

Compatibilité entre champignons symbiotiques et orchidées méditerranéennes

Michele RODDA, Enrico ERCOLE, Silvia PEROTTO, Mariangela GIRLANDA

Dipartimento di Biologia Vegetale, Università di Torino, Viale PA Mattioli 25, 10125 Torino, Italie

Abstract – Compatibility between symbiotic fungi and Mediterranean orchids. Upon germination, all orchids rely on seed-colonizing fungi as a source of water and carbon for protocorm development. At adulthood, orchids featuring a lack of photosynthetic activity (due to their achlorophyllous nature) or reduced photosynthetic efficiency (such as forest species, growing in deeply shaded habitats) still depend on symbiotic fungi for organic carbon supply. By contrast, green orchids thriving in exposed, meadow habitats are believed to emancipate themselves from fungal dependency as soon as they form fully developed leaves, thus acquiring photosynthesis-derived organic carbon.

We have investigated symbiotic associations between soil fungi and Mediterranean meadow orchids (mostly *Orchis*, *Ophrys*, *Anacamptis* and *Serapias* species). Molecular identification of the fungal symbionts of these orchids at the adult stage revealed that, although some orchid species co-occurring in some meadows associate non-specifically with the same fungi, other species feature specific associations with fungi (*Tulasnella* spp.) related to symbionts of forest orchids. Identification of fungal isolates obtained from roots allowed to address specificity of the association at juvenile stages of the orchid life cycle. Germination and symbiotic development assays indicated that fungi isolated from adult plants may be incompatible with orchid seeds or protocorms. The same tests have revealed occurrence of intraspecific variability in fungal performances. These findings underline the need of taking fungal symbiotic associations into account when envisaging conservation plans for green orchids.

Résumé – Au moment de la germination, toutes les orchidées sont dépendantes de champignons qui envahissent la graine en lui apportant l'eau et le carbone nécessaires au développement d'un protocorme. A l'âge adulte, les orchidées ayant une activité photosynthétique absente (par manque de chlorophylle) ou réduite (telles que les espèces forestières, qui colonisent des milieux peu éclairés) continuent à dépendre de leurs champignons symbiotes pour l'apport de carbone organique. En revanche, on considère généralement que les orchidées vertes de milieu ouvert s'affranchissent de cette dépendance au moment où elles forment des feuilles développées, et produisent donc leur propre matière organique par photosynthèse.

Nous avons étudié les associations entre champignons et orchidées méditerranéennes de prairie (espèces d'*Orchis*, *Ophrys*, *Anacamptis* et *Serapias* surtout). L'identification moléculaire des symbiotes racinaires de ces orchidées à l'âge adulte montre que, alors que certaines espèces cohabitent dans la même pelouse s'associent de manière non spécifique aux mêmes cortèges de champignons, d'autres sont spécifiquement colonisées par des espèces fongiques (*Tulasnella* spp.) proches de celles trouvées dans les racines d'orchidées forestières. La possibilité d'identifier précisément les champignons isolés des racines nous a permis aussi de vérifier la spécificité d'interaction dans les stades juvéniles de la plante. Tests de germination et développement symbiotique ont démontré que les souches fongiques isolées à partir d'adultes ne sont pas toujours compatibles avec la graine ou le protocorme, et qu'il existe à ce sujet une variabilité intraspécifique pour les champignons. Ces données soulignent la nécessité de prendre en compte les associations orchidées-champignons dans les projets de conservation d'espèces vertes.

