* et *Lactarius deterrimus* sont toutes deux formées de deux monomères identiques (type A2) et se signalent par une teneur inusitée en méthionine et par l'absence de résidus cystéine <sup>(7)</sup>. De même, proches de 6,50, les points isoélectriques des trois protéines sont cependant légèrement différents.

En relation directe avec la spécificité de la symbiose, l'affinité des lectines à l'égard des sucres doit être différente si l'on admet que c'est par l'intermédiaire de ces molécules fongiques que sont distingués les sites récepteurs situés sur les racines des conifères associés. La recherche de la spécificité lectinique fait appel à des techniques basées sur une des propriétés majeures des lectines, à savoir leur capacité à agglutiner les globules rouges. L'agglutination dépendant de la fixation préalable de la lectine sur la membrane de la cellule, on conçoit que la mise en contact, dans un premier temps, de la lectine et de son sucre d'affinité puisse, dans un deuxième temps, empêcher la lectine de se fixer sur les globules et par conséquent de les agglutiner, la partie réactive de la molécule étant alors bloquée. Cette technique d'inhibition de l'hémagglutination permet, en méthode automatisée, d'abord de confronter la lectine à une large gamme de sucres, puis de quantifier le pouvoir inhibiteur des sucres actifs.

Bien que les lectines isolées des lactaires soient toutes les trois inhibées par le disaccharide D-Galβ1 - > 3 D-GalNAc, elles le sont avec des intensités très différentes, ce qui traduit une non-identité des sites osidiques <sup>(8)</sup> reconnus et donc de la spécificité fine. Cette différence de spécificité peut, par ailleurs, être confirmée par utilisation de sucres moins inhibiteurs, donc moins bien adaptés au site lectinique que le précédent, mais possédant cependant une activité non négligeable ; c'est notamment le cas du disaccharide D-Galβ1 - > 3D-GlcNAc qui montre une réactivité très différente selon les lectines.

En conclusion, *Lactarius deliciosus*, *Lactarius deterrimus* et *Lactarius salmonicolor* synthétisent dans leur carpophore des lectines différentes tant par leur structure que par leur spécificité.

• Localisation de la lectine fongique

La reconnaissance entre le champignon et les racines de l'hôte par le biais d'une lectine exige que celle-ci soit exprimée dans le mycélium et qu'elle soit située à la surface de l'élément fongique, c'est-à-dire au niveau de sa paroi. Les synthèses mycorrhiziennes *in vitro* ayant prouvé que les éléments

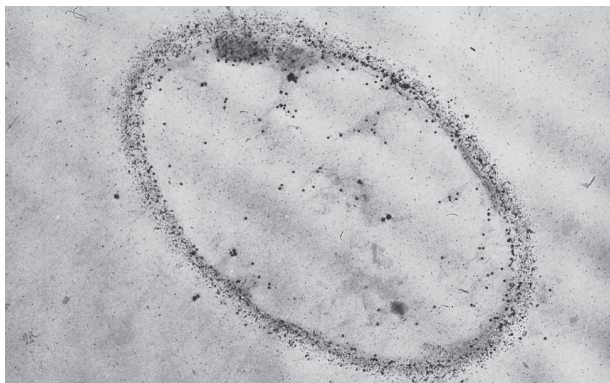


Photo J. GUILLOT

Lectine dans la paroi du mycélium de *Lactaria deliciosus*

(3) Kilo Dalton : mesure de la taille des molécules de grande dimension comme les protéines ou les lectines.

(4) Méthionine : acide aminé soufré à cinq atomes de carbone.

(5) Glycine : le plus simple des acides aminés (deux atomes de carbone).

(6) Acide glutamique : acide aminé à cinq atomes de carbone.

(7) Cystéine : acide aminé soufré à trois atomes de carbone.

(8) Osidique : qui se rapporte à un ose ou sucre.

## Le fonctionnement des symbioses mycorhiziennes

mycéliens cultivés en milieu artificiel avaient les mêmes capacités infectives que ceux présents dans le sol, on pouvait prévoir que les molécules impliquées dans les premiers stades de la mycorhization étaient présentes dans un cas comme dans l'autre.

