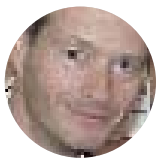


Des champignons qui dopent les plantes

Près d'un tiers des espèces de graminées hébergent dans leurs tissus des champignons discrets et très avantageux. Ces derniers ont pourtant pour ancêtres des champignons pathogènes. Comment cette association est-elle apparue ?



PAR Marc-André Selosse, professeur à l'université Montpellier-II. Il mène ses recherches au Centre d'écologie fonctionnelle et évolutive du CNRS.



ET Anaïs Gibert qui vient d'achever sa thèse sur l'écologie et l'évolution des endophytes des graminées à l'INRA de Toulouse, dans l'unité AGIR.

L'essentiel

> DES CHAMPIGNONS

Neotyphodium colonisent des graminées, au bénéfice de ces dernières. Ils se propagent via les graines de leur hôte.

> ILS DESCENDENT de champignons pathogènes qui se propagent par des spores.

> LA TRANSMISSION n'est pas parfaite : dans une population, on trouve des plantes colonisées et d'autres non.

Quand, dans les années 1930, des sélectionneurs américains entreprirent d'améliorer la valeur pastorale des grandes plaines américaines en y introduisant des graminées sélectionnées pour leurs qualités nutritives, ils étaient loin de se douter qu'ils allaient créer une peste végétale ! Leur choix se porta sur la fétuque élevée, *Festuca arundinacea*, une plante fourragère apte à pousser dans toutes sortes de conditions de climat et de sol, en particulier dans les zones sèches. Après plusieurs années de sélection, une nouvelle variété, *Kentucky 31*, fut mise sur le marché, et rapidement adoptée.

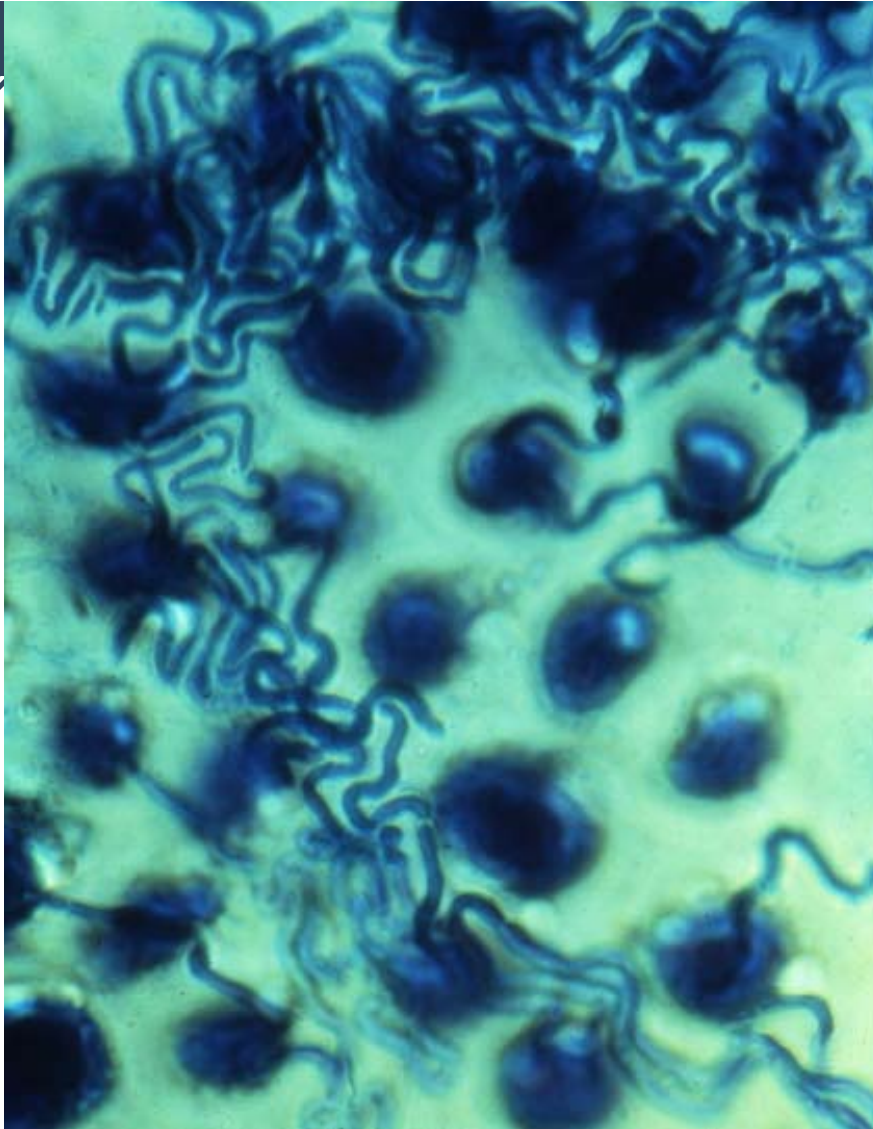
La déception fut rude, car *Kentucky 31* s'est révélée néfaste pour le bétail. Les bovins qui s'en nourrissent présentent une réduction de la lactation et de la croissance, des avortements plus fréquents, des symptômes étranges telle la chute de la queue et des sabots, et des comportements inhabituels, comme une tendance à paresser dans l'eau pendant la journée. Pour ne rien arranger, *Kentucky 31* est si bien adaptée qu'elle occupe aujourd'hui plus de 140 000 kilomètres carrés aux États-Unis. Elle y est même devenue une plante invasive des prairies naturelles.