INTRODUCTION

Dans la nature, pour que la graine des orchidées, minuscule et quasiment dépourvue de réserves, puisse germer et atteindre le stade de protocorme, il est nécessaire qu'elle soit infectée par un champignon symbiote fournissant eau et sels minéraux ainsi que du carbone (C) organique. Germination et premiers stades de développement dépendent donc d'une stratégie mycohétérotrophe, c'est-à-dire d'une nutrition carbonée assurée par les champignons symbiotes (Leake, 1994). A l'âge adulte, les orchidées non-chlorophylliennes, faute de photosynthèse, continuent nécessairement à dépendre de leurs partenaires fongiques pour l'apport du C organique (Leake, 2004, 2005; Bidartondo, 2005; Waterman & Bidartondo, 2008; Rasmussen & Rasmussen, 2009). En revanche, on considère généralement que les orchidées "vertes" s'affranchissent de cette dépendance lorsqu'elles forment des feuilles développées et produisent donc leur propre matière organique par photosynthèse. Les espèces ayant une activité photosynthétique réduite, toutefois, telles que les espèces de sous-bois, continuent à recevoir du C par leurs champignons, qui complètent ainsi leur nutrition, et sont par conséquent dites mixotrophes (Selosse & Roy, 2009). Cela peut être démontré grâce à l'analyse des teneurs isotopiques naturelles du C (le rapport entre les isotopes C12 et C13). En effet, les espèces mixotrophes ont une signature isotopique différente des plantes complètement autotrophes environnantes, étant notamment enrichies en C13 par rapport à celles-ci (Gebauer & Meyer, 2003 ; Bidartondo *et al.*, 2004 ; Julou *et al.*, 2005 ; Whitridge & Southworth, 2005 ; Zimmer *et al.*, 2007). Puisque cette condition peut s'expliquer par la colonisation d'habitats caractérisés par un ensoleillement réduit, on peut se demander qu'est-ce qu'il en est des orchidées vertes de milieu ouvert, dont l'activité photosynthétique n'est pas restreinte par cette contrainte environnementale. Ces orchidées restent cependant méconnues quant à leurs stratégies de nutrition et pour ce qui concerne l'identité de leurs champignons mycorrhiziens. Jusqu'à l'introduction de la biologie moléculaire l'on présumait qu'elles étaient associées de manière non spécifique aux Rhizoctonias (Taylor *et al.*, 2002). Ce terme générique est fréquemment utilisé pour désigner des champignons basidiomycètes, faciles à obtenir en culture, regroupés du fait de leurs ressemblances morphologiques au stade asexué (notamment au niveau de leur mycelium, la seule structure que l'on obtient en effet en culture). Comme la biologie moléculaire l'a démontré, il s'agit en réalité d'un ensemble polyphylétique (hétérogène) de basidiomycètes appartenant à des familles/ordres distincts (Taylor *et al.*, 2002 ; Weiss *et al.*, 2004). Par conséquent, la connaissance de l'identité des symbiotes de ces orchidées et de leur spécificité d'association a été longtemps négligée (Waterman & Bidartondo, 2008). Qui plus est, la quasi-totalité des recherches concernant ces orchidées a été consacrée à des espèces d'Australie, généralement étudiées avec des méthodes classiques de mise en culture des symbiotes (Rasmussen, 2002 ; Bonnardeaux *et al.*, 2007 ; Dearnaley, 2007).

Nos recherches à Turin ont porté sur des espèces méditerranéennes [entre autres, *Orchis purpurea* Huds., *Ophrys fuciflora* (F.W Schimdt) Moench, *Anacamptis laxiflora* (Lam.) R.M. Bateman, et *Serapias vomeracea* (N. L. Burman) Briquet], poussant en mélange dans une steppe calcicole à brome située à Cosseria (Liguria, Italie du Nord), un site hébergeant une diversité considérable en orchidées. La présence, sur ce site, de prairies où les quatre espèces cohabitent en différentes combinaisons nous a fourni un scénario idéal pour vérifier l'existence d'une spécificité d'association avec les champignons mycorrhiziens, et pour comparer les cortèges de partenaires fongiques, identifiés grâce à l'analyse des régions ITS de l'ADN nucléaire, en condition de sympatrie et d'allopatie. L'identification moléculaire des champignons dans les racines de plantes adultes des quatre espèces a été abordée à la fois par l'analyse de l'ADN fongique extrait directement des racines, ainsi que par la mise en culture des champignons. La possibilité d'identifier précisément les champignons isolés nous a

permis aussi de vérifier la spécificité d'interaction dans les stades juvéniles de la plante, à travers la mise en œuvre d'essais de développement symbiotique.

MATERIEL ET METHODES

Identification des champignons mycorrhiziens

Afin d'identifier les champignons mycorrhiziens d'*O. purpurea*, *O. fuciflora*, *A. laxiflora* et *S. vomeracea*, des échantillons de racines d'exemplaires adultes des quatre espèces d'orchidées ont été prélevés à l'époque de floraison dans les années 2005-2007. Les échantillons ont été principalement prélevés dans le site de Cosseria, Ligurie, Italie (N 44,38259; E 8,25623, à 410-450 d'altitude), caractérisé par une végétation à *Festuco-Brometalia*. Pour chaque espèce, des exemplaires provenant de formations végétales semblables en Toscane et Campanie ont aussi été analysés. Les racines ont été lavées sous eau courante, brossées délicatement et soumises à sonication pour éliminer les contaminants superficiels. Les portions racinaires mycorrhizées ont été utilisées directement pour la mise en culture des champignons mycorrhiziens, ou conservées à -80°C pour l'extraction directe d'ADN.