Plusieurs techniques ont montré qu'effectivement le mycélium des lactaires, cultivé en milieu liquide, produit, comme le carpophore, une lectine localisée essentiellement dans la paroi des hyphes. L'une de ces méthodes consiste à traiter la paroi par une  $\beta$ -glucanase <sup>(9)</sup>, la lyticase <sup>(10)</sup> (zymolase), enzyme active contrairement à la chitinase <sup>(11)</sup> ou la cellulase <sup>(12)</sup>, ce qui suggère une association de la lectine avec la matrice  $\beta$ -glucanique <sup>(13)</sup> de la paroi.

Mais c'est l'utilisation d'anticorps polyclonaux anti-lectines obtenus chez le lapin qui a permis de visualiser la situation pariétale des lectines, d'en montrer à nouveau la spécificité et de prouver l'identité entre les lectines produites par le carpophore et le mycélium. Aussi bien en microscopie photonique qu'électronique, la molécule apparaît répartie d'une manière homogène dans la paroi des filaments mycéliens (cf. photo, p. 60) ; la présence de lectine soluble en quantité importante dans le carpophore indique peut-être, dans des conditions naturelles, une possibilité de stockage suivi d'une migration de la protéine au sein de l'élément fongique en direction des structures de surface.

Les expériences conduites en microscopie de fluorescence sur des mycéliums non fixés âgés de deux mois, expériences dans lesquelles les trois catégories d'anti-sérums <sup>(14)</sup> obtenus avec les trois lectines ont été confrontés aux différents mycéliums, montrent l'existence d'épitopes <sup>(15)</sup> spécifiques à chaque lectine. Bien que des réactions croisées soient constatées entre les différents systèmes antigène-anticorps, la dilution des antisérums permet de confirmer cette spécificité ; ainsi l'immunsérum anti-lectine de *Lactarius deliciosus* est encore capable de révéler la présence de lectine à la surface du mycélium de *Lactarius deliciosus* à la dilution de 1/8 000 alors qu'il fournit des réactions négatives sur les mycéliums de *Lactarius deterrimus* et *Lactarius salmonicolor* dès une dilution de 1/4.

### • Localisation et spécificité des sites racinaires

Afin de rechercher sur les racines des récepteurs polysaccharidiques spécifiques des champignons associés, les arbres-hôtes ont été cultivés à partir de graines ; cependant si des cultures axéniques <sup>(16)</sup> ont pu être obtenues pour le Pin et l'Épicéa, il n'a pas été possible d'éliminer totalement les spores de divers micromycètes présentes à la surface des graines de Sapin en raison de l'existence d'une importante quantité de résine et de la structure anfractueuse de l'enveloppe séminale.

L'évolution de l'appareil racinaire a été suivie pendant une durée de six semaines suivant le repiquage en pot des plantules obtenues dans un délai de huit jours en boîtes de Petri, dans le but de connaître la nature des éléments anatomiques portant des récepteurs et par conséquent le moment à partir duquel la plantule devient réceptive. Deux techniques ont été appliquées parallèlement dans la recherche des sites racinaires, l'une utilisant des lectines marquées à la fluorescéine, l'autre faisant appel à des anticorps polyclonaux anti-lectines.

(9) Glucanase : enzyme détruisant les glucanes ; les glucanes sont des polymères du glucose ; ils sont des constituants typiques de la paroi primaire des cellules végétales.

(10) Lyticase : la lyticase ou zymolase est une glucanase.

(11) Chitinase : enzyme détruisant la chitine. La chitine est un des principaux constituants de la paroi des champignons. La chitine est un polymère de la *N*-acétyl-glucosamine, autrement dit d'un glucose portant un radical *N*-acétyl-amine.

(12) Cellulase : enzyme détruisant la cellulose. La cellulose est un des principaux constituants de la paroi des cellules végétales. La cellulose est un polymère du glucose.

(13) Glucanique : relatif aux glucanes.

Matrice  $\beta$ -glucanique : ensemble constitué de glucanes. Le  $\beta$ -glucane est un des isomères du glucane.

(14) Antisérum ou immunsérum : sérum contenant des anticorps.

