



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université des Sciences et de la Technologie D'Oran Mohamed Boudiaf  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de  
Biotechnologies



POLYCOPIE DU COURS

## Microbiologie de l'environnement des plantes médicinales et aromatiques

Destiné aux étudiants

Master en Biotechnologie et valorisation des plantes (BVP))

Réalisé par **Dr. AIBECHE Chahrazed**

Maitre de conférences à USTO-MB, Oran, Algérie

E mail: [chahrazed.aibeche@univ-usto.dz](mailto:chahrazed.aibeche@univ-usto.dz),

[cchahra22@yahoo.fr](mailto:cchahra22@yahoo.fr)

2021/2022

### **Avant-propos :**

Ce polycopié est rédigé à l'intention des étudiants de la première année du deuxième cycle universitaire (master en Biotechnologie et valorisation des plantes (BVP)) de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV). Il constitue un manuel de cours sur une partie du domaine de la microbiologie et il représente aussi un document académique dont l'objectif est de le mettre à la disposition des étudiants de graduation et de post graduation.

Les lecteurs nécessitent des prérequis en microbiologie générale, biologie végétale et en écologie.

Ce polycopié est structuré en trois chapitres qui se focalisent globalement sur la connaissance des relations existantes entre les microorganismes et les différentes parties de la plante.

La rédaction de cet ouvrage s'est essentiellement fondée sur les informations collectées et synthétisées depuis diverses références actualisées.

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b>	Microbiome de l'écosystème végétal d'après Shelake <i>et al.</i> (2019).....	1
<b>Figure 2 :</b>	Diagramme schématique représentant les sources de micro-organismes associés aux différents compartiments végétaux (spermosphère, rhizosphère et phyllosphère) (Maude, 1996).....	3
<b>Figure 3 :</b>	Schéma représente la spermosphère (Nelson, 2004).....	5
<b>Figure 4 :</b>	Diversité microbienne dans la rhizosphère des plantes médicinales et aromatiques.....	9
<b>Figure 5 :</b>	Des nodules dans l'interaction Rhizobia-légumineuse.....	11
<b>Figure 6 :</b>	Zonation d'un nodule indéterminé (Rodriguez-Haas et al. 2013).....	12
<b>Figure 7 :</b>	Echange du signal d'infection et la synthèse du facteur nod (Dénarié, 2000).....	16
<b>Figure 8 :</b>	Les principales étapes de l'établissement de la symbiose Rhizobium-fabacée (Meyer et al. 2008).....	16
<b>Figure 9 :</b>	Pénétration des bactéries et transformation en bactéroïdes.....	16
<b>Figure 10 :</b>	Coupe au niveau nodule efficiente montrant la présence de la leghémoglobine de couleur rouge.....	17
<b>Figure 11 :</b>	Infection par pénétration intercellulaire (crack entry).....	17
<b>Figure 12 :</b>	Souche Frankia en culture pure. : (A) une micro-colonie cultivée sur milieu de culture (B) observation microscopique optique des hyphes et des vésicules sphériques. (C) et (D) micrographies électroniques à balayage montrant respectivement des hyphes et des vésicules (Gtari <i>et al.</i> , 2015). (E) : Aspect d'une Actinorhize (Willey <i>et al.</i> , 2008).....	18
<b>Figure 13 :</b>	Processus d'infection intracellulaire du système racinaire de <i>Casuarina glauca</i> par Frankia (Benabdoun <i>et al.</i> , 2012).....	20
<b>Figure 14 :</b>	Schéma comparatif entre l'infections intra et inter-cellulaire chez les plantes actinorhiziennes. P : prenodule, LN : lobe nodulaire (d'après Franche <i>et al.</i> , 1998).....	21
<b>Figure 15 :</b>	Structure des nodules de légumineuses et des plantes actinorhiziennes. <b>A</b> : Nodule de Légumineuse de type indéterminé. <b>B</b> : Nodule de Légumineuse de type déterminé. <b>C</b> : Lobe nodulaire actinorhizien (d'après Pawlowski et Bisseling, 1996).....	22
<b>Figure 16 :</b>	Nodule et racines nodulaires de <i>Casuarina glauca</i> .....	22
<b>Figure 17 :</b>	La forme des spores de quelques espèces de champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA).....	24
<b>Figure 18 :</b>	Appressorium.....	25
<b>Figure 19 :</b>	Arbuscules.....	26
<b>Figure 20 :</b>	Vésicules.....	26
<b>Figure 21 :</b>	Cycle de vie des CMA.....	27
<b>Figure 22 :</b>	Racine de <i>Rhododendron</i> observées au microscope électronique (bar= 10µm) colonisée par le mycélium (in Smith et Read, 2008), La racine primaire des éricacées possède une seule couche de cellules qui sert à la fois d'épiderme et de cortex, colonisée par le champignon (Fortin <i>et al.</i> , 2008).....	27
<b>Figure 23 :</b>	Mycorhize des orchidées. A : le corallorhiza (orchidée non chlorophyllienne), B : peloton (Fortin <i>et al.</i> , 2008) .....	28
<b>Figure 24 :</b>	Morphologie des ectomycorhizes.....	29
<b>Figure 25 :</b>	Principaux types de mycorhize.....	30
<b>Figure 26 :</b>	Les mécanismes d'action des rhizobactéries (Ramos <i>et al.</i> , 2009).....	32
<b>Figure 27 :</b>	Cycle de reproduction de <i>Phytophthora</i> (d'après Bilodeau, 2008).....	39
<b>Figure 28 :</b>	Sporanges de <i>Phytophthora nicotianae</i> contenant des zoospores (a) et des chlamydospores (b) (Blancard, 1998). Symptômes racinaires (c) et flétrissements foliaires (d) chez la lavande causés par <i>Phytophthora nicotianae</i> (Dubernard, 2017).....	39
<b>Figure 29 :</b>	Tumeurs du collet provoquées par <i>Agrobacterium</i> (a) et le plasmide T de cette bactérie (b).	41
<b>Figure 30 :</b>	Photographie observée au microscope électronique de la surface d'un fruit colonisé par des bactéries (B), des levures (Y), et des champignons filamenteux (F). Issus de Buck <i>et al.</i> 2003.	40
<b>Figure 31 :</b>	la nodulation aérienne chez <i>Sesbania rostrata</i> .	45