L'ADN a été extrait de fragments de racines selon la méthode de Doyle & Doyle (1990). Le DNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN) a été utilisé pour l'extraction d'ADN à partir des myceliums. La région ITS de l'ADN ribosomique nucléaire a été amplifiée à l'aide des couples d'amorces ITS1F/ITS4 (génériques pour la région ITS fongique; White *et al.*, 1990), ITS1F/ITS4B (spécifiques pour les basidiomycètes; Gardes & Bruns, 1993) et ITS1/ITS4-Tul (spécifiques pour les Rhizoctonias du groupe *Tulasnella*; Taylor, 1997). Les produits amplifiés ont été clonés dans des vecteurs pGEM-T (Promega) Vingt clones ont été choisis au hasard pour chaque exemplaire d'orchidée et ont été digérés par les enzymes *AluI* et *HhaI*. Un représentant de chacun des différents profils RFLP, a été séquencé à l'aide des mêmes amorces utilisées pour l'amplification. Les séquences ont été utilisées pour des recherches BLASTN sur le site du National Center for Biotechnology Information (NCBI, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Des alignement ont été réalisés à l'aide du logiciel CLUSTALX et utilisés pour des analyses phylogénétiques Neighbour-joining (NJ) avec le logiciel PAUP 4.0.

Pour la mise en culture des champignons mycorrhiziens, 1-2 portions de racine pour chaque exemplaire d'orchidée ont été stérilisées par de l'hypochlorite de sodium pendant 30 s et ont été ensuite lavées trois fois avec de l'eau stérile. Au moins 8 portions racinaires longues de 3-5 mm ont été déposées sur milieu de culture MEA (Malt Extract Agar ; 20 g extrait de malt, 20 g agar l⁻¹) additionné de gentamycine (40 mg l⁻¹) en boîtes de Petri. Les boîtes de Petri ont été incubées à température du laboratoire pendant au moins 2 mois afin de permettre le développement des champignons à plus lente croissance.

Essais de germination et développement symbiotique

Les champignons mycorrhiziens isolés des racines ont été utilisés aussi pour la mise en place d'essais de germination et développement symbiotique de *A. laxiflora* et *S. vomeracea*. Des capsules ont été collectées sur plusieurs plantes dans des populations des deux espèces à Cosseria. Les fruits ont été désinfectés et après leur ouverture, la vitalité des graines a été vérifiée par le test du TTH (chlorure de triphényl tetrazolium). Après stérilisation avec hypochlorite de sodium (0,5% de Na actif), les graines ont été déposées sur papier filtre stérile dans des boîtes de Petri contenant du milieu de culture à base de farine d'avoine (Oatmeal Agar). Les boîtes, inoculées au centre avec les souches fongiques, ont été incubées à 20°C, à l'obscurité, pendant 30 jours. Le renflement des graines, puis la formation des protocormes ont été observés. De jeunes plantes chlorophylliennes ont été obtenues à partir des graines qui avaient atteint le stade de protocorme.

RESULTATS

Identification des champignons mycorrhiziens

L'identification moléculaire des champignons mycorrhiziens dans les racines d'exemplaires adultes d'*O. purpurea*, *O. fuciflora*, *A. laxiflora* et *S. vomeracea* a montré que les cortèges de partenaires fongiques des quatre espèces d'orchidées sont dominés par des *Rhizoctonias* appartenant au groupe *Tulasnella* (64% des séquences de *Rhizoctonia*), suivies par des *Rhizoctonias* appartenant à *Ceratobasidium* (30% des séquences), et, dans le cas de *A. laxiflora* et *S. vomeracea* à *Sebacina* (6% des séquences). Aucune des séquences ITS obtenues ne présentait 100% d'identité avec les séquences d'espèces connues de *Tulasnella*, *Ceratobasidium* et *Sebacina*. Ces séquences identifient donc de nouveaux OTUs (« Operational Taxonomic Units », Unités Taxonomiques Opérationnelles) au sein de ces genres fongiques.