(15) Epitope : structure reconnue par un anticorps.

(16) Axénique : stérile.

Pour chaque essence, il a été possible de mettre en évidence très tôt, c'est-à-dire dès la première ou la deuxième semaine, des structures osidiques complémentaires sur la paroi des cellules racinaires, les éléments les plus riches en sites étant représentés par les poils absorbants, l'extrémité des racines secondaires et, à un moindre degré, par la coiffe <sup>(17)</sup> et la région la jouxtant. Pour les trois espèces de conifères, la lectine appartenant au champignon normalement associé présente une affinité bien supérieure à celle des deux autres ; c'est ainsi que la lectine isolée de *Lactarius deterrimus* se fixe aux poils absorbants et aux cellules de la coiffe de l'Épicéa avec une forte intensité de fluorescence qui traduit la richesse en sites complémentaires, alors que les lectines issues de *Lactarius deliciosus* et de *Lactarius salmonicolor* fournissent des réactions négatives.

En définitive, les lectines isolées des trois lactaires sont différentes, aussi bien dans leur structure que dans leur spécificité ; elles sont présentes non seulement dans le carpophore mais aussi dans le mycélium à la surface des hyphes ; enfin, elles reconnaissent avec une haute spécificité des résidus osidiques situés sur des régions privilégiées du système racinaire de l'arbre-hôte.

### **Précocité des phénomènes de reconnaissance et importance des glucides pariétaux dans la formation des ectomycorhizes et d'autres types de symbiose**

La précocité d'apparition des structures racinaires compétentes dans les expériences conduites avec les conifères associés aux lactaires se retrouve lors de synthèses obtenues *in vitro*. Dudridge et Read (1984) qui ont suivi expérimentalement le développement des mycorhizes de Pin en récoltant de manière séquentielle les racines, ont constaté que le réseau de Hartig commençait à se former dès la troisième semaine. Ceci implique qu'il existe des contacts efficaces avec le champignon dès la deuxième voire la première semaine suivant le repiquage de la plantule, obtenue elle-même en deux semaines sur eau-agar.

Un autre point important concerne la ou les parties de la racine susceptibles de supporter les structures de reconnaissance, régions non obligatoirement similaires à celles où se développeront le futur réseau et le manchon ectomycorhizien. Au cours des expérimentations avec les lactaires du groupe du *Lactarius deliciosus*, les poils absorbants sont toujours apparus fluorescents ; on peut supposer que ces formations, tout à fait périphériques, disparaissent par la suite lorsque la mycorhize est constituée, jouent un rôle actif au moment du premier contact. De même, dans la synthèse *Pisolithus tinctorius/Eucalyptus urophylla*, Lei (1988) a observé, un jour seulement après l'inoculation, de nombreux contacts entre les filaments du champignon et les poils absorbants de la racine. Ces contacts hyphes - poils absorbants précèdent la constitution du manteau fongique et ne semblent pas pouvoir se réaliser dans le cas où la souche de pisolithe est inefficace.

L'extrémité des racines secondaires courtes est également reconnue par les lectines de lactaires. Ces organes représentent un site privilégié pour l'installation du champignon, les ectomycorhizes formées par de nombreuses espèces fongiques se présentant sous forme de racines courtes, entourées d'un feutrage de mycélium et souvent ramifiées dichotomiquement.

Plusieurs auteurs ont signalé l'importance que joueraient les glycoprotéines de surface, aussi bien d'ailleurs celles du champignon que de l'arbre, dans la reconnaissance entre les deux partenaires pour des associations symbiotiques pouvant dépasser le cadre de l'ectomycorhization.

Dans le cas particulier des mycorhizes de type éricoïde qui se signalent par leur grande spécificité, Bonfante-Fasolo *et al.* (1986) ont montré que la concanavalline A, lectine isolée du *Canavallia ensiformis* et spécifique de résidus de type glucose/mannose, réagit avec le matériel fongique si la souche est infective tandis que la fixation est très diminuée dans le cas où elle est inefficace ; à la suite de cette observation, Bonfante-Fasolo et Perotto (1986) ont préparé un anticorps qui reconnaît

(17) Coiffe : ensemble de cellules protégeant l'extrémité d'une racine longue.

