

**DIVERSITE DES SYMBIOSES ECTOMYCORHIZIENNES DANS LES ECOSYSTEMES  
FORESTIERS NATURELS SUR SOLS ULTRAMAFIQUES DE NOUVELLE-  
CALEDONIE**

PAR PRIN Y.<sup>1\*</sup>, DUCOUSSO M.<sup>1</sup>, TASSIN J.<sup>2,3</sup>, BENA G.<sup>4</sup>, JOURAND P.<sup>5</sup>, DUMONTET V.<sup>6</sup>,  
MOULIN L.<sup>4</sup>, CONTESTO C.<sup>4</sup>, AMBROSI J. P.<sup>5,7</sup>, CHAINTREUIL C.<sup>4</sup>, DREYFUS B.<sup>4</sup>, LEBRUN M.<sup>4</sup>,

5

*Dédié à la mémoire de notre ami Nicolas Perrier*

<sup>1</sup> Cirad UMR LSTM, 34398 Montpellier Cedex 5, France.

<sup>2</sup> IAC, Forêt, F-98800 Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

<sup>3</sup> Cirad, UPR Dynamique des forêts naturelles, 34398 Montpellier Cedex 5.

<sup>4</sup> IRD, UMR LSTM, F-34398 Montpellier Cedex 5, France.

<sup>5</sup> IRD, F-98848 Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

<sup>6</sup> CNRS, Laboratoire des plantes médicinales, 98848 Nouméa Cedex, Nouvelle-Calédonie.

<sup>7</sup> CNRS UMR CEREGE, F-13545 Aix-en-Provence, France.

## 1. INTRODUCTION

La Nouvelle-Calédonie est un groupe relativement restreint d'îles (20 000 km<sup>2</sup>), situé dans l'océan Pacifique sud. Son histoire géologique est directement liée à celle du supercontinent Gondwana jusqu'à 80 millions d'années lorsque la marge orientale du Gondwana a commencé à se briser (Veevers, 1986 ; Veevers *et al.*, 1991). Une histoire géologique complexe a conduit à la mise en place de grands gisements de minerai de nickel situés dans le régolithe latéritique, ce qui, selon l'International Nickel Study Group, place cette île au 4<sup>e</sup> rang mondial pour la production de minerai de nickel sur la période 1993-2001.

Le massif du Koniambo est l'un de ces gisements de minerai, tous relativement isolés les uns des autres, dans la province du Nord. Il est en cours d'exploitation par le groupe minier KNS (Xtrata et SMSP consortium) pour établir une mine de nickel à ciel ouvert. Les sols présents sur le massif du Koniambo peuvent être classés comme oxisols fortement altérés, formés d'une majorité (50 à 85 %) d'oxydes de fer nodulaire. Ces sols sont caractérisés par une carence en éléments nutritifs majeurs (N, P, K), des concentrations élevées de métaux lourds toxiques : Fe, Ni, Cr, Co, Mn (Perrier *et al.*, 2006a) et un fort déséquilibre du ratio Ca/Mg.

La flore de Nouvelle-Calédonie comprend environ 3 300 espèces, dont 74,5 % sont endémiques à l'île (Jaffré *et al.*, 2001). Ce taux d'endémisme atteint 90 % sur les terrains ultramafiques, avec environ 1 840 espèces (Jaffré, 1974).

Dans ces conditions édaphiques particulièrement drastiques, les sociétés minières ont la contrainte de procéder à la restauration écologique des sites miniers après exploitation, ce qui est un défi majeur, compte tenu du manque de connaissances sur ces écosystèmes, leur flore et leurs symbioses associées. Ces symbioses, qu'elles soient ectomycorhiziennes (ECM) ou à arbuscules (AM) sont essentielles dans l'adaptation des plantes aux conditions de sol (Jentschke et Godbold, 2000 ; Stahl *et al.*, 1988). En ce qui concerne les symbioses AM, Perrier *et al.* (2006b) ont décrit le statut (fréquence de la colonisation mycorhizienne et intensité) de 10 espèces différentes de plantes dans le massif du Koniambo. Pour les ECM dans ces écosystèmes, quelques informations fragmentaires étaient disponibles soit pour certaines des espèces de plantes étudiées par Perrier *et al.* (2006b), soit à travers la description d'une espèce nouvelle, *Cantharellus garnierii* par

Ducouso *et al.* (2004). Cependant, la diversité et la répartition des symbioses ECM à l'échelle des différents écosystèmes de la végétation endémique restaient à explorer.

L'objectif de cette étude est (i) d'étudier la composition floristique des écosystèmes dans une zone identifiée par la compagnie minière comme étant typique des sites exploités, (ii) de caractériser la diversité des champignons ECM naturellement associés aux plantes ECM au sein de ces écosystèmes.

## **2. MATERIELS ET METHODES**

### **2.1. ETUDE DU SITE**

Le massif du Koniambo est l'un des massifs ultramafiques isolés sur la côte ouest de Nouvelle-Calédonie (fig. 1 A et B). Il a une superficie totale de 381 km<sup>2</sup> et culmine à 930 m. Le climat sur le massif du Koniambo peut être défini par deux saisons différentes, une saison humide allant de janvier à avril (en moyenne 250 mm de précipitations mensuelles) et une saison sèche de mai à décembre (en moyenne 100 mm de précipitations mensuelles).

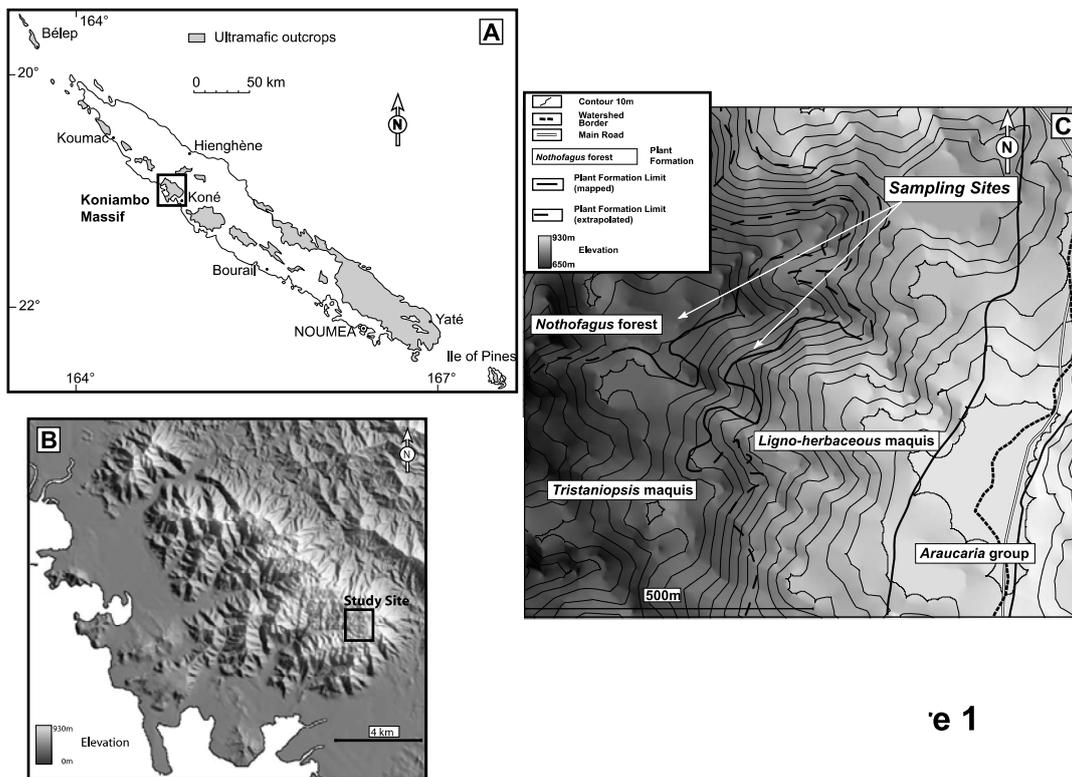
Le régime des vents est généralement constitué par les alizés soufflant selon une direction ESE. La température moyenne du Koniambo varie (à 900 m d'altitude) de 22 °C dans les mois d'été (janvier-mars) à 14 °C en hiver (juillet à septembre).

Le substrat de ce massif est principalement composé d'harzburgite (un type de péridotite formé d'olivine, de minéraux et d'orthopyroxène) avec des inclusions de dunite et de gabbro. L'altération latéritique de ce substrat a conduit à la formation d'un régolithe épais et riche en nickel.

Le site d'échantillonnage est situé dans le bassin versant de la rivière Pandanus sur une pente allant de 883 à 700 m (21° 00' 32" S, 164° 50' 17" E et 21° 00' 25" S, 164° 49' 45" E).

Dans une analyse floristique de l'ensemble du massif, Jaffré (1974) répertorie 650 espèces de plantes réparties en 12 communautés végétales différentes.

Figure 1 : (A) Carte des zones ultramafiques de Nouvelle-Calédonie (en gris), (B) Carte en relief du massif du Koniambo avec le site expérimental, (C) Carte en relief du bassin versant de la rivière Pandanus dans le massif du Koniambo avec localisation des communautés floristiques et des sites d'échantillonnage.



e 1

La végétation est un assemblage de maquis et de forêts. Les maquis peuvent être de différents types, dominés, en dessous de 500 m, par des angiospermes arbustives ou arborescentes (hauteur de 6-10 m) comme *Gymnostoma chamaecyparis* (Poiss. LAS Johnson) ou, de 400 à 900 m, par des espèces arbustives du genre *Tristaniopsis*. Dans les vallées à plus de 600 m, les forêts tropicales sont dominées par *Nothofagus balansae* (Baill.) Steenis et *Nothofagus codonandra* (Baill.) Steenis. La nomenclature botanique est utilisée selon The International Plant Index (2008).