# Table des matières

Introduction.....	1
<b>Chapitre I : Les micro-organismes de la spermosphère</b>	
1	Historique ..... 4
2	Les voies de transmission ..... 5
a.	La voie interne..... 5
b.	La voie florale ..... 5
c.	La voie externe..... 5
3	Microbiologie De La Spermosphère..... 6
<b>Chapitre II : Les micro-organismes de la rhizosphère</b>	
1.	La rhizosphère ..... 8
2.	La communauté microbienne de la rhizosphère..... 8
2.1	Les systèmes diazotrophiques..... 9
2.1.1.	Les diazotrophes exophytes..... 10
	-Le système diazotrophique exophyte libre..... 10
	-Le système diazotrophique exophyte associatives..... 10
2.1.2.	Les diazotrophes endophytes..... 10
	-Des bactéries endophytes associatives..... 10
	-Des bactéries endophytes symbiotiques..... 10
2.1.2.1	Symbiose Rhizobium- fabaceae..... 10
2.1.2.1.1	L'organogenèse du nodule..... 11
2.1.2.1.2.	Structure du nodule indéterminé ..... 11
2.1.2.1.3	Les étapes de la nodulation..... 13
2.1.2.1.3.1	Echange de signal d'infection..... 13
2.1.2.1.3.2	L'initiation de l'infection et la formation du cordon d'infection ..... 15
2.1.2.1.3.3	Fixation d'azote..... 15
2.1.2.1.4	Présentation d'autres modèles d'infection des plantes tropicales arborées (Infection par pénétration intercellulaire ("crack entry")..... 17
2.1.2.2.	La symbiose fixatrice d'azote avec <i>Frankia</i> ..... 18
2.1.2.2.1.	La formation du nodule actinorhizien..... 19
2.1.2.2.1.1	Pré-infection..... 19
2.1.2.2.1.2	Infection..... 20
2.1.2.2.1.3	Le processus d'infection intracellulaire ..... 20
2.1.2.2.1.4	L'infection de type intercellulaire ..... 21
2.1.2.2.2.	Structure du nodule..... 21
2.2.	Mycorhize..... 23
2.2. 1.	Les endomycorhizes ..... 23
2.2.1.1.	Les endomycorhizes à arbuscules ..... 24
	-Cycle de vie des CMA ..... 24
	a-Germination des spores..... 24
	b-Formation de l'appressorium..... 24
	c-Développement intra racinaire et formation d'arbuscules ..... 25
	d-Développement extraracinaire du mycelium..... 26
	e-Sporulation du mycélium extraracinaire..... 26
2.2.1.2.	Les endomycorhizes à peloton..... 27
2.2.1.2.1.	Les éricoides ..... 27
2.2.1.2.2.	Les Orchidées ..... 28
2.2.2.	Les ectomycorhizes ..... 28
2.2.3.	Les ect-endomycorhizes..... 29
	-Intérêts des mycorhizes..... 30
2.3.	Les endophytes racinaires septés DSE..... 31
2.4.	Les bactéries promotrices de croissance (PGPR)..... 32
2.4.1.	Définition..... 32