## Le fonctionnement des symbioses mycorhiziennes

un antigène fongique présent seulement sur les souches infectives. Les mêmes auteurs, qui ont constaté que les racines de *Calluna vulgaris* montrent des résidus osidiques ayant une distribution déterminée le long de la racine, suggèrent qu'il puisse exister une interaction spécifique, par l'intermédiaire de ces sucres, dans l'établissement de la symbiose.

L'importance des glycoconjugués de surface est concrétisée par l'existence possible d'un voile fibrillaire émis par le champignon au cours des premiers contacts de la mycorhization. Ce voile a été observé pour plusieurs types de mycorhizes et il est également formé par des champignons pathogènes et des bactéries symbiotiques. Gianinazzi-Pearson *et al.* (1986) ont observé qu'en culture pure les hyphes des champignons des mycorhizes éricoïdes étaient souvent entourées par une trame lâche de matériel mal défini. Lorsque ces champignons sont inoculés dans des cultures axéniques de plantes-hôtes, il se produit une augmentation importante de ce matériel exocellulaire qui s'organise en un voile fibrillaire extensif rayonnant autour des hyphes et venant en contact étroit avec la paroi des cellules de l'hôte. Ces auteurs estiment que, bien que l'émission de ce voile soit la première manifestation de la symbiose, il s'agit là d'un processus relativement peu spécifique, des images fibrillaires étant obtenues avec des souches non compatibles ; pour eux, la spécificité se manifesterait plus tard, lors d'une reconnaissance entre la paroi de l'hyphes et le plasmalemme de l'hôte.

Dans le modèle ectomycorhizien *Pisolithus/Eucalyptus* (Lei, 1988), deux jours après l'inoculation, de nombreuses fibrilles sont également observées entre les hyphes et la paroi des cellules corticales externes des racines de la plante-hôte ainsi qu'au point de pénétration du champignon entre les cellules racinaires. Cependant, ces fibrilles n'étant jamais observées avec une souche non compatible, il s'agit au contraire dans ce cas d'un phénomène spécifique qui conditionne l'efficacité de la mycorhization dans ses tout premiers stades. On peut, toutefois, noter qu'une fixation des hyphes sur les poils absorbants précède la formation des fibrilles.

Des observations analogues dans le domaine de la pathologie végétale, notamment celles concernant la fixation d'*Agrobacterium tumefaciens* (Matthysse, 1986) sur les cellules-hôtes, laissent à penser que l'émission de fibrilles ne pourrait être qu'un phénomène secondaire. Dans ce modèle, l'observation en microscopie de balayage d'*Agrobacterium tumefaciens* lié aux cellules végétales montre de nombreuses fibrilles de cellulose entourant la bactérie et recouvrant la surface des cellules. Ces fibrilles permettent d'augmenter le nombre de bactéries à proximité de la cellule mais cette synthèse de cellulose n'est pas indispensable à l'attachement des bactéries comme on peut l'observer chez certains mutants. En revanche, la reconnaissance et la fixation préalables codées par des gènes présents à la fois sur le chromosome bactérien et le plasmide Ti <sup>(18)</sup> sont indispensables à l'expression de la tumorigénèse <sup>(19)</sup>, une lectine produite par la bactérie intervenant dans la reconnaissance avec les tissus de l'hôte (Depierreux, 1989).

À la vue de ces différents résultats, il semble que des glycoconjugués pariétaux <sup>(20)</sup> puissent intervenir dans deux étapes précoces de la formation des mycorhizes : des résidus osidiques portés par la plante, complémentaires du site de la lectine fongique et responsables avec celle-ci de la reconnaissance et de la spécificité, et des molécules fibrillaires provenant de la plante et/ou du champignon et consolidant l'amarrage une fois la reconnaissance réalisée.