## 2.2. ANALYSES FLORISTIQUES

Les inventaires floristiques ont été réalisés sur 80 parcelles de 100 m<sup>2</sup>, situées au hasard le long d'un gradient altitudinal allant du plateau, à 882 m, au talweg, à 700 m, et incluant

différents types de végétation. Soixante parcelles étaient situées dans le maquis et 20 dans la forêt. Le nombre de parcelles dans chaque type de communauté végétale était approximativement proportionnel à leur surface relative (fig. 1C). L'échelle d'abondance-dominance de Braun-Blanquet a été utilisée pour décrire l'abondance des espèces dans chaque parcelle. Les fréquences ont été déduites des pourcentages de chaque classe selon Braun-Blanquet (Braun-Blanquet *et al.*, 1932). Les données ont été traitées en analyse de correspondances (Greenacre, 1984), à l'aide du logiciel ADE4 (Thioulouse *et al.*, 1997).

### 2.3. SYMBIOSES ECTOMYCORHIZIENNES

Les sporocarpes de champignons ectomycorhiziens (ECM) ont été prélevés à quatre dates différentes (juin et juillet 2002, juillet et décembre 2003), sous les espèces d'arbres identifiés, et tous situés dans les communautés floristiques 3 et 4, dans le même site du bassin de la rivière Pandanus. Chaque sporocarpe a été photographié et répertorié. Un petit fragment de chair ( $\approx 0,5 \text{ cm}^3$ ) de chaque échantillon a été réparti dans 10 tubes en plastique, en présence de Silicagel (Prolabo, France) pour séchage rapide et conservé à température ambiante pour l'extraction d'ADN. Les sporocarpes ont ensuite été séchés à l'air à 40 °C, et déposés à l'herbier de Paris Cryptogamie (PC) (Paris, France). L'identification a été basée sur les caractères macroscopiques et microscopiques des basidiomes. Pour la plupart des spécimens, l'identification n'a pas été possible au niveau de l'espèce (limitée au niveau du genre), les écosystèmes d'origine ayant été très peu étudiés par les taxonomistes (Horak et Mouchacca, 1998). En complément, différents morphotypes (couleur, forme) d'apex ECM de chacune des quatre espèces de plantes ECM ont été prélevés au hasard à partir des racines superficielles. Afin de déterminer leur plante-hôte, ces apex ont été suivis *via* leur racine porteuse jusqu'au tronc de l'arbre porteur. Pour l'extraction d'ADN, les échantillons ECM ont été rapidement séchés en présence de Silicagel (Prolabo, France) et conservés à température ambiante. Des échantillons de même origine et morphotype ont été fixés dans le mélange glycérol/éthanol/eau (1:1:1, V/V/V) pour les observations morphologiques et microscopiques. Pour les racines ECM, des sections ont été réalisées à main levée, puis éclaircies avec une solution d'hypochlorite de sodium à 20 %, rincées à l'eau, et colorées au rouge Congo et observées au microscope. Les racines ont été considérées comme ECM quand elles présentaient un manteau fongique et un réseau de

Hartig. Des échantillons de sol agrégé par du mycélium ont également été récoltés et conservés à 4 °C jusqu'à l'extraction d'ADN. Des nodules d'oxyde de fer, constituant le sol, et colonisés par du mycélium ont été récoltés.

#### **2.4. CARACTERISATION MOLECULAIRE**

Les extractions d'ADN ont été réalisées à partir de chair de sporocarpes séchés, à partir d'une seule pointe ECM, à partir du mycélium du sol ou d'une particule d'oxyde de fer unique à l'aide du DNeasy Plant Mini kit selon les recommandations du fabricant (Qiagen, Courtaboeuf, France). Un fragment d'environ 600 pb de l'espace ribosomique transcrit (ITS) incluant l'ADNr 5,8 S a été amplifié en utilisant les amorces spécifiques ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') et ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990). La réaction PCR a été faite dans un volume total de 25 µl, comprenant de 1 µl d'ADN génomique, 1 uM de chaque amorce, 1,5 unité de Taq ADN polymérase (Amersham Pharmacia Biotech), 200 uM de chaque dNTP, 10 mM Tris-HCl, 50 mM KCl et 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>. L'amplification a été réalisée avec une machine PCR (GenAmp PCR System 2400, Perkin Elmer) programmée comme suit : 1 passage de 5 min à 95 °C, suivi de 35 cycles : 94 °C pendant 30 s, 50 °C pendant 30 s, 72 °C pendant 1 min 30 s, puis une extension finale à 72 °C pendant 7 min. Les produits de PCR ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose (Sigma) dans un tampon TAE 1 % (poids/volume), coloré au bromure d'éthidium à 10 pg/ml dans le tampon. Les bandes d'ADN ont été visualisées par fluorescence sous lumière UV et photographiés.

#### **2.5. SEQUENÇAGE ET PHYLOGENIE**

Le séquençage a été réalisé avec chacune des 2 amorces ITS1 et ITS4. Chaque produit de PCR a été extrait du gel d'agarose et purifié en utilisant le kit QIA (Quick Gel Extraction) suivant les recommandations du fabricant. Le séquençage a été réalisé avec le kit ABI Prism BigDye Terminator (Applied Biosystems, Foster City, Californie) sur un séquenceur Applied Biosystems modèle 310 (Applied Biosystems, Foster City, Californie). Les

séquences d'ADN ont été déposées dans la base de données NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) sous les numéros FJ656000 à FJ656047.

## 2.6. ANALYSES PHYLOGENETIQUES

Les séquences ITS obtenues ont été comparées à la base de données Genbank en utilisant l'algorithme BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>). Des alignements multiples ont été effectués avec Clustal X (Thompson *et al.*, 1997) ou Muscle 3,6 (Edgar, 2004), et corrigés manuellement avec le logiciel Genedoc (Nicholas et Nicholas, 1997). L'analyse phylogénétique a porté sur les séquences ITS complètes (ITS1-5.8S-ITS2) des espèces du genre *Cortinarius* (genre le plus représenté) et ajoutées à l'alignement de Peintner *et al.* (2001) disponible sur Treebase (numéro d'accession S636 : M988-990), enrichi de quelques séquences de *Cortinarius* issues de l'hémisphère sud (voir tableau 1).

Tableau 1. Liste des séquences de référence et des numéros d'accession GenBank utilisés. Les noms et sous-genres utilisés sont ceux de Peintner *et al.* (2001, 2004).

Genre/Espèce	Origine géogr.	Sous-genre	access. GenBank
<i>Cortinarius acutus</i>	Europe	<i>Acutus</i>	AF325578
<i>Cortinarius albocanus</i>	Chili	<i>Myxotelamonia</i>	AF325599
<i>Cortinarius alboviolaceus</i> 1	USA	<i>Telamonia</i>	AF325597
<i>Cortinarius alboviolaceus</i> 2	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325596
<i>Cortinarius allutus</i>	Europe	<i>Allutus</i>	AF325585
<i>Cortinarius amoenus</i>	Chili	<i>Icterinula</i>	AF539721
<i>Cortinarius anomalus</i> 1	Europe	<i>Anomali</i>	AF325581
<i>Cortinarius anomalus</i> 2	Europe	<i>Anomali</i>	AJ236071
<i>Cortinarius armeniacus</i> 1	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325595

<i>Cortinarius armeniacus</i> 2	Europe	<i>Telamonia</i>	AJ236074
<i>Cortinarius armillatus</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AJ236075
<i>Cortinarius austrovenetus</i>	Europe	<i>Dermocybe</i>	AF112147h
<i>Cortinarius bigelowii</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325617
<i>Cortinarius brunneus</i> 1	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325590
<i>Cortinarius brunneus</i> 2	Europe	<i>Telamonia</i>	AJ236076
<i>Cortinarius caelicolor</i>	Chili	<i>Phlegmacium</i>	AF539715
<i>Cortinarius callochrous</i>	Europe	<i>Calochroi</i>	AF325619
<i>Cortinarius campbellae</i> 1	Australie	<i>Purpurascetes</i>	AF325558
<i>Cortinarius campbellae</i> 2	Australie	<i>Phlegmacium</i> Specimen	ref Tr 18323
<i>Cortinarius caninus</i>	USA	<i>Anomali</i>	U56024
<i>Cortinarius caperatus</i> 1	Europe	<i>Rozites</i>	AJ238033
<i>Cortinarius caperatus</i> 2	Europe	<i>Rozites</i>	AF325614
<i>Cortinarius carneolus</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539712
<i>Cortinarius cinereobrunneus</i>	Argentine	<i>Myxotelamonia</i>	AF325600
<i>Cortinarius citriolens</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325607
<i>Cortinarius collinitus</i>	Europe	<i>Myxacium</i>	AF325565
<i>Cortinarius corrosus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325618
<i>Cortinarius corrugatus</i>	USA	<i>Corrugatus</i>	AF325611
<i>Cortinarius cupreorufus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AY174831
<i>Cortinarius delibutus</i> 1	Europe	<i>Delibuti</i>	AJ236065
<i>Cortinarius delibutus</i> 2	Europe	<i>Delibuti</i>	AF325580