2.4.2.	Mécanismes utilisés par les PGPR pour promouvoir la croissance des plantes.....	33
2.4.2.1	La promotion directe.....	33
2.4.2.1.1	La fixation d'azote (N <sub>2</sub> ) .....	33
2.4.2.1.2.	Production des sidérophores .....	33
2.4.2.1.3.	Solubilisation du phosphate .....	33
2.4.2.1.4.	Solubilisation du potassium.....	33
2.4.2.1.5.	Production des phytohormones .....	33
2.4.2.1.5.1.	Production de l'Acide Indole Acétique (AIA).....	34
2.4.2.1.5.2.	Production des gibbérellines.....	34
2.4.2.1.5.3.	Production des cytokinines.....	34
2.4.2.1.5.4.	Production de l'éthylène.....	35
2.4.2.1.5.5.	ACC désaminase.....	35
2.4.2.2.	La promotion indirecte .....	35
2.5.	Les microorganismes phytopathogènes.....	37
2.5.1.	Champignons phytopathogènes.....	37
	- <i>Phytophthora nicotianae</i> : exemple de champignon phytopathogène qui attaque la lavande.....	38
2.5.2.	Bactéries phytopathogènes .....	40
	- <i>Agrobacterium tumefaciens</i> : exemple de bactérie phytopathogène provoquant des tumeurs	40
2.5.3.	Virus phytopathogènes .....	41
	-Cycle cellulaire du virus dans la plante .....	42

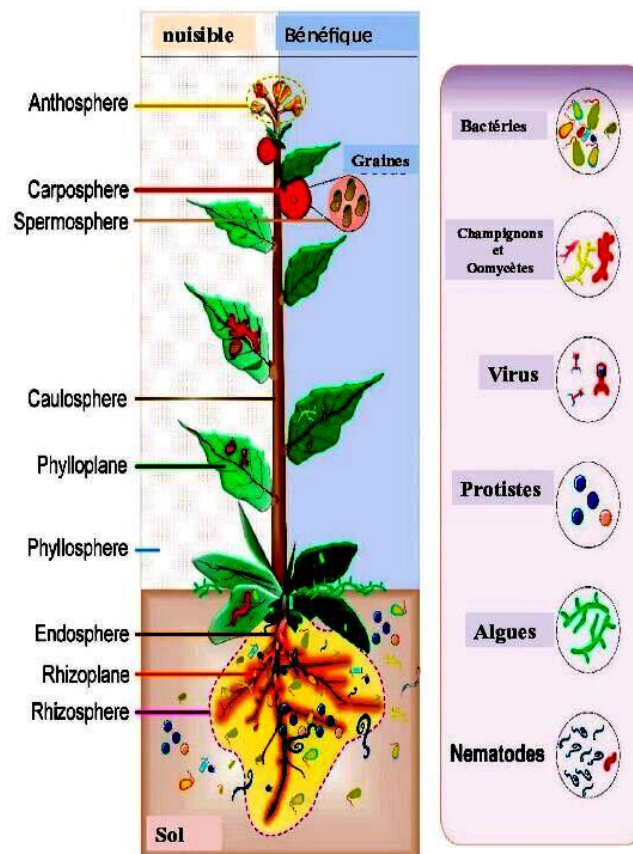
### **Chapitre III : Les micro-organismes de la phyllosphère**

1.	La phyllosphère .....	43
2	Modes de transmission des microorganismes dans la phyllosphère .....	44
2.1.	Transmission horizontale .....	44
2.2.	Transmission verticale .....	44
3	Formation des nodules caulinaires (La nodulation aérienne).....	44
4	Intérêt des microorganismes phyllosphériques.....	45
Références bibliographiques.....		47

## Introduction :

La microbiologie de l'environnement des plantes est un domaine de la science qui étudie la communauté de micro-organismes qui vivent en relation avec les plantes, avec la partie aérienne ou la phyllosphère et avec la partie racinaire ou la rhizosphère.

La plupart des plantes accueillent diverses communautés microbiennes (figure 1). Certains sont bénéfiques pour la plante et ont un effet positif sur sa croissance et son développement incluent les symbiotes (rhizobia, actinobactéries et champignons mycorhiziens) et les saprophytes libres qui augmentent la disponibilité des nutriments et la synthèse des substances de croissance des plantes et/ou suppriment les pathogènes (PGP). Par ailleurs, d'autres microorganismes qui soit n'interagissent pas avec les plantes (interaction neutre sans effets) soit fonctionnent comme des agents phytopathogènes.