(18) Plasmide Ti : un plasmide est un petit élément chromosomique cytoplasmique circulaire à réplication autonome, que l'on rencontre chez les bactéries, en plus du chromosome proprement dit. Le plasmide Ti est un plasmide que l'on rencontre chez les bactéries du genre *Agrobacterium*. Il porte un fragment d'ADN qui peut être intégré dans le génome d'une cellule végétale. Ce fragment d'ADN pouvant être transféré à la cellule-hôte comporte plusieurs gènes dont l'un codant pour la production de substances de croissance. L'intégration de ces gènes chez la plante-hôte entraîne une hyperproduction d'AIA et induit un processus de tumorigénèse.

(19) Tumorigénèse : prolifération de cellules. *Agrobacterium tumefaciens* induit la formation de tumeurs chez les plantes qu'il infecte (*Crown Gall*).

(20) Glycoconjugués pariétaux : molécules constitutives de la paroi des végétaux et des champignons et dont une partie est formée de sucre(s) associé(s) (= conjugués) à une autre catégorie biochimique, protéine ou lipide, par exemple.



### **Le mécanisme lectinique de reconnaissance dans la symbiose ectomycorhizienne : conséquences et applications**

Les résultats acquis à la suite de l'étude précédente laissent entrevoir diverses voies de recherche permettant d'affiner la compréhension des mécanismes de reconnaissance, certaines d'entr'elles pouvant déboucher sur des applications pratiques :

– L'isolement des oligosaccharides récepteurs des lectines au niveau racinaire par chromatographie d'affinité d'extraits végétaux sur des lectines immobilisées sur des supports inertes.

– L'établissement d'une comparaison de la structure et surtout de la spécificité de lectines issues de champignons ayant les mêmes caractéristiques d'association dans le but d'identifier un éventuel récepteur commun (par exemple comparaison de la lectine de *Lactarius deliciosus* avec celle d'autres lactaires mycorhizant les Pins tels que *Lactarius sanguifluus*, *Lactarius semisanguifluus*, *Lactarius vinosus* ou de bolets du genre *Suillus* tels que *Suillus luteus*, *Suillus bovinus*, *Suillus variegatus*, ou encore comparaison de la lectine de *Lactarius deterrimus* avec celles de champignons strictement inféodés à l'Épicéa tels que *Russula queletii* ou *Russula decolorans*).

Par ailleurs, pour une même essence, un changement dans la nature des récepteurs racinaires avec l'âge pourrait expliquer la succession chronologique observée dans la nature des espèces de champignons associés.

– La mise en évidence d'un changement possible des structures de surface sous l'influence de facteurs solubles émis par l'un ou l'autre partenaire avant tout contact, comme cela a été montré dans la symbiose *Rhizobium* - Légumineuses.

– L'étude de l'influence de substances présentes dans l'environnement et interférant dans le processus de reconnaissance, soit en bloquant le site actif de la lectine, soit en modifiant les récepteurs racinaires. Cette influence est susceptible de se manifester dans deux circonstances différentes, *in vitro* ou dans la nature :

- *In vitro* se pose le problème des sucres présents dans le milieu utilisé pour la synthèse mycorhizienne. Si les lectines situées sur la paroi du champignon sont bloquées par un sucre apporté dans le milieu gélosé, la reconnaissance et donc la mycorhization risquent de devenir impossibles.

Il y a là un moyen de démontrer le rôle des lectines dans les événements précoces de la mycorhization et d'en connaître la spécificité. Mais on conçoit aussi le danger qui résulte de l'introduction dans un but trophique d'un sucre susceptible de jouer un rôle d'haptène<sup>(21)</sup> vis-à-vis de la lectine. Duddridge (1985) signale que la spécificité de *Suillus grevillei* est perturbée par la présence de glucose dans le milieu de culture ; bien qu'il puisse s'agir d'une modification d'ordre métabolique, on ne peut écarter *a priori* une affinité particulière de la lectine présente dans ce bolet pour le glucose.

- Dans le sol de très nombreux composés peuvent interférer avec le processus de reconnaissance. On peut ainsi imaginer que les substances glucidiques puissent être un facteur de sélection intervenant dans la compétition entre les diverses espèces fongiques mycorhiziennes.