<i>Cortinarius elaiochrous</i>	Nelle-Zélande	<i>Cuphocybe</i>	AY033100
<i>Cortinarius elaphinus</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539725
<i>Cortinarius elegantior</i>	Europe	<i>Calochroi</i>	AF325622
<i>Cortinarius evernius</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AJ236077
<i>Cortinarius favrei</i>	Europe	<i>Myxacium</i>	AF325575
<i>Cortinarius flavaurora</i>	USA	<i>Calochroi</i>	AF325621
<i>Cortinarius fragilis</i>	Australie	<i>Purpurascetes</i>	AF325559
<i>Cortinarius fraudulentus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325605
<i>Cortinarius gentilis 1</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325589
<i>Cortinarius gentilis 2</i>	USA	<i>Telamonia</i>	U56026
<i>Cortinarius glaucopus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325604
<i>Cortinarius globuliformis</i>	Australie	<i>Dermocybe</i>	AF325582
<i>Cortinarius hercynicus</i>	Europe	<i>Cortinarius</i>	AF062631
<i>Cortinarius humicola</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325594
<i>Cortinarius laniger 1</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325592
<i>Cortinarius laniger 2</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325591
<i>Cortinarius leucopus</i>	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325593
<i>Cortinarius limonius 1</i>	Europe	<i>Limonius</i>	U56028
<i>Cortinarius limonius 2</i>	Europe	<i>Limonius</i>	AF325588
<i>Cortinarius lividochrascens</i>	Europe	<i>Myxacium</i>	AF325565
<i>Cortinarius luteistriatulus</i>	Chili	<i>Dermocybe</i>	AF539707
<i>Cortinarius magnivelatus</i>	USA	<i>Calochroi</i>	AF325615

<i>Cortinarius mucifluus</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182795
<i>Cortinarius mucosus</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF325574
<i>Cortinarius muscigenus</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182800
<i>Cortinarius obscuroliveus</i>	Chili	<i>Dermocybe</i>	AF539708
<i>Cortinarius obtusus</i>	Europe	<i>Acutus</i>	AJ238035
<i>Cortinarius odorifer</i>	Europe	<i>Calochroi</i>	AF325620
<i>Cortinarius olivaceobubalinus</i>	Chili	<i>Dermocybe</i>	AF539736
<i>Cortinarius olivaceopictus</i> 1	USA	<i>Dermocybe</i>	U56049
<i>Cortinarius olivaceopictus</i> 2	USA	<i>Dermocybe</i>	U56050
<i>Cortinarius paragaudis</i>	USA	<i>Telamonia</i>	U56030
<i>Cortinarius parahumilis</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539731
<i>Cortinarius pavelekii</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF325564
<i>Cortinarius pholideus</i>	Europe	<i>Sericeocybe</i>	AJ236072
<i>Cortinarius pingue</i> 1	USA	<i>Myxacium</i>	AF325570
<i>Cortinarius pingue</i> 2	USA	<i>Myxacium</i>	AF325571
<i>Cortinarius piriforme</i>	Australie	<i>Myxacium</i>	AF325569
<i>Cortinarius porphyroides</i> 1	Nelle-Zélande	<i>Thaxterogaster</i>	AF325576
<i>Cortinarius porphyroides</i> 2	Nelle-Zélande	<i>Myxacium</i>	AF325577
<i>Cortinarius porphyropus</i> 1	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AF325560
<i>Cortinarius porphyropus</i> 2	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AJ236069
<i>Cortinarius pseudosalor</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182792
<i>Cortinarius pugionipes</i>	Chili	<i>Phlegmacium</i>	AF539713

<i>Cortinarius rapaceus</i> 1	Chili	<i>Phlegmacium</i>	AF539723
<i>Cortinarius rapaceus</i> 2	Chili	<i>Phlegmacium</i>	AF539724
<i>Cortinarius saginus</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325608
<i>Cortinarius salor</i>	Europe	<i>Delibuti</i>	AF325579
<i>Cortinarius scaurus</i> 1	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AJ236070
<i>Cortinarius scaurus</i> 2	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AF325562
<i>Cortinarius scaurus</i> 3	Europe	<i>Purpurascetes</i>	AF325563
<i>Cortinarius</i> sp.	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325606
<i>Cortinarius squamiger</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539729
<i>Cortinarius subfoetidus</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325609
<i>Cortinarius talus</i>	Europe	<i>Allutus</i>	AF325586
<i>Cortinarius tenellus</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539728
<i>Cortinarius traganus</i> 1	Europe	<i>Telamonia</i>	AF037224
<i>Cortinarius traganus</i> 2	Europe	<i>Telamonia</i>	AF325598
<i>Cortinarius trivialis</i>	Europe	<i>Myxacium</i>	AJ236066
<i>Cortinarius umbilicatus</i>	USA	<i>Telamonia</i>	U56032
<i>Cortinarius vanduzerensis</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182793
<i>Cortinarius varicolor</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AJ238082
<i>Cortinarius vernicosus</i>	USA	<i>Myxacium</i>	AF182799
<i>Cortinarius verrucisporus</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325616
<i>Cortinarius vibratilis</i> 1	Europe	<i>Ochroleuci</i>	AJ238032
<i>Cortinarius vibratilis</i> 2	USA	<i>Ochroleuci</i>	AF325584

<i>Cortinarius violaceus</i> 1	Europe	<i>Cortinarius</i>	AJ236059
<i>Cortinarius violaceus</i> 2	Europe	<i>Cortinarius</i>	AF325601
<i>Cortinarius violaceus</i> 3	USA	<i>Cortinarius</i>	AF389130
<i>Cortinarius viridibasalis</i>	Chili	<i>Telamonia</i>	AF539717
<i>Cuphocybe melliolens</i>	Nelle-Zélande	<i>Cuphocybe</i>	AF325610
<i>Dermocybe cinnamomea</i>	Europe	<i>Dermocybe</i>	AJ238030
<i>Dermocybe crocea</i>	Europe	<i>Dermocybe</i>	AJ238031
<i>Dermocybe malicoria</i>	USA	<i>Dermocybe</i>	U56045
<i>Dermocybe phoenicea</i>	Europe	<i>Dermocybe</i>	U56055
<i>Dermocybe splendida</i>	Nelle-Zélande	<i>Dermocybe</i>	AF325583
<i>Hebeloma circinans</i>			AF124699
<i>Hebeloma crustuliniforme</i>			AF124716
<i>Hebeloma fastibile</i>			AF325643
<i>Hymenogaster remyi</i>	Europe	<i>Phlegmacium</i>	AF325602
<i>Hymenogaster sublilacinus</i>	USA	<i>Phlegmacium</i>	AF325603
<i>Protoglossum luteum</i>	Australie	<i>Corrugatus</i>	AF325612
<i>Protoglossum</i> sp. 1	Nelle-Zélande		AF325613
<i>Protoglossum</i> sp. 2	Australie	<i>Acutus</i>	AF325561
<i>Quadrispora oblongispora</i>	Australie	<i>Myxacium</i>	AF325566
<i>Quadrispora</i> sp.	Australie	<i>Myxacium</i>	AF325567
<i>Thaxterogaster redactus</i>	Australie	<i>Myxacium</i>	AF325568
<i>Thaxterogaster</i> sp.	USA	<i>Myxacium</i>	AF325572

<i>Thaxterogaster violaceum</i> 1	Argentine	<i>Thaxterogaster</i>	AF325556
<u><i>Thaxterogaster violaceum</i> 2</u>	<u>Argentine</u>	<u><i>Thaxterogaster</i></u>	<u>AF325557</u>

L'analyse par maximum de vraisemblance (ML) a été établie à partir du modèle le mieux adapté selon le Model test (Posada et Crandall, 1998) sous le critère d'information d'Akaike (TRN + I + G: transition seulement, estimation des sites invariants, distribution gamma). Les gaps internes ont été traités comme des données valides (cinquième base). Les analyses de maximum de vraisemblance (ML) ont été réalisées avec le programme informatique PAUP 4.0b5, (recherches heuristiques, ajout de séquence "TEL QUEL" et méthode TBR). Les tests de « Bootstrapping » ont été effectués en ligne à l'aide de « PHYML » sur 100 répétitions, à l'aide d'un modèle GTR + I + G (NST = 6, sites invariants, distribution Gamma). La phylogénie des Cortinariaceae a également été estimée par une approche bayésienne (Huelsenbeck *et al.*, 2001), en utilisant MrBayes 3.1.2 (Ronquist et Huelsenbeck, 2003) avec quatre Monte Carlo Markov Chains (MCMC) (3 millions générations, avec une fréquence d'impression et de la température de la chaîne mise à 50 000 et 0,2, respectivement, et les longueurs de branches maintenues). Les prior utilisés pour l'inférence bayésienne ont été estimés par Modeltest (TrN+I+G). La congruence entre la topologie des arbres obtenus par ML et les inférences bayésiennes des séquences ITS des Cortinariaceae a été évaluée en utilisant le test de Shimodaira-Hasegawa (test SH avec 1 000 répétitions de bootstrap-RELL) (Shimodaira et Hasegawa, 1999), à l'aide de PAUP4. La congruence entre les arbres a été obtenue par les deux méthodes (-ln L = 12183 par ML ; -ln L = 12200 par MrBayes ; test SH valeur P = 0,254).