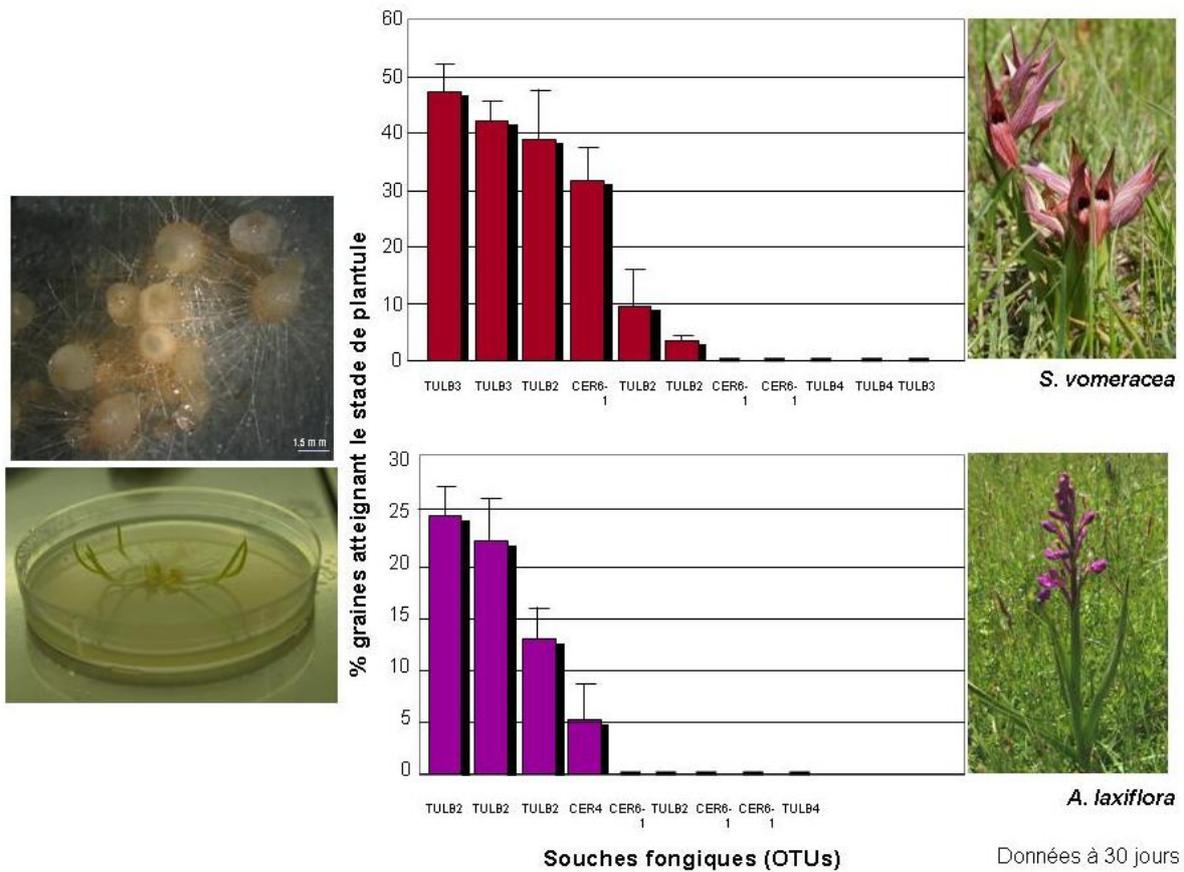


Figure 1. Proportion de graines de *Serapias vomeracea* et *Anacamptis laxiflora* atteignant le stade de plantule suite à l'association symbiotique par différentes souches de *Rhizoctonia*, isolées d'exemplaires adultes des mêmes espèces, appartenant à différents OTUs (« Operational Taxonomic Units », Unités Taxonomiques Opérationnelles) de *Tulasnella* (TUL) et *Ceratobasidium* (CER).

Ces OTUs ont été notamment définis comme groupes de séquences, émergeant dans les analyses phylogénétiques effectuées, qui présentaient au moins 97% d'identité entre elles. La distribution des OTUs de *Tulasnella*, *Ceratobasidium* et *Sebacina* chez les quatre espèces d'orchidées examinées (Tableau I) montre que les orchidées cohabitant dans la même pelouse peuvent s'associer de manière spécifique à des champignons différents, comme il arrive en particulier pour *O. purpurea* et *O. fuciflora*. Enfin, les exemplaires d'une même espèce

d'orchidée prélevés dans des sites différents étaient généralement colonisés par les mêmes cortèges de champignons, ce qui suggère l'absence d'une spécificité géographique.