Par ailleurs, parmi les molécules présentes dans la rhizosphère, on connaît le rôle néfaste des substances polyphénoliques provenant des Éricacées, dont la Myrtille, sur le potentiel de régénération de l'Épicéa. On sait que les polyphénols produits par la Myrtille ont une action toxique directe à la fois sur le mycélium des champignons mycorhiziens et les jeunes plantules. Cependant, il est possible que les difficultés de régénération rencontrées par la pessière dans les parcelles où s'est installée cette Éricacée, proviennent, au moins en partie, d'une impossibilité de reconnaissance entre le champignon et l'arbre induite par des polyphénols ou des acides phénoliques.

(21) Haptène : composé chimique de petite taille pouvant être utilisé pour induire une réponse anticorps après avoir été couplé à une protéine.

## Le fonctionnement des symbioses mycorhiziennes

Des travaux (Guillot, 1994) ont montré, à l'aide de molécules phénoliques simples, présentes dans les solutions du sol et issues de la dégradation de macromolécules provenant soit de la Myrtille, soit de l'Épicéa, que ces substances étaient incapables de bloquer les sites lectiniques des champignons en raison de grandes différences dans la conformation spatiale des sucres et des phénols. En revanche, les phénols ayant essentiellement pour origine la Myrtille (acide caféique, acide protocatéchique, acide vanillique) modifient, à des concentrations équivalentes à celles réellement présentes dans le sol, les récepteurs racinaires à tel point que ceux-ci deviennent incapables de fixer la lectine ; ces changements dans la structure des polysaccharides de surface ne s'observent pas avec les substances phénoliques (acide coumarique, parahydroxyacétophénone) provenant majoritairement de l'Épicéa.

En conclusion, les résultats obtenus au cours de l'étude des ectomycorhizes associant lactaires et conifères ainsi que des observations relatives à d'autres types de symbioses plaident en faveur d'une reconnaissance précoce entre une lectine fongique et un oligosaccharide situé sur la paroi des cellules racinaires de l'hôte. Une différence de structure et d'affinité vis-à-vis des glucides entre les lectines des trois lactaires, si proches taxonomiquement et pourtant différents dans leur spécificité, la présence de la lectine dans les parois des hyphes, l'existence de récepteurs spécifiques pour la lectine du champignon associé et seulement elle, sont autant d'arguments qui confortent cette hypothèse.

Comme le soulignent Bonfante-Fasolo *et al.* (1986) à propos des mycorhizes VA à *Glomus*, il apparaît que la paroi cellulaire n'est pas l'enveloppe inerte que l'on décrivait autrefois. Elle représente, au contraire, une structure active, modulable et sensible à l'environnement, certains de ses éléments, les oligosaccharines, jouant un rôle de régulation dans l'infection parasitaire ou la morphogénèse.

Si un mécanisme lectinique intervient dans la reconnaissance et la spécificité au moment du premier contact entre les symbiontes, il n'est cependant pas exclu que d'autres étapes de la mycorhization exercent un contrôle analogue dans la compatibilité entre plante et champignon. Dans la cascade d'événements qui conduit à une association effective, il est certain qu'il existe bien d'autres moyens de blocage d'une "fausse route" ; cependant on conçoit l'avantage que représente, pour l'une et l'autre des entités en présence, la possibilité d'une reconnaissance de compatibilité aussi précoce que possible.

J. GUILLOT  
Groupe de Recherche  
en Biologie cellulaire et Environnement  
Laboratoire de Botanique, Cryptogamie et Microbiologie  
FACULTÉ DE PHARMACIE  
UNIVERSITÉ D'AUVERGNE - CLERMONT I  
28, place Henri-Dunant  
F-63000 CLERMONT-FERRAND