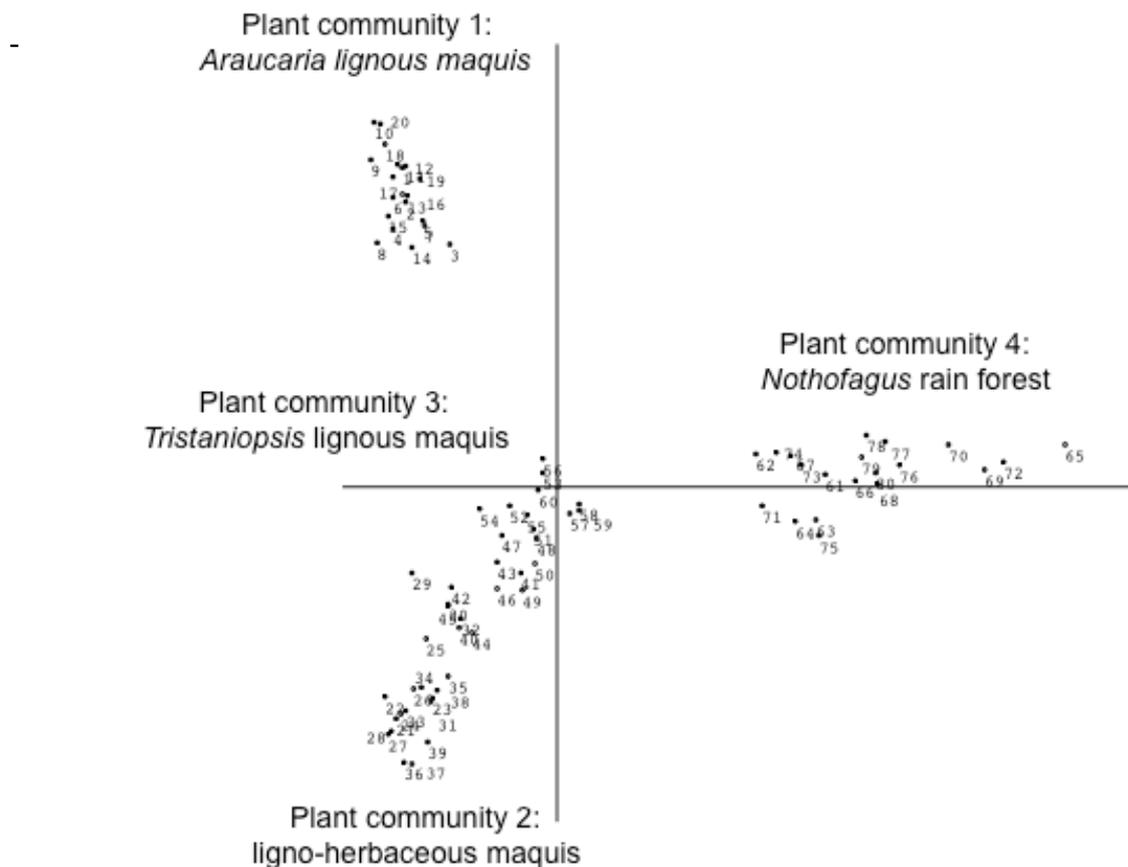
### 3. RESULTATS

#### 3.1. DISTRIBUTION DE LA VEGETATION LE LONG DU GRADIENT ALTITUDINAL

Du plateau situé à 882 m au talweg à 700 m, le site présente quatre communautés végétales différentes parmi les douze groupes définis par Jaffré (1974). Les analyses statistiques confirment les changements drastiques dans la composition floristique entre les différentes

communautés de plantes, à l'exception des communautés 2 et 3 où la discontinuité est moins marquée. Les communautés végétales à *Araucaria montana* Brongn. & Gris et *Nothofagus* sont fortement isolées sur le graphe de coordination (fig. 2). La biodiversité floristique augmente nettement du haut vers la base de la toposéquence.

Figure 2 : Analyse factorielle de correspondance illustrant les changements de composition des communautés floristiques tout au long de la toposéquence, depuis le plateau (communauté floristique 1) jusqu'au talweg (communauté floristique 4).



– Communauté floristique 1 : sur le plateau, la communauté végétale est dominée par *Araucaria montana*, et 53 autres espèces de plantes ont été répertoriées. La strate ligneuse est la plus abondante (33,9 %), avec *Codia montana* JR Forst. & G. Forst. (15,7 %), *Tristaniopsis guillainii* Viell. ex Brongn. & Gris (5,7 %), *Araucaria montana* (4,3 %) et *Dracophyllum verticillatum* (Labill.) (3,5 %). La strate herbacée est moins abondante

(27,3 %), avec les ptéridophytes *Dicranopteris linearis* J. Underw. (15,0 %) et *Pteridium esculentum* (G. Forster) Cockayne (13,9 %).

– Communauté floristique 2 : sur la pente, la communauté végétale dominante est un maquis ligno-herbacé où 58 espèces de plantes ont été répertoriées. La strate herbacée est la plus abondante (85,0 %) avec *Costularia nervosa* Raynal (60,1 %), *Dicranopteris linearis* (24,8 %), *Pteridium esculentum* (15,0 %), *Schoenus neocaledonicus* (CB Clarke) (11,8 %) et *Lepidosperma perteres* CB Clarke (9,8 %). La strate ligneuse est moins abondante (55,1 %), et elle est principalement formée de *Codia montana* (35,9 %), *Dracophyllum ramosum* Pancher ex Brongn. & Crassifolius Gris (9,7 %) et *Myodocarpus* (Dubard & R. Viguier) (7,0 %).

– Communauté floristique 3 : sur la partie inférieure de la pente, la communauté végétale dominante est un maquis, avec 72 espèces de plantes. La strate ligneuse est la plus abondante (80,0 %), et est principalement formée de *Tristaniopsis guillainii* (50,5 %), *Tristaniopsis callobuxus* Brongn. & Gris (27,0 %) et *Codia montana* (23,5 %). La strate herbacée est moins abondante (34,5 %) avec *Costularia nervosa* (22,2 %) et *Lepidosperma perteres* (12,13 %).

– Communauté floristique 4 : dans le talweg, la communauté végétale est une forêt tropicale dominée par 2 espèces de *Nothofagus* et 81 autres espèces ont été répertoriées. L'espèce végétale dominante est *Nothofagus balansae* (62,5 %) qui représente la plus haute strate, *Callophylum caledonicum* (Vieill.) (8,9 %) fait également partie de la plus haute strate. *Nothofagus codonandra* est présent dans cette communauté, mais en « patches », sous une forme monodominante, avec seulement un léger chevauchement entre les deux espèces de *Nothofagus*. La strate moyenne est hétérogène, les espèces les plus abondantes sont *Styphelia pancheri* [Brongn. & Gris) F. Muell.] (11,7 %), *Basselinia gracilis* (Brongn. & Gris) Vieill.) (6,45 %), *Pancheria ferruginea* (Brongn.) (3,3 %) et *Rapanea assymetrica* (Mez). La strate herbacée est représentée essentiellement par *Lepidosperma perteres* (7,23 %) et *Costularia arundinacea* (1,5 %).

### 3.2. ARBRES ECTOMYCORHIZIENS

Les systèmes racinaires des plantes de chaque communauté végétale ont été observés au microscope afin de caractériser les associations symbiotiques. Dans le groupe *Araucaria montana* sur le plateau (communauté floristique 1) et les maquis ligno-herbacées sur la pente (communauté floristique 2), toutes les plantes sont à mycorhizes arbusculaires, ce qui confirme les observations de Perrier *et al.* (2006b) et aucune symbiose ECM a été observée. Dans le maquis à *Tristaniopsis* (communauté floristique 3) et la forêt à *Nothofagus* (communauté floristique 4), l'ectomycorhization est limitée aux espèces végétales dominantes (*Tristaniopsis guillainii*, *T. calobuxus*, *Nothofagus balansae* et *N. codonandra*, respectivement) présentant au microscope les structures typiques du manteau fongique autour des racines et un réseau de Hartig (fig. 3E).

### 3.3. DIVERSITE FONGIQUE

Un total de 48 échantillons ont été analysés, 11 de la communauté floristique 3 et 37 à partir de la communauté floristique 4. Vingt-huit échantillons sont des sporocarpes dont seulement 2 sont issus de la communauté floristique 3. La figure 3A à D présente certains des sporocarpes récoltés dans les communautés végétales 3 et 4. Douze échantillons sont des apex mycorhiziens dont 3 et 9 sont issus des communautés floristiques 3 et 4, respectivement. Le dernier type d'échantillons est constitué d'agrégats de sol et de mycélium récoltés dans la communauté 3, comme illustré sur la figure 4A avec un mycélium jaune d'or en continuité avec le sporocarpe K66C de *Pisolithus albus*. L'aspect caractéristique (en petites billes) de l'oxyde de fer qui compose le sol est bien visible. Un examen plus approfondi de ces billes d'oxyde de fer sous la loupe binoculaire est présenté figure 4B et C, avec des liens mycéliens non identifiés entre les billes. D'autres échantillons de sol, avec différentes couleurs de mycélium, ont également été récoltés dans les communautés végétales 3 et 4. Six échantillons ont été analysés à partir de la communauté floristique 3 et 2 de la communauté floristique 4. L'extraction a été réalisée soit sur un fragment de mycélium ou de rhizomorphes, (2 de la communauté 3 et 2 de la communauté 4). Quatre échantillons étaient des billes d'oxyde de fer colonisées par du mycélium, comme illustré par la figure 4B et C et analysées individuellement.

Figure 3 : A to D : Sporocarpes ECM des communautés floristiques 3 et 4. A : *Pisolithus albus* K66C, associé à *Tristaniopsis guillainii*, dans la communauté floristique 3. B : *Cortinarius* sp. nov. K12C, associé à *Nothofagus balansae* dans la communauté floristique 4. C : *Russula aurantiophylla* K18C, associé à *Nothofagus balansae* dans la communauté floristique 4. D : *Tricholoma* sp. nova ff *ustale* K10C, associé à *Nothofagus balansae* dans la communauté floristique 4. E : Coupe d'un apex ECM de *Tristaniopsis guillainii* (communauté floristique 3), coloré au Bleu Trypan, présentant un manteau fongique et un réseau de Hartig.