Comment cette fétuque a-t-elle pu devenir un tel fléau ? Le responsable de ces nuisances a été identifié dans

les années 1970 : un champignon, *Neotyphodium coenophialum*, que la plante héberge discrètement dans ses tissus. Dans la foulée, d'autres espèces de *Neotyphodium* ont été découvertes chez d'autres graminées. Et des travaux ont été lancés pour comprendre comment ces champignons interagissent avec leurs hôtes. Aujourd'hui, la conjugaison entre observations de terrain, expériences et théorie montre que la mise en place de cette association au fil de l'évolution et la façon dont elle perdure aujourd'hui n'ont rien d'un long fleuve tranquille.

De 20 % à 30 % des espèces de graminées hébergent naturellement des *Neotyphodium*. Ce champignon est un « endophyte » car il demeure dans (endo-) la plante (-phyton), de façon invisible. Contrairement aux champignons parasites, qui provoquent des lésions d'où se libèrent des spores propageant la maladie à d'autres plantes, les *Neotyphodium* croissent dans les tissus sans les endommager, ni former de spores. Leur mode de propagation est différent : ils colonisent directement les graines de leur hôte. La descendance d'une plante endophytée hérite donc du champignon de la plante mère [fig.1]. Il s'agit d'une transmission dite « verticale » (qui explique que les sélectionneurs de *Kentucky 31* aient involontairement sélectionné *Neotyphodium coenophialum*).

Tolérance au stress. Pour qui souhaite étudier l'effet du *Neotyphodium* sur son hôte, il faut disposer de plants de même patrimoine génétique, mais pourvus ou non du champignon. Par chance, c'est facile, car celui-ci peut être éliminé des graines par un simple chauffage. Il suffit donc de récupérer



Le mycélium d'un champignon endophyte (filaments bleus) serpente ici entre les cellules d'une graine de fétuque qu'il a colonisée. Les zones claires qu'il occupe correspondent aux parois des cellules. Il n'envahit pas leur cytoplasme (ronds bleus). © G. RAYNAL

ment et survivent avec plus de succès. Ces travaux démontrent aussi que certaines plantes endophytées ont une plus grande reproduction végétative : elles présentent plus de stolons, ces tiges rampantes qui créent de nouveaux pieds à distance de la plante mère... auxquels elles transmettent au passage le *Neotyphodium* [2].