## BIBLIOGRAPHIE

- BONFANTE-FASOLO (P.), MARZACHI (C.), TESTA (B.). — Structural modifications of the wall before and during VAM symbiosis. Recognition in microbe-plant symbiotic and pathogenic interactions. — *NATO ASI Series, Series H : Cell Biology*, 4, 1986, pp. 283-286.
- BONFANTE-FASOLO (P.), PEROTTO (S.). — Ericoid mycorrhizae : new insights from ultrastructure allied to cytochemistry. *In* : Symposium "Cell Interactions and Differentiation", Naples / G. Ghiara Ed. . — 1986. — pp. 27-38.
- BONFANTE-FASOLO (P.), PEROTTO (S.), TESTA (B.), FACCIO (A.). — Ultrastructural localisation of cell surface sugar residues in ericoid mycorrhizal fungi by gold-labeled lectins. — *Protoplasma*, vol. 139, 1986, pp. 25-35.
- CHATELAIN (C.). — Interaction entre diverses lectines (Con A, LcA, PsA et LtA) et les glycoprotéines sériques humaines normales ou pathologiques. — Université de Toulouse, 1986 (Thèse de Doctorat en Pharmacie).
- DAZZO (F.B.), TRUCHET (G.L.). — Interactions of lectins and their saccharide receptors in the *Rhizobium*-legume symbiosis. — *J. Membr. Biol.*, vol. 73, 1983, pp. 1-16.
- DEPIERREUX (C.). — Mécanismes de reconnaissance plantes-microorganismes. Lectine associée chez *Agrobacterium tumefaciens*. — Université d'Orléans, 1989 (Thèse de Doctorat en Sciences).

- DUDDRIDGE (J.A.). — A comparative ultrastructural analysis of the host-fungus interface in mycorrhizal and parasitic associations. *In* : *Developmental Biology of Higher Fungi* / D. Moore, L.A. Casselton, D.A. Wood, J.C. Frankland Eds. — Cambridge University Press, 1985. — pp. 141-173.
- DUDDRIDGE (J.A.), READ (D.J.). — Modification of the host-fungus interface in mycorrhizae synthesized between *Suillus bovinus* (Fr.) O. Kuntz and *Pinus sylvestris* L. — *New Phytol.*, vol. 96, 1984, pp. 583-588.
- GIANINAZZI-PEARSON (V.), BONFANTE-FASOLO (P.), DEXHEIMER (J.). — Ultrastructural studies of surface interactions during adhesion and infection by ericoïd endomycorrhizal fungi. *In* : *Recognition in microbe-plant symbiotic and pathogenic interaction*. — *NATO ASI Series, Series H : Cell Biology*, 4, 1986, pp. 273-282.
- GIOLLANT (M.). — Les Lectines des lactaires du groupe *Dapetes* (*L. deliciosus*, *L. deterrimus*, *L. salmonicolor*). Purification, étude biochimique et spécificité. Intervention des lectines dans les phénomènes de reconnaissance moléculaire au cours des événements précoces de la mycorrhization avec les conifères associés. — Université d'Auvergne - Clermont I, 1991 (Thèse de Doctorat en Pharmacie).
- GIOLLANT (M.), GUILLOT (J.), DAMEZ (M.), DUSSER (M.), DIDIER (P.), DIDIER (E.). — Characterization of a lectin from *Lactarius deterrimus*. Research on the possible involvement of the fungal lectin in recognition between mushroom and spruce during the early stages of mycorrhizae formation. — *Plant. Physiol.*, vol. 101, 1993, pp. 513-522.
- GUILLOT (J.). — Le Mécanisme lectinique de reconnaissance dans la symbiose mycorrhizienne : conséquences et applications. — *Bull. Soc. Ecophysologie*, vol. 19, 1994, pp. 61-64.
- HAMBLIN (J.), KENT (S.P.). — Possible role of phytohaemagglutinin in *Phaseolus vulgaris* L. — *Nature New Biol.*, vol. 245, 1973, pp. 28-30.
- LADHA (J.K.), WATANABE (I.). — Antigenic analysis of *Anabaena azollae* and the role of lectin in the *Azolla - Anabaena* symbiosis. — *New Phytol.*, vol. 98, 1984, pp. 295-300.
- LEI (J.). — Étude expérimentale des systèmes symbiotiques mycorrhiziens de quelques essences ligneuses. Application pratique à la mycorrhization de vitroplants. — Université de Nancy I, 1988 (Thèse de Doctorat en Sciences).
- LEROUGE (P.), ROCHE (P.), FAUCHER (C.), TRUCHET (G.), PROMÉ (J.C.), DENARIE (J.). — Symbiotic host-specificity of *Rhizobium meliloti* is determined by a sulphated and acylated glucosamine oligosaccharide signal. — *Nature*, n° 334, 1990, pp. 781-784.
- LOCKHART (C.M.), ROWELL (P.), STEWART (W.D.P.). — Phytohaemagglutinins from the nitrogen-fixing lichens *Peltigera canina* and *Peltigera polydactyla*. — *FEMS Microbiol. Lett.*, 3, 1978, pp. 127-130.
- MATTHYSSE (A.G.). — Attachment of *Agrobacterium tumefaciens* to plant host cells. *In* : *Recognition in microbe-plant symbiotic and pathogenic interaction*. — *NATO ASI Series, Series H : Cell Biology*, 4, 1986, pp. 219-227.
- McCOWEN (S.M.), MACARTHUR (L.), GATES (J.E.). — *Azolla* fern lectins that specifically recognize endosymbiotic cyanobacteria. — *Curr. Microbiol.*, vol. 14, 1987, pp. 329-333.
- MELLOR (R.B.), GADD (G.M.), ROWELL (P.), STEWART (W.D.P.). — A phytohaemagglutinin from the *Azolla - Anabaena* symbiosis. — *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 99, 1981, pp. 1348-1353.
- PETERS (G.A.), CALVERT (H.E.), KAPLAN (D.), ITO (O.), TOIA (R.E. Jr.). — The *Azolla - Anabaena* symbiosis : morphology, physiology and use. — *Isr. J. Bot.*, vol. 31, 1982, pp. 305-323.
- PETIT (P.), LALLEMANT (R.), SAVOYE (D.). — Purified phytolectin from the lichen *Peltigera canina* var *canina* which binds to the phycobiont cell walls and its use as cytochemical marker *in situ*. — *New Phytol.*, vol. 94, 1983, pp. 103-110.