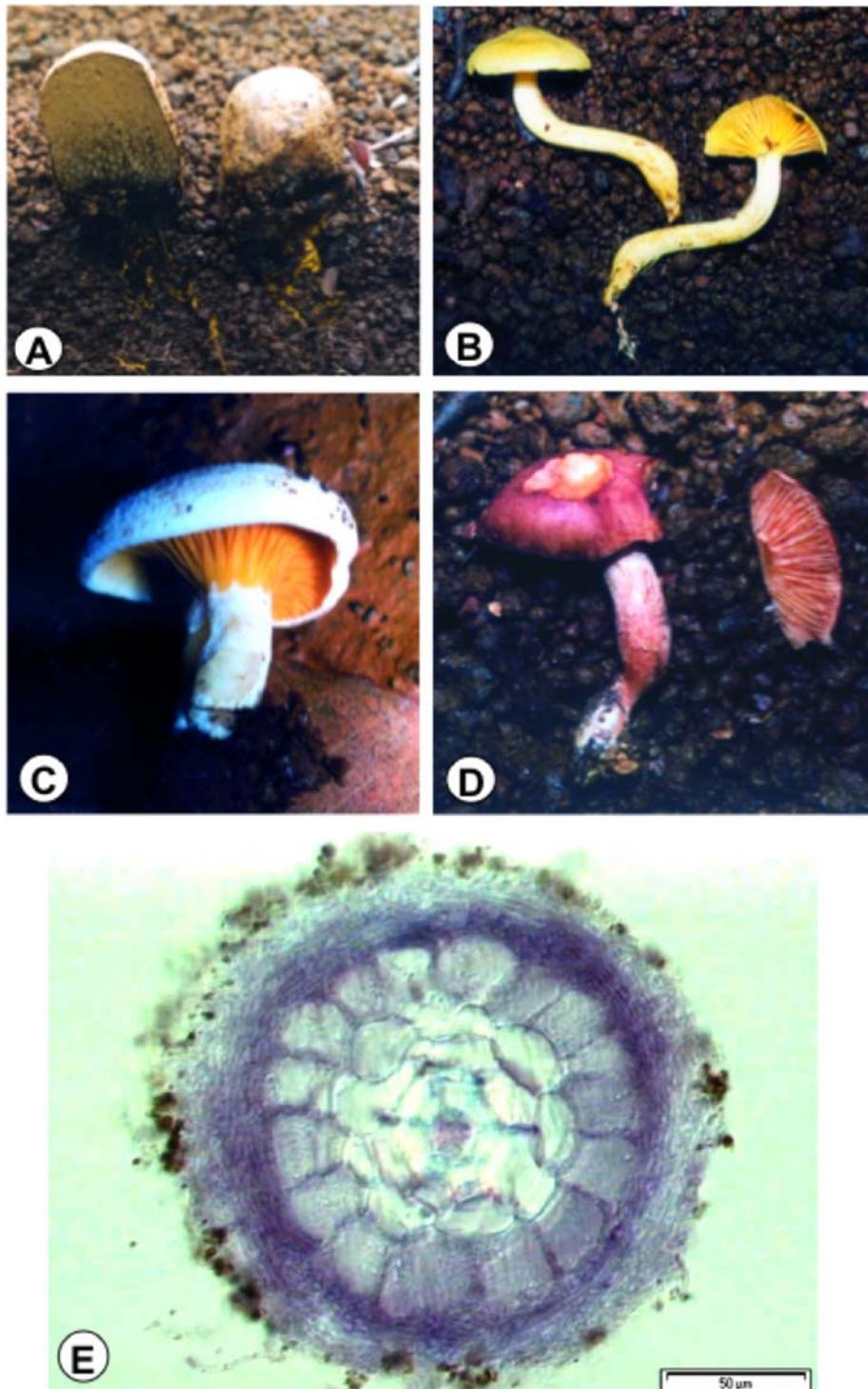
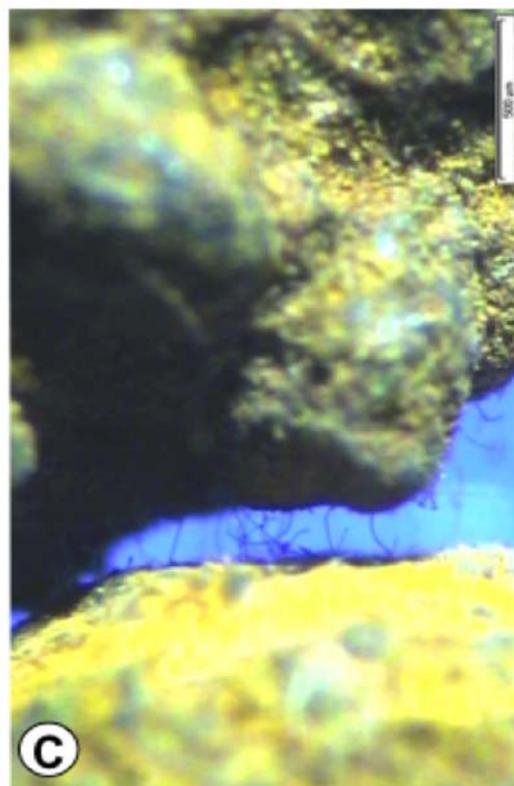
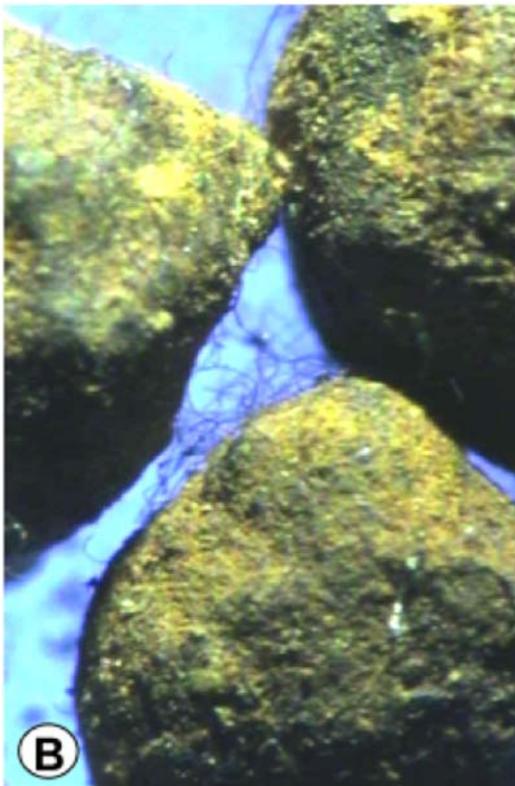
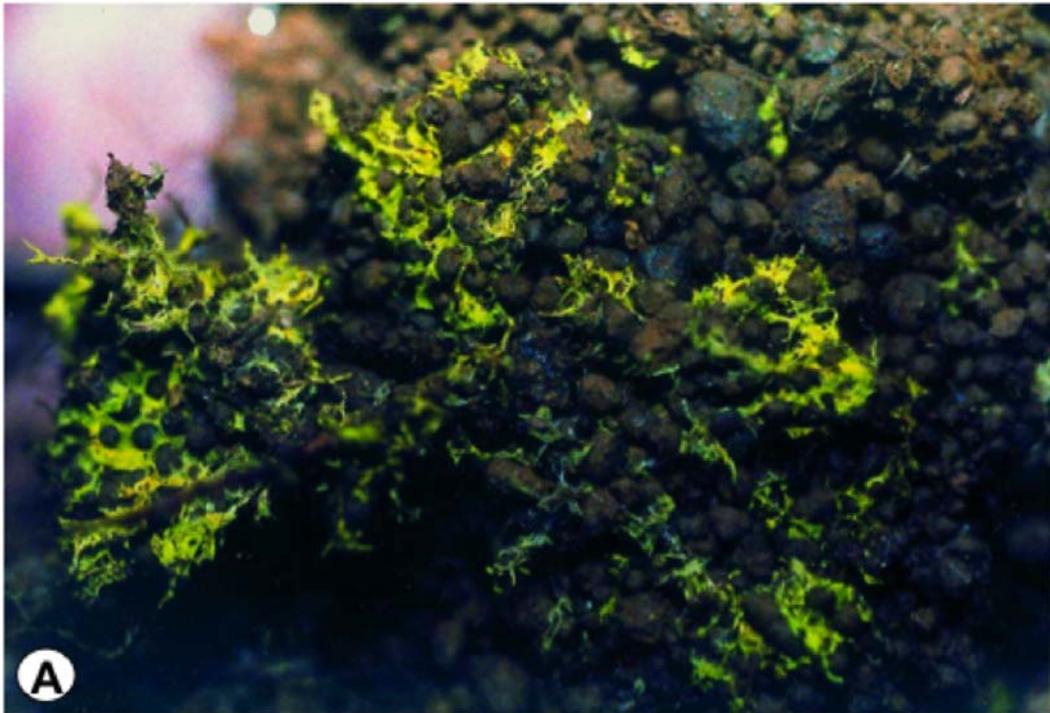


Figure 4: A: Bloc de sol agrégé par un mycélium jaune-doré récolté sous le sporocarque K66C de *Pisolithus albus*, dans la communauté floristique 3. La forme sphérique des billes d'oxyde de fer qui constituent le sol est bien visible. B et C : Vue agrandie de billes d'oxyde de fer, photographiées sous la loupe binoculaire et présentant des connections mycéliennes.