Tableau 1. Présence des OTUs (« Operational Taxonomic Units », Unités Taxonomiques Opérationnelles) de *Rhizoctonia* identifiées au moyen de l'analyse des séquences d'ADN ITS, appartenant aux genres *Tulasnella* (TUL), *Ceratobasidium* (CER) et *Sebacina* (SEB), dans les racines des exemplaires d'*Anacamptis laxiflora* (AL), *Serapias vomeracea* (SV), *Orchis purpurea* (OP) et *Ophrys fuciflora* (OF) analysés. X, présence dans ≤ 20% exemplaires ; XX, présence dans 21-54% exemplaires ; XXX, présence dans ≥ 55% exemplaires.

| | TUL | TUL | TUL | TUL | TUL | TUL | TUL | TUL | TUL | TUL | CER | SEB | SEB | SEB | |
|----|------|------|------|------|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|
| | AI-1 | AI-2 | AI-3 | AI-4 | AI-5 | A2 | B1 | B2 | B3 | B4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6-1 | 6-2 | 1 | 2 | 3 | |
| AL | | | | | | X | X | XX | X | X | | | X | | X | XX | | | | | X |
| SV | | | | | | X | X | XX | XXX | X | | | | | | XX | | X | X | | X |
| OP | | | X | XXX | X | | | | | X | | | | X | | | X | | | | |
| OF | X | XXX | | | | | | X | X | | XX | X | | | | X | | | | | |

Essais de germination et développement symbiotique

Dans le cas d'*A. laxiflora* et de *S. vomeracea* le semis *in vitro* dans les conditions décrites auparavant a démontré que les deux espèces peuvent, parfois, germer en l'absence de symbionte (le pourcentage de graines germant en l'absence de champignons compatibles étant de 3% et 18% pour les deux espèces respectivement). Toutefois, plusieurs souches fongiques ont permis un degré de germination significativement supérieur. En plus, en l'absence de champignons compatibles, le développement ne se poursuit pas au-delà du renflement des graines. La réalisation du stade de protocorme et ensuite de plantule sont donc conditionnés par l'établissement d'un rapport symbiotique.

La comparaison des pourcentages de graines atteignant le stade de plantule suite à l'association symbiotique avec différentes souches de *Rhizoctonia*, appartenant à différents OTUs de *Tulasnella* et *Ceratobasidium* (Figure 1) suggère l'existence d'une variabilité intraspécifique pour ce qui concerne l'efficacité symbiotique des *Rhizoctonia*s utilisées (voire, par exemple, les performances différentes au sein de l'espèce de *Ceratobasidium* indiquée comme OTU CER6_1, ou de l'espèce de *Tulasnella* TULB3). Les résultats obtenus montrent aussi que les souches isolées d'exemplaires adultes ne sont pas toujours compatibles avec la graine.

DISCUSSION

Dans la nature, l'efficacité de la symbiose qui s'établit entre les plantes et leurs microorganismes, en termes de bénéfices reçus par la plante, varie en fonction de l'identité génétique des partenaires. La spécificité d'association [préférence de partenaire(s)] représente donc un aspect important des associations symbiotiques entre plantes et microorganismes. La symbiose mycorrhizienne (interaction entre racines des plantes terrestres et champignons du sol) est généralement non-spécifique, puisque la plante s'associe normalement avec plusieurs partenaires fongiques (Bruns *et al.*, 2002 ; Roy *et al.*, 2008 ; Smith & Read, 2008). Une spécificité des associations mycorrhiziennes se rencontre toutefois dans des situations particulières. Ainsi, chez les plantes mycohétérotrophes (MH) qui dépendent de leurs champignons mycorrhiziens pour ce qui concerne le C organique, la spécificité de cette symbiose représente une règle quasiment absolue. Les seules exceptions connues à présent concernent des orchidées MH tropicales (Franke *et al.*, 2006 ; Roy *et al.*, 2009), ce qui peut suggérer une particularité fonctionnelle des plantes MH et/ou des champignons mycorrhiziens en milieu tropical (Roy *et al.*, 2009). Les espèces mixotrophes de forêt en milieu tempéré

présentent un degré variable de spécificité mycorrhizienne ainsi que de pourcentage de C organique d'origine fongique reçu par la plante. Cela peut s'interpréter comme indication d'une forte influence de l'environnement sur le degré d'hétérotrophie de ces plantes (Bidartondo *et al.*, 2004 ; McCormick *et al.*, 2004, 2006 ; Julou *et al.* 2005 ; Shefferson *et al.*, 2005 ; Abadie *et al.*, 2006 ; Girlanda *et al.*, 2006).