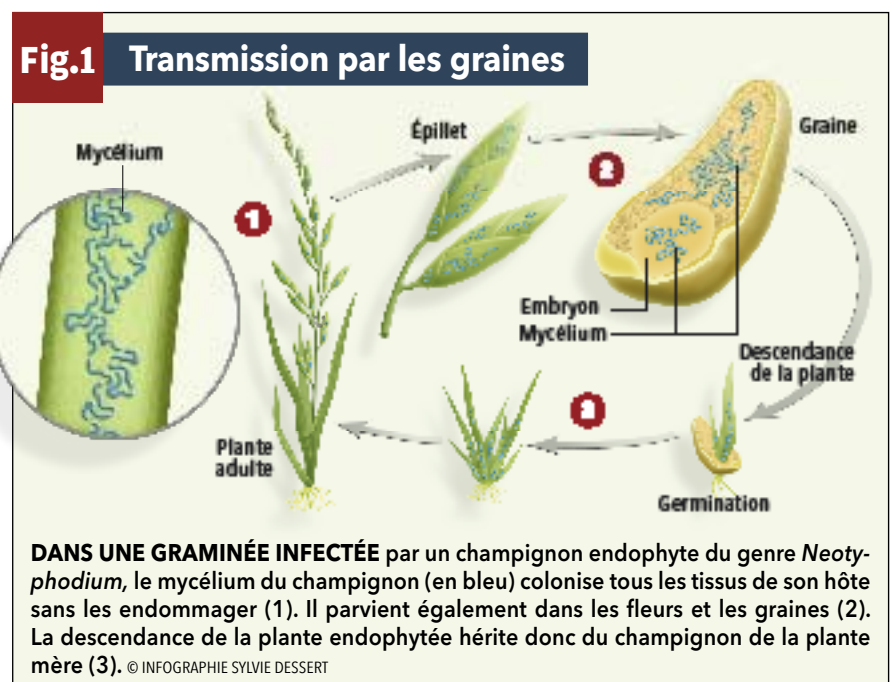
Molécules toxiques. Enfin et surtout, les *Neotyphodium* sont de véritables usines chimiques, qui produisent plusieurs alcaloïdes [3]. Certains, notamment les péramines ou les lolines, sont toxiques pour les insectes, qui du coup évitent les plantes endophytées. D'autres sont actifs contre les mammifères herbivores : les lolitrèmes produits par *Neotyphodium* dans *Kentucky 31* sont des neurotoxiques responsables des comportements anormaux des bovins qui consomment la plante. Enfin, l'ergovaline et ses dérivés ont des effets vasoconstricteurs qui provoquent la chute des sabots et >>>

les graines d'une plante endophytée, d'en chauffer une partie, et de semer les graines chauffées et non chauffées en parallèle.

De nombreuses expériences comparatives, en serre et au champ, ont révélé que le champignon procure à la plante qui l'héberge plusieurs avantages. Ainsi, les plantes endophytées tolèrent mieux différents stress tels que le déficit hydrique, les excès de sel, la vie à l'ombre, les attaques de champignons pathogènes, ou les ultraviolets. Cette résistance au stress pourrait découler, au moins en partie, des nombreuses molécules anti-oxydantes détectées dans les plantes infectées [1]. En effet, de telles molécules limiteraient les effets délétères des molécules oxydantes accidentellement produites dans les cellules stressées.

Par ailleurs, on a aussi découvert que les endophytes peuvent améliorer la reproduction de leur hôte. Comme l'a en particulier montré Keith Clay, de l'université de Bloomington dans l'In-

diana, ces champignons augmentent la production d'épis et de graines. De surcroît, les graines endophytées ger-



Des champignons qui dopent les plantes

>>> de la queue, mal irrigués par le sang [4]. Tous ces alcaloïdes constituent un bouclier chimique contre les herbivores de toutes sortes, bouclier qui accroît le pouvoir reproducteur des plantes endophytées, en les débarrassant de leurs agresseurs.

Ancêtre pathogène. Pour les graminées, les *Neotyphodium* présentent donc une étonnante palette d'effets bénéfiques. Rien d'étonnant, dès lors, à ce que l'association entre ces deux partenaires se soit instaurée et se perpétue ? Eh bien si, justement. Car en cherchant à déterminer la place des *Neotyphodium* dans l'arbre phylogénétique des champignons, l'équipe de Christopher Schardl, de l'université du Kentucky, a montré en 1994 qu'ils avaient pour ancêtres des champignons pathogènes, nocifs pour les plantes qu'ils infectent [5]. Or ces champignons, des *Epichloë*, ont un cycle de vie très différent de celui des *Neotyphodium*. En effet, ils infectent la plante par le biais de leurs spores. Le mycélium du champignon prolifère dans la plante infectée, et la condamne à ne plus se reproduire : sous l'effet du champignon, son inflorescence en croissance se transforme en une masse oblongue jaunâtre, dont la forme évoque une quenouille. Dès lors, il lui est impossible de former des

fleurs et des graines. En revanche, nourri dans la quenouille, l'*Epichloë* produit des spores qui, une fois libérées, infectent de nouvelles plantes, à leur tour privées de descendance. Transformer des *Epichloë* en *Neotyphodium*, c'est donc passer de champignons délétères qui se transmettent d'une plante à ses voisines à des champignons bénéfiques, transmis verticalement d'une plante à ses descendants. Comment cette transition a-t-elle pu se produire ?