La plupart des sporocarpes (suffixe "C") ont été identifiés sur leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques au moins au niveau du genre, seulement quatre d'entre eux (« nd ») sont restés non déterminés. Les apex ECM (suffixe "M") et des échantillons de sol (suffixe "S") ont été laissés sans nom taxonomique. Aucune des séquences obtenues n'a donné 100 % de similitude avec les espèces déjà décrites dans Genbank. Sur le nombre d'échantillons analysés et compte tenu de la superficie relativement petite du site prospecté (grossièrement estimée à 5 ha au sein d'un massif de plus de 38 000 ha) une grande diversité de taxons fongiques a été trouvée. Parmi les sporocarpes, on observe généralement une bonne correspondance entre les déterminations macroscopiques et moléculaires.

Dans la communauté floristique 3, 4 genres différents ont été détectés parmi les 11 échantillons. Sept de ces échantillons appartenaient au genre *Cortinarius*, 2 à *Piloderma*, 1 à *Pisolithus*, parmi les sporocarpes, et 1 à *Lycoperdon*, détecté dans une bille d'oxyde de fer du sol, genre généralement considéré comme non mycorrhizien. Le genre *Cortinarius* est détecté dans des échantillons de sporocarpes, d'apex ECM, de mycélium et de billes du sol.

Dans la communauté floristique 4, la diversité est beaucoup plus grande avec 12 genres différents enregistrés à partir de séquences SA, correspondant à 37 échantillons. Le genre dominant est *Cortinarius* avec un total de 18 échantillons (dont 2 espèces autrefois identifiées comme *Thaxterogaster*) atteignant ainsi près de 50 % des échantillons de Cortinariaceae. Les genres *Tricholoma* et *Lactarius-Russula* suivent avec 5 échantillons chacun. La dominance des Cortinariaceae est observée pour les différentes formes d'échantillons fongiques. Sur les 26 sporocarpes recueillis, 11 appartenaient à ce groupe. Parmi les apex ECM, 9 échantillons différents ont été analysés avec succès, appartenant à 5 genres différents. Le genre dominant est également *Cortinarius* avec 5 échantillons différents. Dans le sol, seuls 2 échantillons ont pu être analysés comme appartenant aux genres *Cortinarius* et *Tricholoma*.

### **3.4. ANALYSE PHYLOGENETIQUE**

L'analyse de la famille Cortinariaceae a porté sur toute la partie 18S-28S (incluant les deux séquences ITS et le 5,8 S) comparée à 124 séquences issues de base de données (121 de Cortinariaceae et 3 de *Hebeloma*), comme indiqué dans le tableau 1. Sur les 18 échantillons

analysés, 5 étaient issus de la communauté floristique 3 et 13 de la communauté floristique 4. Sur ces 18 échantillons 8 étaient des sporocarpes, 5 des apex ECM et 5 du mycélium du sol. Sur ce nombre limité d'échantillons, la diversité est élevée, tous les échantillons étant distincts les uns des autres et des séquences de bases de données. En Nouvelle-Calédonie, les Cortinariaceae se répartissent dans 6 clades différents. Au sein de certains clades, on observe un mélange de séquences issues des communautés végétales 3 et 4, mais il est nécessaire d'analyser plus d'échantillons pour évaluer une éventuelle relation entre les communautés fongiques ; il n'y a, par exemple, aucune identité totale de séquence entre aucun des échantillons néocalédoniens. Certains des échantillons de Nouvelle-Calédonie constituent des groupes distincts parmi les 118 séquences de référence de Cortinariaceae, et ceci quelle que soit leur origine, y compris de pays géographiquement proches (issus de la fragmentation du Gondwana), comme l'Australie, la Nouvelle-Zélande, le Chili ou la Papouasie-Nouvelle-Guinée, indiquant probablement la présence de nouveaux taxons. Cette étude n'avait pas pour but de donner une description taxonomique des Cortinariaceae de Nouvelle-Calédonie, en particulier en raison de l'hétérogénéité de notre matériel, mais si l'on identifie sur le cladogramme avec un code couleur, la plupart des genres différents et sous-genres décrits par Peintner *et al.* (2004), les Cortinariaceae de Nouvelle-Calédonie semblent se positionner dans des groupes soit déjà existants comme *Dermocybe*, *Purpurascetes*, soit séparés et potentiellement nouveaux, l'un d'eux semblant proche du groupe des *Myxacium*. Des séquences du groupe des *Descolea* que nous avons tout d'abord incluses dans notre phylogénie ont finalement été retirées, car ces séquences constituaient un cluster séparé (Moncalvo *et al.*, 2002), sans affinité avec aucun de nos échantillons de Nouvelle-Calédonie.

## **4. DISCUSSION**

### **4.1. DIVERSITE FLORISTIQUE, LA DOMINANCE ET SYMBIOSES**

Comme signalé par Jaffré (1974), la diversité floristique du massif du Koniambo est assez élevée à l'échelle de la Nouvelle-Calédonie : les 453 espèces recensées par cet auteur représentent 15 % de la diversité de l'île, pour un ratio de surface géographique de moins de

1 %. Nos inventaires floristiques, limités à 4 des 12 communautés végétales identifiées par Jaffré (1974) sur le massif, sont compatibles en termes de nombre d'espèces avec ceux donnés par cet auteur. Les espèces dominantes des communautés floristiques 3 et 4 ont été trouvées ECM. Une telle situation a souvent été décrite dans les écosystèmes tropicaux (comme, par exemple, les Diptérocarpacées, ECM et dominantes dans les forêts d'Asie), mais est loin d'être systématique (Torti et Coley, 1999). En Nouvelle-Calédonie, cette position dominante pourrait n'être qu'une étape transitoire liée aux perturbations exogènes, comme le feu ou les cyclones (Read *et al.*, 1995). Cette étude a confirmé la description (Perrier *et al.*, 2006b) des ectomycorhizes sur les racines de *Nothofagus balansae* (Nothofagaceae) et *Tristaniopsis*, de la famille des Myrtaceae (Leptospermoideae). Le genre *Tristania*, proche de *Tristaniopsis*, a déjà été décrit comme ECM au Brunei (Moyersoen *et al.*, 2001). *Nothofagus* est connu comme naturellement ECM en Australie, Nouvelle-Zélande et Amérique du Sud (Halling, 2001 ; Tedersoo *et al.*, 2008 ; McKenzie *et al.*, 2000 ; Valenzuela *et al.*, 1999). Notre étude incluant des apex ECM, du mycélium du sol et des sporocarpes nous permet d'obtenir une image générale de la diversité mycorhizienne, plusieurs études ayant montré que la diversité mycorhizienne n'était pas limitée aux sporocarpes mais devait également prendre en compte la diversité des apex ECM (Buscot *et al.*, 2000 ; Dahlberg *et al.*, 1996 ; Gardes et Bruns, 1996 ; Horton et Bruns, 2001). En outre, Landeweert *et al.* (2003) ont montré que l'analyse de séquences ITS sur le mycélium des sols donnait un aperçu supplémentaire sur la diversité des communautés fongiques.

Un seul sporocarpe (*Pisolithus albus*) a été récolté dans la communauté floristique 3, ce qui montre une fois de plus la divergence entre les diversités fongiques épi- et hypogées. Les conditions environnementales de la communauté floristique 3 (du type maquis), beaucoup plus sèches que dans la communauté floristique 4 (de type forêt tropicale), sont certainement moins propices à la fructification des champignons (Brundrett, 1991 ; Slankis, 1974 ; Smith et Read, 1997), avec un sol contenant peu de matière organique. La présence de ce sporocarpe (fig. 3A), qui indique des caractéristiques morphologiques et anatomiques semblables à celles décrites en Australie par Anderson *et al.* (1998, 2001) et en Nouvelle-Calédonie par Aggangan *et al.* (1998), n'est pas surprenante dans le maquis de type 3, dominé par des plantes sclérophylles, puisque ce genre est connu pour être bien adapté à la croissance dans les sols minéraux comme un champignon mycorhizien « early stage », en attendant la formation de sols de type forestier (Brundrett, 1991 ; Gardner et Malajczuk,

1988 ; Stahl *et al.*, 1988). La présence du genre *Cortinarius* dans cet écosystème est également importante : c'est un des genres les plus complexes sur le plan taxonomique parmi les Basidiomycètes (avec environ 2 000 espèces décrites), et également l'un des genres ectomycorhiziens les plus fréquemment rencontrés dans les forêts de conifères de nombreux pays européens et nord-américains (Alexander et Watling, 1987 ; Høiland et Holst-Jensen, 2000 ; Villeneuve *et al.*, 1989). Sa présence dans l'hémisphère sud est encore mal documentée (Garnica *et al.*, 2005 ; Tedersoo *et al.*, 2008). Dans les tropiques, le genre a été signalé dans les régions tropicales d'Amérique du Nord (Murrill, 1912), en Amérique du Sud (Singer *et al.*, 1983 ; Garnica *et al.*, 2003), en Inde (Peintner *et al.*, 2003 ; Natarajan *et al.*, 2005), ainsi qu'en Australie dans les forêts d'eucalyptus (Chambers *et al.*, 1999 ; Malajczuk *et al.*, 1987 ; Sawyer *et al.*, 1999). D'après Rivière *et al.* (2007), dans le sud de la Guinée, et Onguéné et Kuyper (2001) au Cameroun, les Cortinariaceae semblent être peu représentées dans les forêts tropicales d'Afrique.