Les résultats de nos analyses concernant quatre espèces d'orchidées méditerranéennes de prairie montrent que les orchidées de milieu ouvert peuvent aussi présenter une préférence de partenaire(s). Il est intéressant de constater que, au moins dans le cas d'*O. purpurea*, cette spécificité peut s'accorder aussi avec l'hypothèse d'une corrélation entre degré de spécificité d'association mycorrhizienne et degré d'hétérotrophie, et donc de dépendance du C d'origine fongique. L'analyse des teneurs isotopiques des quatre espèces, réalisée en collaboration avec Heiko Liebel et Gerhard Gebauer (Université de Bayreuth, Allemagne), a indiqué qu'*O. purpurea* utilise soit le C issu de sa propre photosynthèse soit le C issu des champignons mycorrhiziens, et peut par conséquent être qualifiée de mixotrophe. Cette donnée prouve que cette stratégie trophique mixte est plus répandue qu'on ne le croyait, et renforce l'idée que les exigences particulières de la symbiose (telles que l'apport de C organique à la plante) peuvent accroître la spécificité d'association. Il a été suggéré que la divergence, pour ce qui concerne la préférence pour les partenaires fongiques, entre deux variétés d'une même espèce d'orchidée pourrait représenter une indication de la contribution de la spécificité mycorrhizienne à la diversification évolutive des orchidées (Taylor *et al.*, 2003). Chez le genre *Cypripedium*, l'association avec des groupes particuliers de champignons est apparemment conservée pendant l'évolution (Shefferson *et al.*, 2007). En accord avec l'idée de la « pré-adaptation », l'hypothèse peut être avancée que la capacité des espèces de prairie de s'associer à des champignons pouvant leur fournir de la matière organique pourrait avoir préparé le terrain, au cours de l'évolution des orchidées, pour la colonisation des milieux forestiers, où la photosynthèse est limitée.

Les retombées de nos résultats peuvent concerner tant le domaine fondamental en permettant une meilleure compréhension de la biologie (ainsi que, peut-être de l'évolution) de ces plantes, que celui des applications en mettant à disposition de nouvelles ressources utilisables dans des programmes de conservation. Les indications fournies par les essais de germination et de développement symbiotique, bien qu'obtenues dans des conditions de laboratoire, s'accordent avec des expériences de terrain réalisées par d'autres auteurs. Enfouissement de « seed packets » (sachets en toile contenant les graines), suivi par l'identification moléculaire des champignons associés aux graines, plantules et adultes de *Cephalanthera* spp. ont indiqué que dans la nature aussi, le nombre de partenaires fongiques est plus réduit chez les plantules qu'à l'âge adulte, ou chez les graines (Bidartondo & Read, 2008). Ces données soulignent la nécessité de prendre en compte les associations orchidées-champignons dans les projets de conservation des orchidées photosynthétiques.

Bibliographie

- Abadie J.C., Püttsepp Ü., Gebauer G., *et al.* 2006. *Cephalanthera longifolia* (Neottieae, Orchidaceae) is mixotrophic: a comparative study between green and non-photosynthetic individuals. Canadian Journal of Botany 84: 1462-1477.
- Bidartondo M.I. & Read D.J. 2008. Fungal specificity bottlenecks during orchid germination and development. Molecular Ecology 17: 3707-3716.
- Bidartondo M.I. 2005. The evolutionary ecology of myco-heterotrophy. New Phytologist 167: 335-352.
- Bidartondo M.I., Burghardt B., Gebauer G., Bruns T.D. & Read D.J. 2004. Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of mycorrhizal liaisons between forest