Passé inaperçu à l'époque, un élément permettant d'expliquer cette évolution avait déjà été obtenu par Chris Schardl en 1994. Afin de dresser un arbre phylogénétique des endophytes de graminées, il avait séquencé quelques gènes des *Epichloë* et des *Neotyphodium* (les ressemblances dans un gène donné permettent de déterminer la parenté entre espèces). Il avait ce faisant constaté que, chez les *Neotyphodium*, il y avait plusieurs copies de chacun de ces gènes. Ces exemplaires surnuméraires signifiaient que chaque *Neotyphodium* provenait d'une, voire de plusieurs hybridations entre des *Epichloë*.

Il y a quatre ans, en reprenant ces données avec Chris Schardl, l'un d'entre nous (Marc-André Selosse) a pris conscience que le caractère hybride des *Neotyphodium* permettait de proposer

Toujours plus de nouvelles espèces

La liste de nouvelles espèces de champignons endophytes, colonisant des plantes autres que des graminées, ne cesse de s'allonger. Les feuilles des plantes tropicales peuvent renfermer jusqu'à cent espèces par feuille, chacune occupant des territoires millimétriques ! Certains de ces endophytes colonisent tous les tissus, d'autres sont spécifiques d'une espèce végétale, ou d'un organe en particulier. Contrairement aux *Neotyphodium*, la plupart sont transmis à la plante

par le biais de spores. Au-delà de leur hyperdiversité, on commence à cerner la diversité de leurs rôles, notamment protecteurs : un *Curvularia* protège des coups de chaud une graminée des sols volcaniques de Yellowstone, les endophytes du cacao protègent les feuilles contre les champignons parasites. Cela dit, si tous les endophytes récemment identifiés contribuent à modifier le fonctionnement de la plante, tous ne sont sans doute pas bénéfiques.



La fétuque élevée, *Festuca arundinacea*, s'adapte facilement aux milieux les plus divers. Cette graminée peut mesurer jusqu'à 2 mètres à la floraison. © BRUNO PETRIGLIA / BIOSPHOTO

une hypothèse sur la façon dont des *Epichloë* avaient évolué vers une propagation par graine et une relation bénéfique à la plante [6].

Imaginons en effet des hybrides d'*Epichloë* dans la quenouille d'une plante infectée. Ils ne peuvent pas s'y reproduire. En effet, les spores sont formées par un processus, la méiose, qui regroupe deux à deux les chromosomes semblables. Or, cela est impossible dans un hybride, dont les chromosomes proviennent de parents différents. Ni le champignon hybride ni la plante ne peuvent alors se reproduire. Supposons toutefois qu'un de ces hybrides soit un mutant incapable de provoquer la formation de la quenouille. Dans ce cas, l'inflorescence de la plante n'est pas endommagée. Elle forme donc des graines, que l'hybride colonise comme n'importe quel autre tissu de son hôte, et utilise pour se propager (la formation de graines endophytées se produit d'ailleurs à faible fréquence avec certains *Epichloë*). Un tel hybride, et lui seul, peut survivre : il est fortement sélectionné, et, avec lui, la propagation par graine.

Avantage adaptatif. Reste à expliquer comment le champignon est devenu bénéfique pour la plante, et de façons aussi variées. Là encore, le hasard

des mutations et la sélection naturelle ont fait leur œuvre. Supposons qu'un des hybrides se propageant par les graines confère à sa plante hôte un quelconque avantage adaptatif, permettant de produire plus de graines : il sera lui-même capable, par ce biais de se reproduire mieux ! Ce *Neotyphodium* mutant, à la fois capable de se propager par les graines et bénéfique pour son hôte, sera donc sélectionné et transmis aux descendants de sa plante hôte, de génération en génération. Et l'on aboutit à la situation, prédictible du point de vue évolutif, où la transmission verticale sélectionne uniquement des champignons bénéfiques à l'hôte. C'est le cas du *Neotyphodium coenophialum* de Kentucky 31.

Oui, mais voilà : les données obtenues avec d'autres graminées ne s'inscrivent pas parfaitement dans un tel scénario. En 1997, une équipe franco-britannique avait découvert, en étudiant des populations de graminées naturelles de *Lolium perenne* en France, que la fréquence des plantes infectées variait de 0 % à 100 % entre les différentes populations. Et depuis, des résultats analogues concernant d'autres espèces de graminées ont été publiés. Autrement dit, dans certaines populations d'une même espèce, peuvent coexister des individus qui sont endophytés, et d'autres qui ne le sont pas. Or, si l'on part du principe que la colonisation par le champignon est toujours avantageuse pour la plante, les individus non colonisés devraient être éliminés...