Dans la communauté floristique 4, les symbioses ECM présentent une plus grande diversité de genres, confirmée par des méthodes moléculaires. Cette diversité inclut la plupart des grands taxons ECM, comme *Russula*, *Lactarius*, *Tricholoma*, *Boletus*, *Inocybe*, etc., et a déjà été signalée dans d'autres écosystèmes forestiers tropicaux, comme par exemple en Inde et en Guinée (Rivière *et al.*, 2007), ou au Cameroun (Onguéné et Kuyper, 2001). Toutefois, dans chaque type d'échantillon, la présence de plusieurs genres de Cortinariaceae est avérée et ce taxon est dominant parmi les sporocarpes et ectomycorhizes. Si la dominance des Cortinariaceae dans les forêts de *Nothofagus* est bien documentée en Amérique du Sud (Garnica *et al.*, 2003 ; Garnica *et al.*, 2005 ; Valenzuela *et al.*, 1999), en Australie (Bougher *et al.*, 1994 ; Halling, 2001) et en Nouvelle-Zélande (McKenzie *et al.*, 2002), cette observation est une première en Nouvelle-Calédonie.

#### **4.2. BIOGEOGRAPHIE ET EVOLUTION**

La dominance des Cortinariaceae dans la formation à *Nothofagus* du massif du Koniambo donne un nouvel aperçu de la phylogéographie de cette famille de champignons dans l'hémisphère sud. Le genre *Nothofagus* comprend 4 sous-genres et 35 espèces dans 5 continents isolés : Australie, Nouvelle-Calédonie, Nouvelle-Guinée, Nouvelle-Zélande et

l'Amérique du Sud (Hill et Dettman, 1996 ; Swenson *et al.*, 2000). Swenson *et al.* (2001b) ont montré que la biogéographie des *Nothofagus* est cohérente avec la séquence de dislocation du Gondwana et que les quatre grandes lignées étaient déjà présentes il y a 80 mA, avant l'éclatement de la marge orientale du Gondwana. Les *Nothofagus* de Nouvelle-Calédonie appartiennent tous au sous-genre *Brassospora* qui englobe également les espèces de Nouvelle-Guinée et les espèces fossiles de Nouvelle-Zélande, de l'Antarctique, d'Amérique du Sud et d'Australie. La présence d'espèces appartenant au sous-genre *Brassospora* en Papouasie-Nouvelle-Guinée et Nouvelle-Calédonie peut être expliquée par les événements tectoniques depuis le milieu du Cénozoïque (Hallam, 1994 ; Veevers *et al.*, 1991), qui ont ainsi constitué des niches refuges sous les tropiques (Swenson *et al.*, 2001a). Plusieurs travaux illustrent la possible coévolution entre *Nothofagus* et les champignons ECM de la famille des Cortinariaceae dans l'hémisphère sud (Bougher *et al.*, 1994 ; Halling, 2001 ; Halling et Mueller, 2002). Les résultats obtenus sur la forêt à *Nothofagus* du massif du Koniambo identifient plusieurs groupes ECM spécifiques de Nouvelle-Calédonie, révélant que les ancêtres des partenaires arbres et champignons co-existaient déjà lors de leur implantation dans l'île.

Avec les Nothofagaceae, les Leptospermoideae (Myrtaceae à fruits secs) comme *Tristaniopsis* ont leur répartition géographique étroitement liée à la fragmentation du Gondwana. De plus, il a été démontré que ces deux familles pouvaient s'associer avec les mêmes espèces de Cortinariaceae par des expériences de synthèses *in vitro* entre les genres *Nothofagus* et *Eucalyptus* (Bougher, 1987 ; Bougher *et al.*, 1994). Les symbioses ECM sont donc des partenaires de choix pour la reconstitution des sites miniers en Nouvelle-Calédonie et en particulier pour la stabilisation, *via* les réseaux mycéliens, des billes d'oxyde de fer qui constituent le substrat édaphique.

## 5. RÉFÉRENCES

Aggangan, N.S., Dell, B. & Malajczuk, N. (1998). Effects of chromium and nickel on growth of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus* and formation of ectomycorrhizas on *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake. *Geoderma*, 84 : 15-27.

- Alexander, I.J. & Watling, R. (1987). Macrofungi of Sitka spruce in Scotland. *Proceedings of the Royal Society Edinburgh*, 93B: 107-115.
- Anderson, I.C., Chambers, S.M. & Cairney, J.W.G. (1998). Molecular determination of genetic variation in *Pisolithus* isolates from a defined region in New South Wales, Australia. *New Phytologist*, 138: 151-162.
- Anderson, I.C., Chambers, S.M. & Cairney, J.W.G. (2001). Distribution and persistence of Australian *Pisolithus* species genets at native sclerophyll forest field sites. *Mycological Research*, 105: 971-976.
- Bougher, N.L. (1987). The systematic position and ectomycorrhizal status of the fungal genus *Descolea*. Ph.D. thesis. University of Western Australia, Perth, WA.
- Bougher, N.L., Fuhrer, B.A. & Horak, E. (1994). Taxonomy and biogeography of Australian *Rozites* species mycorrhizal with *Nothofagus* and *Myrtaceae*. *Australian Systematic Botany*, 7: 353-375.
- Braun-Blanquet, G., Fuller, G.D. & Conard, H.S. (1932). *Plant sociology: the study of plant communities*. McGraw-Hill book, New York, USA.
- Brundrett, M. (1991). Mycorrhizas in natural ecosystems. *Advances in Ecological Research*, 21: 171-313.
- Buscot, F., Munch, J.C., Charcosset, J.Y., Gardes, M., Nehls, U. & Hampp, R. (2000). Recent advances in exploring physiology and biodiversity of ectomycorrhizas highlight the functioning of these symbioses in ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews*, 24: 601-614.
- Chambers, S.M., Sawyer, N.A. & Cairney, J.W.G. (1999). Molecular identification of co-occurring *Cortinarius* and *Dermocybe* species from southeastern Australian sclerophyll forests. *Mycorrhiza*, 9: 85-90.
- Dahlberg, A., Jonsson, L. & Nylund, J.E. (1996). Species diversity and distribution of biomass above and below ground among ectomycorrhizal fungi in an old-growth Norway spruce forest in south Sweden. *Canadian Journal of Botany*, 75: 1323-1335.

- Ducouso, M., Contesto, C., Cossegal, M., Prin, Y., Rigault, F. & Eyssartier, G. (2004). *Cantharellus garnierii* sp. nov., une nouvelle chanterelle de Nouvelle-Calédonie. *Cryptogamie Mycologie*, 25: 115-125.
- Edgar, R.C. (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32 : 1792-1797.
- Gardes, M. & Bruns, T.D. (1996). Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above and below ground views. *Canadian Journal of Botany*, 74: 1572-1583.
- Gardner JH, Malajczuk N (1988) Recolonisation of rehabilitated bauxite mine sites in Western Australia by mycorrhizal fungi. *Forest Ecology and Management*, 24: 27-42.
- Garnica, S., Weiss, M. & Oberwinkler, F. (2002). New *Cortinarius* species from *Nothofagus* forests in South Chile. *Mycologia*, 94: 136-145.
- Garnica, S., Weiss, M. & Oberwinkler, F. (2003). Morphological and molecular phylogenetic studies in South American *Cortinarius* species. *Mycological Research*, 107: 1143-1156.
- Garnica, S., Weiss, M., Oertel, B. & Oberwinkler, F. (2005). A framework for a phylogenetic classification in the genus *Cortinarius* (Basidiomycota, Agaricales) derived from morphological and molecular data. *Canadian Journal of Botany*, 83: 1457-1477.
- Greenacre, M.J. (1984). *Theory and applications of correspondence analysis*, Academic Press, London.
- Guindon, S., Lethiec, F., Duroux, P. & Gascuel, O. (2005). PHYML Online--a web server for fast maximum likelihood-based phylogenetic inference. *Nucleic Acids Research*, 33: W557-9.
- Hallam, A. (1994). *An outline of Phanerozoic biogeography*. Oxford University Press, Oxford.

- Halling, R.E. (2001). Ectomycorrhizae: Co-evolution, significance, and biogeography. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 88: 5-13.
- Halling, R.E. & Mueller, G.M. (2002). Agarics and Boletes of neotropical oakwoods. In: *Tropical Mycology, Vol 1, Macromycetes* (ed. Watling R, Frankland JC, Ainsworth AM, Isaac S, Robinson CH). CAB International, New York, USA.
- Hill, R.S. & Dettmann, M.E. (1996). Origin and diversification of the genus *Nothofagus*. In: *The Ecology and Biogeography of Nothofagus forest* (ed. Veblen TT, Hill RS, Read J) pp. 11-24. Yale University Press, New Haven, CT.
- Hoiland, K. & Holst-Jensen, A. (2000). *Cortinarius* phylogeny and possible taxonomic implications of ITS rDNA sequences. *Mycologia*, 92: 694-710.
- Horak, E. & Mouchacca, J. (1998). Annotated checklist of New Caledonian Basidiomycota. I. Holobasidiomycetes. *Mycotaxon*, 68: 75-129.
- Horton, R. & Bruns, T.D. (2001). The molecular revolution in ectomycorrhizal ecology: peeking into the black-box. *Molecular Ecology*, 10 : 1855-1871.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., Nielsen, R. & Bollback, J.P. (2001). Bayesian inference of phylogeny and its impact on evolutionary biology. *Science*, 294 : 2310-4.
- Jaffré, T. (1974). La végétation d'un massif de roches ultrabasiques de Nouvelle-Calédonie: le Koniambo. *Candollea*, 29: 427-456.
- Jaffré, T. (1992). Floristic and ecological diversity of the vegetation on ultramafic rocks in New Caledonia. In: *The vegetation of ultramafic (serpentine) soils* (ed. Baker AJM, Proctor J, Reeves RD) pp. 101-107. Intercept Ltd, Andover, NL.
- Jaffré, T., Morat, P., Veillon, J.M., Rigault, F. & Dagostini, G. (2001). Composition et caractérisation de la flore indigène de Nouvelle-Calédonie. (ed. IRD Centre de Noumea) Documents Scientifiques et Techniques vol. II 4. IRD Nouméa.
- Jentschke, G. & Godbold, D.L. (2000). Metal toxicity and ectomycorrhiza. *Physiologia Plantarum*, 109 : 107-116.