- orchids and trees. Proceedings of the Royal Society London Series B – Biological Sciences 271: 1799-1806.
- Bidartondo M.I., Burghardt B., Gebauer G., *et al.* 2004. Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of mycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. Proceedings of the Royal Society London Series B – Biological Sciences 271: 1799-1806.
- Bonnardeaux Y., Brundrett M., Batty A., *et al.* 2007. Diversity of mycorrhizal fungi of terrestrial orchids: compatibility webs, brief encounters, lasting relationships and alien invasions. Mycological Research 111: 51-61.
- Bruns T.D., Bidartondo M.I. & Taylor D.L. 2002. Host specificity in ectomycorrhizal communities: what do the exceptions tell us? Integrative and Comparative Biology 42: 352-359.
- Dearnaley J.D.W. 2007. Further advances in orchid mycorrhizal research. Mycorrhiza 17: 475-486.
- Doyle J.J. & Doyle J.L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus 12: 13-15.
- Franke T., Beenken L., Doring M., *et al.* 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi of the Glomus-group A lineage (Glomerales; Glomeromycota) detected in myco- heterotrophic plants from tropical Africa. Mycological Progress 5: 24-31.
- Gardes M. & Bruns T.D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for Basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts. Molecular Ecology 2: 113-118.
- Gebauer G. & Meyer M. 2003. ¹⁵N and ¹³C natural abundance of autotrophic and mycoheterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association. New Phytologist 160: 209-223.
- Girlanda M., Selosse M.A., Cafasso D., *et al.* 2006. Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal Russulaceae. Molecular Ecology 15: 491-504.
- Julou T., Burghardt B., Gebauer G., *et al.* 2005. Mixotrophy in orchids: insights from a comparative study of green individuals and nonphotosynthetic individuals of *Cephalanthera damasonium*. New Phytologist 166: 639-653.
- Julou T., Burghardt B., Gebauer G., *et al.* 2005. Mixotrophy in orchids: insights from a comparative study of green individuals and nonphotosynthetic individuals of *Cephalanthera damasonium*. New Phytologist 166: 639-653.
- Leake J.R. 1994. The biology of myco-heterotrophic ('saprophytic') plants. New Phytologist 127: 171-216.
- Leake J.R. 2004. Myco-heterotroph/epiparasitic plant interactions with ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi. Current Opinions in Plant Biology 7: 422-428.
- Leake J.R. 2005. Plants parasitic on fungi: unearthing the fungi in myco-heterotrophs and debunking the "saprophytic" plant myth. Mycologist 19: 113-122.
- McCormick M.K., Whigham D.F. & O'Neill J. 2004. Mycorrhizal diversity in photosynthetic terrestrial orchids. New Phytologist 163: 425-438.
- McCormick M.K., Whigham D.F., Sloan D., O'Malley K., Hodkinson B. 2006. Orchid-fungus fidelity: a marriage meant to last? Ecology 87: 903-911.
- Rasmussen H.N. & Rasmussen F.N. 2009. Orchid mycorrhiza: implications of a mycophagous life style. Oikos 118: 334-345.
- Rasmussen H.N. 2002. Recent developments in the study of orchid mycorrhiza. Plant & Soil 244: 149-163.
- Roy M., Dubois M.P., Proffit M., *et al.* 2008. Evidence from population genetics that the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria amethystina* is an actual multihost symbiont. Molecular Ecology 17: 2825-2838.

- Roy M., Watthana S., Stier A., *et al.* 2009. Mycoheterotrophic orchids from Thailand tropical forests associate with a broad diversity of ectomycorrhizal fungi. BMC, (in press).
- Selosse M.A. & Roy M. 2009. Green plants that feed on fungi: facts and questions about mixotrophy. Trends in Plant Sciences 14: 64-70.
- Shefferson R.P., Weiß M., Kull T., *et al.* 2005. High specificity generally characterises mycorrhizal association in rare lady's slipper orchids, genus *Cypripedium*. Molecular Ecology 14: 613-626.
- Smith S.E. & Read D.J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Third Edition. Academic Press, Elsevier.
- Taylor D.L. 1997. The evolution of myco-heterotrophy and specificity in some North American orchids. PhD dissertation, University of California at Berkeley.
- Taylor D.L., Bruns T.D., Leake J.R. & Read D.J. 2002. Mycorrhizal specificity and function in myco-heterotrophic plants. In: MGA Van der Heijde & IR Sanders (eds). *Mycorrhizal Ecology*. pp. 375-413. Springer-Verlag, Berlin.
- Taylor D.L., Bruns T.D., Szaro T.M., Hodges S.A. 2003. Divergence in mycorrhizal specialization within *Hexalectris spicata* (Orchidaceae), a non-photosynthetic desert orchid. American Journal of Botany 90: 1168–1179.
- Waterman R.J. & Bidartondo M.I. 2008. Deception above, deception below: linking pollination and mycorrhizal biology of orchids. Journal of Experimental Botany 59: 1085-1096.
- Weiß M., Selosse M.A., Rexer K.H., Urban A., Oberwinkler F. 2004. *Sebacinales*: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential. Mycological Research 108: 1003–1010.
- White T.J., Bruns T.D., Lee S.B. & Taylor J.W. 1990. Amplifications and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: MA Innis, DH Gelfand, JJ Sninsky & TJ White (eds). *PCR protocols: A Guide to Methods and Applications*. pp. 315-322. Academic Press, New York.
- Whitridge H. & Southworth D. 2005. Mycorrhizal symbionts of the terrestrial orchid *Cypripedium fasciculatum*. Selbyana 26: 328–334.
- Zimmer K., Hynson N.A., Gebauer G., *et al.* 2007. Wide geographical and ecological distribution of nitrogen and carbon gains from fungi in pyrolroids and monotropoids (Ericaceae) and in orchids. New Phytologist 175: 166-175.