#### LES BASES DE LA SPÉCIFICITÉ DES CHAMPIGNONS ECTOMYCORHIZIENS VIS-À-VIS DE LEUR HÔTE (Résumé)

Contrairement à d'autres phénomènes physiologiques aboutissant à la formation des ectomycorhizes, les mécanismes qui déterminent, d'une part la reconnaissance entre l'arbre et le champignon, d'autre part la spécificité qui caractérise un grand nombre d'associations, sont encore mal connus. Une des hypothèses actuelles fait intervenir, dans le cas des ectomycorhizes mais aussi pour d'autres types de symbioses, une liaison spécifique entre une lectine située à la surface de l'un des partenaires et une structure saccharidique portée par l'autre. L'hypothèse lectinique a été étayée par l'étude de la symbiose très spécifique qui inféode les lactaires à lait rouge à différents conifères avec comme arguments principaux :

- les lectines des champignons sont différentes tant dans leur constitution que leur spécificité fine,
- les lectines sont présentes non seulement dans les carpophores mais aussi à la surface des hyphes obtenues en culture,
- des expériences croisées, réalisées avec trois espèces de lactaires associées à trois essences différentes, ont montré que des récepteurs saccharidiques pour les lectines fongiques sont présents sur les racines mais uniquement sur celles des arbres-hôtes.

#### THE BASES FOR SPECIFICITY OF ECTOMYCORRHIZAL FUNGI WITH RESPECT TO THEIR HOST (Abstract)

Opposed to other physiological phenomena leading to ectomycorrhizae formation, the recognition mechanisms between trees and fungus likewise the causes of the specificity which characterizes many associations remain unknown. Among recent hypothesis, not only in the case of ectomycorrhizae but also in other types of symbiosis, the involvement of a lectin present at the surface of a partner and of a saccharidic structure belonging to the other, is a possible explanation. The lectinic hypothesis was backed up with the study of the very specific symbiosis in which red milk cap mushrooms are associated with different conifers. The main arguments are :

- fungal lectins are different because of their structure and sharp specificity,
- lectins are expressed in the carpophores as well as the surface of hyphae obtained by culture,
- tests involving three species of lacteous mushrooms and three different conifers have shown that saccharidic receptors are present only on the roots belonging to the associated tree.