- Landeweert, R., Leeftang, P., Kuyper, T.W., Hoffland, E., Rosling, A., Wernars, K. & Smit, E. (2003). Molecular identification of ectomycorrhizal mycelium in soil horizons. *Applied Environmental Microbiology*, 69 : 327-333.
- Malajczuk, N., Dell, B. & Bougher, N.L. (1987). Ectomycorrhiza formation in Eucalyptus III- superficial ectomycorrhizas initiated by *Hysterangium* and *Cortinarius* species. *New Phytologist*, 105: 421-428.
- McKenzie, E.H.C., Buchanan, P.K. & Johnston, P.R. (2002). Checklist of fungi on *Nothofagus* species in New Zealand. *New Zealand Journal of Botany*, 38: 635-720.
- Moncalvo, J.M., Vilgalys, R., Redhead, S.A., et al. (2002). One hundred and seventeen clades of euagarics. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 23 : 357-400.
- Moyersoen, B., Becker, P. & Alexander, I.J. (2001). Are ectomycorrhizas more abundant than arbuscular mycorrhizas in tropical heath forests? *New Phytologist*, 150: 591-599.
- Murrill, W.A. (1912). Agaricaceae of tropical North America. *Mycologia*, 4: 72-83.
- Natarajan, K., Senthilarasu, G., Kumaseran, V. & Rivière, T. (2005) Diversity in ectomycorrhizal fungi of a dipterocarp forest in Western Ghats. *Current Science*, 88: 1893-1895.
- Nicholas, K.B. & Nicholas, B.J. (1997). Genedoc: a tool for editing and annotating multiple sequence alignments. Distributed by the author.
- Onguéné, N.A. & Kuyper, T.W. (2001). Mycorrhizal associations in the rainforest of South Cameroon. *Forest Ecology and Management*, 40: 277-287.
- Peintner, U., Bougher, N., Castellano, M. et al. (2001) Multiple origins of sequestrate fungi related to *Cortinarius* (*Cortinariaceae*). *American Journal of Botany*, 88: 177-184.
- Peintner, U., Moser, M.M., Thomas, K.A. & Manimohan, P. (2003). First record of ectomycorrhizal *Cortinarius* species (*Agaricales*, *Basidiomycetes*) from tropical

- India and their phylogenetic position based on rDNA ITS sequences. *Mycological Research*, 107: 485-494.
- Peintner, U., Moncalvo, J.M. & Vilgalys, R. (2004). Toward a better understanding of the infrageneric relationships in *Cortinarius* (Agaricales, Basidiomycota). *Mycologia*, 96: 1042-1058.
- Perrier, N., Ambrosi, J.P., Colin, F. & Gilkes, R.J. (2006a). Biogeochemistry of a regolith: The New Caledonian Koniambo ultramafic massif. *Journal of Geochemical Exploration*, 88: 54-58.
- Perrier, N., Amir, H. & Colin, F. (2006b). Occurrence of mycorrhizal symbioses in the metal rich lateritic soils of the Koniambo Massif, New Caledonia. *Mycorrhiza*, 16: 449-458.
- Posada, D. & Crandall, K.A. (1998). Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14, 817-818.
- Read, J., Hallam, P. & Cherrier, J.F. (1995). The anomaly of monodominant tropical rainforests: some preliminary observations in the *Nothofagus*-dominated rainforests of New Caledonia. *Journal of Tropical Ecology*, 11: 359-389.
- Rivière, T., Diédhiou, A.G., Diabaté, M. et al. (2007) Genetic diversity of ectomycorrhizal Basidiomycetes from African and Indian tropical rainforests. *Mycorrhiza*, 17: 415-428.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19: 1572-4.
- Sawyer, N.A., Chambers, S.M. & Cairney, J.W.G. (1999). Molecular investigation of genet distribution and genetic variation of *Cortinarius rotundisporus* in eastern Australian sclerophyll forests. *New Phytologist*, 142: 561-568.
- Shimodaira, H. & Hasegawa, M. (1999). Multiple Comparisons of Log-Likelihoods with Applications to Phylogenetic Inference. *Molecular Biology and Evolution*, 16: 1114-1116.

- Singer, R., Araujo, I. & Ivory, M.H. (1983). The ectotrophically mycorrhizal fungi of the neotropical lowlands, especially Central Amazonia. *Beiheft zur Nova Hedwigia*, 77: 1-339.
- Slankis, V. (1974). Soil factors influencing formation of mycorrhizae. *Annual Review of Phytopathology*, 12: 437-457.
- Smith, S.E. & Read, D.J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis*, 2nd Edition. Academic Press, London.
- Stahl, P.D., Williams, S.E. & Christensen, M. (1988). Efficacy of native vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after severe soil disturbance. *New Phytologist*, 110: 347-354.
- Swenson, U., Hill, R.S. & McLoughlin, S. (2000). Ancestral area analysis of *Nothofagus* (Nothofagaceae) and its congruence with fossil record. *Australian Systematic Botany*, 13: 469-478.
- Swenson, U., Backlund, A., McLoughlin, S. & Hill, R.S. (2001a). *Nothofagus* biogeography revisited with special emphasis on the enigmatic distribution of subgenus *Brassospora* in New Caledonia. *Cladistics*, 17: 28-47.
- Swenson, U., Hill, R.S. & McLoughlin, S. (2001b). Biogeography of *Nothofagus* supports the sequence of Gondwana break-up. *Taxon*, 50: 1025-1041.
- Tedersoo, L., Jairus, T., Horton, B.M. et al. (2008). Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. *New Phytologist*, 180: 479-490.
- The International Plant Index (2008) Published on the Internet <http://www.ipni.org> [accessed 20 October 2008].
- Thioulouse, J., Chessel, D., Dolédec, S. & Olivier, J.M. (1997). ADE4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing*, 7: 75-83.

- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F. & Higgins, D.G. (1997). The clustal-X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality tools. *Nucleic Acids Research*, 25: 4876-4882.
- Torti, S.D. & Coley, P.D. (1999). Tropical monodominance: A preliminary test of the ectomycorrhizal hypothesis. *Biotropica*, 31: 220-228.
- Valenzuela, E., Moreno, G., Garnica, S., Godoy, R. & Ramirez, C. (1999). Mycosociology in native forests of *Nothofagus* of the X region of Chile, diversity and ecological role. *Mycotaxon*, 72: 217-226.
- Veevers, J.J. (1986). Breakup of Australia and Antarctica estimated as Mid-Cretaceous ( $95\pm 5$  Ma) from magnetic and seismic data at the continental margin. *Earth and Planetary Science Letters*, 77: 91-99.
- Veevers, J.J., Powell, C.M. & Roots, S.R. (1991). Review of seafloor spreading around Australia. 1. Synthesis of the patterns of spreading. *Australian Journal of Earth Science*, 38: 373-389.
- Villeneuve, N.M., Grandtner, M. & Fortin, J.A. (1989). Frequency and diversity of ectomycorrhizal and saprophytic macrofungi in the Laurentide Mountains of Quebec. *Canadian Journal of Botany*, 67: 2616-2629.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR protocols: A guide to methods and applications* (ed. Innis MA, Gelfand H, Sninsky JS, White TJ) pp.185-189. Academic Press, New York.

# DES CHAMPIGNONS SYMBIOTIQUES CONTRE LA DESERTIFICATION

ECOSYSTEMES MEDITERRANEENS, TROPICAUX ET INSULAIRES

*Editeurs scientifiques*

ROBIN DUPONNOIS<sup>1,2,4</sup>, MOHAMED HAFIDI<sup>2</sup>, IBRAHIMA NDOYE<sup>3,4</sup>,  
HERINIAIRANA RAMANANKIERANA<sup>5</sup>, AMADOU M. BÂ<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> IRD. UMR 113 CIRAD/INRA/IRD/AGRO-M/UM2. Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM). Campus international de Baillarguet, Montpellier. France.

<sup>2</sup> Laboratoire Écologie & Environnement (Unité associée au CNRST, URAC 32). Faculté des sciences Semlalia. Université Cadi Ayyad. Marrakech. Maroc.

<sup>3</sup> Université Cheikh Anta Diop. Département de Biologie végétale. Dakar. Sénégal.

<sup>4</sup> IRD. Laboratoire commun de microbiologie IRD/ISRA/UCAD. Centre de recherche de Bel Air. BP 1386. Dakar. Sénégal.

<sup>5</sup> Laboratoire de microbiologie de l'environnement. Centre national de recherches sur l'environnement. BP 1739. Antananarivo. Madagascar.

**IRD Editions**

**INSTITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPEMENT**

**Marseille, 2013**