Comment expliquer cela ? L'hypothèse la plus plausible est que, contrairement à ce que nous avons longtemps pensé, l'endophyte ne soit pas systématiquement bénéfique pour la plante. En 2003, l'équipe de Stanley Faeth, aujourd'hui à l'université de Caroline du Nord, a présenté des résultats en ce sens. Un suivi de trois ans mené sur *Festuca arizonica*, dans les prairies naturelles du sud des États-Unis et du Mexique, a montré que cette espèce avait une croissance plus faible lorsqu'elle était infectée par l'endophyte [7].

D'un côté, ce constat pose problème. En effet, l'existence d'endophytes ayant un coût pour la plante est difficilement

conciliable avec le présupposé théorique selon lequel la transmission verticale sélectionne logiquement des champignons bénéfiques. C'est un point encore peu clair, qui a conduit à imaginer que certains *Neotyphodium* puissent échapper à la transmission verticale en produisant des spores sans former de quenouille, ni faire de méiose.

Transmission imparfaite. Mais d'un autre côté, cela permet d'avancer une hypothèse expliquant l'existence de populations dépourvues d'individus infectés : les champignons ne se maintiendraient que dans les habitats où les avantages pour la plante l'emportent sur le coût. Par exemple, dans les milieux secs (car le champignon favorise la tolérance de la plante à la sécheresse) ou dans les milieux fortement pâturés (car il repousse les herbivores). Dans les habitats moins stressants, les *Neotyphodium* ne seraient pas avantageux, et ne se maintiendraient pas.

Reste que, dans les populations naturelles, la fréquence d'infection est souvent intermédiaire, avec 20 %, 50 % ou 80 % de plantes endophytées. Comment expliquer de tels chiffres ? En 2008, l'équipe de Claudio Marco Ghersa, de la faculté d'agronomie de Buenos Aires, a proposé une hypothèse complémen-

taire, sur la base d'un modèle théorique de dynamique des populations : le champignon ne parviendrait pas toujours dans les graines [8]. C'est ce qu'on appelle la transmission imparfaite.

Depuis, des expériences conçues pour l'évaluer ont prouvé sa validité sur certaines espèces. En particulier, l'une d'entre nous (Anaïs Gibert) a récemment démontré, sur des populations de la graminée alpine *Festuca eskia*, que la transmission de l'endophyte est effectivement imparfaite : le champignon ne se retrouve pas toujours dans les graines. Or la fréquence à laquelle cette transmission imparfaite se produit est inversement proportionnelle à la fréquence d'infection dans chaque population de *Festuca eskia* considérée. Voilà qui prouve que la transmission imparfaite joue un rôle important dans la coexistence d'individus endophytés et non endophytés dans certaines populations. Plus largement, l'étude de l'association entre les endophytes et les graminées démontre aussi combien parler de bénéfice mutuel n'a de sens qu'à un moment et dans un environnement donné : le bénéfice apporté par le champignon étant dépendant du milieu, la symbiose, loin d'être toujours utile à la plante, comme on l'a longtemps pensé, est réversible à tout moment. ■



Cette graminée présente une « quenouille » caractéristique d'une infection par un champignon *Epichloë*. Celui-ci y forme des spores qui, une fois libérées, lui permettent de se propager.

[1] J.F. White et M.S. Torres, *Physiol. Plant*, 138, 440, 2010.

[2] J.J. Pan et K. Clay, *Proc. R. Soc. B*, 270, 1585, 2003.

[3] C.A. Robert et al., *Neotyphodium in cool-season grasses*, Blackwell Publishing, 2005.

[4] G.E. Aiken et al., *J. Anim. Sci.*, 85, 2337, 2007.

[5] H.F. Tsai et al., *PNAS*, 91, 2542, 1994.

[6] M.A. Selosse et C.L. Schardl, *New Phytol.*, 173, 452, 2007.

[7] S.H. Faeth et T.J. Sullivan, *American Naturalist*, 161, 310, 2003.

[8] P.E. Gundel et al., *Proc. R. Soc. Lond.*, 275, 897, 2008.

Pour en savoir plus

➤ Anaïs Gibert, *Rôle des symbioses endophytes-graminées dans la dynamique et l'adaptation des graminées hôtes*, thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse, 2011.

➤ G.P. Cheplick et S.H. Faeth, *Ecology and Evolution of the Grass-Endophyte Symbiosis*, Oxford University Press, 2009.

➤ M.A. Selosse, *La Symbiose, structures et fonctions, rôle écologique et évolutif*, Vuibert, 2000.