CAHIERS
DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE D'ORCHIDOPHILIE

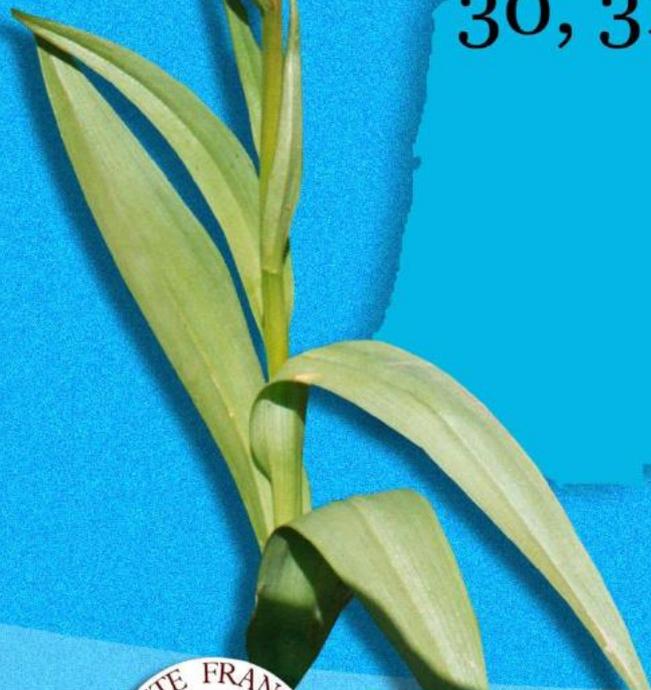
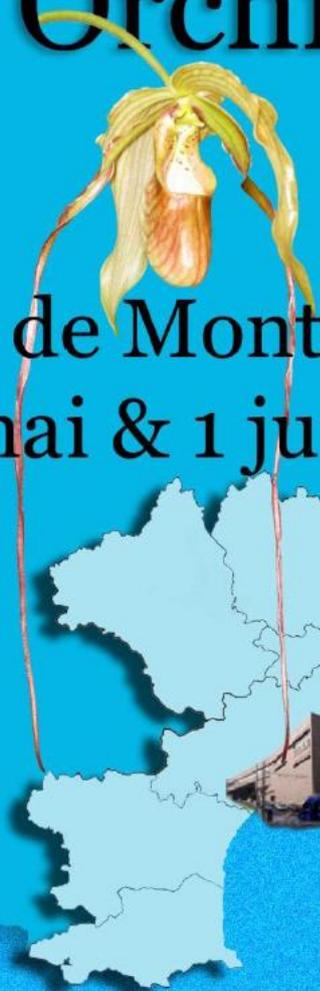
N°7 - 2010



Actes du

15^e colloque sur les Orchidées

Corum de Montpellier
30, 31 mai & 1 juin 2009





**Actes du
15^e colloque
sur les Orchidées
de la
Société Française d'Orchidophilie**

**du 30 mai au 1^{er} juin 2009
Montpellier, Le Corum**



Comité d'organisation :

**Daniel Prat, Francis Dabonneville, Philippe Feldmann, Michel Nicole,
Aline Raynal-Roques, Marc-Andre Seloisse, Bertrand Schatz**

Coordinateurs des Actes

Daniel Prat & Bertrand Schatz

**Affiche du Colloque : Conception : Francis Dabonneville
Photographies de Francis Dabonneville & Bertrand Schatz**

Cahiers de la Société Française d'Orchidophilie, N° 7, Actes du 15^e Colloque sur les orchidées de la Société Française d'Orchidophilie.

ISSN 0750-0386

© SFO, Paris, 2010

Certificat d'inscription à la commission paritaire N° 55828

ISBN 978-2-905734-17-4

Actes du 15^e colloque sur les Orchidées de la Société Française d'Orchidophilie, D. Prat et B. Schatz, Coordinateurs, SFO, Paris, 2010, 236 p.

**Société Française d'Orchidophilie
17 Quai de la Seine, 75019 Paris**