**Figure 1.** Microbiome de l'écosystème végétal d'après Shelake *et al.* (2019). Microbiote végétal colonisant différentes niches à la surface et à l'intérieur des tissus végétaux. Les parties supérieures de la plante ou la phyllosphère est principalement composée de feuilles.

Les racines, sont généralement influencées par les propriétés du sol

Une plante médicinale est une plante dont au moins une de ses parties (feuille, tige, racine, graine, écorce ou tout autre organe) peut être employée à des fins thérapeutiques dans le but de prévenir, soigner ou soulager divers maux. Il existe plusieurs centaines de milliers d'espèces différentes, que l'on peut cueillir ou récolter. En effet, les plantes médicinales étant issues de la nature, il est possible d'encroiser tous les jours.

L'étude des microorganismes de la rhizosphère des plantes médicinales est très cruciale, car il est bien connu qu'elles ont un impact sur leur croissance comme la majorité des plantes et produisent également des métabolites à intérêts industriels et améliorent la qualité des médicaments (Bafana, 2013). Le rôle des microorganismes dans la croissance des plantes, la disponibilité des nutriments, la résistance aux maladies, le rendement et la qualité des composés médicinaux sont démontrés chez les plantes médicinales (Egamberdiev *et al.*, 2015).

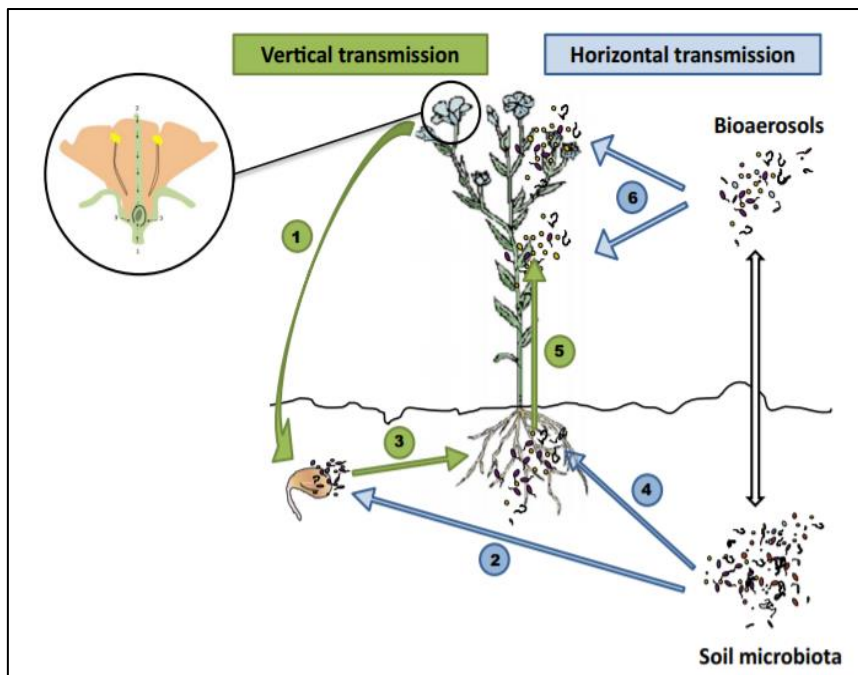
Il existe un intérêt croissant pour la recherche sur l'interaction entre les plantes médicinales et leur microbiote.

Les plantes sont entourées de micro-organismes au niveau des graines, des racines et des pousses. Comme le suggère le chevauchement entre les communautés microbiennes de la phyllosphère et de la rhizosphère (Bai *et al.*, 2015; Bodenhausen *et al.*, 2013) et des communautés aéroportées (Fig. 2). Il y a un continuum entre ces trois compartiments :

(1) **les micro-organismes de la spermosphère** proviennent à la fois des fleurs et de la communauté microbienne du sol,

(2) **les micro-organismes de la rhizosphère** proviennent à la fois de la communauté microbienne transmise par les graines et le sol,

(3) **les micro-organismes de la phyllosphère** proviennent en partie du sol et de la rhizosphère,



**Figure 2.** Diagramme schématisant les sources de micro-organismes associés aux différents compartiments végétaux (spermosphère, rhizosphère et phyllosphère) (Maude, 1996). Les micro-organismes de la spermosphère sont recrutés à partir de fleurs, de fruits et de graines. (1) par voie interne, florale ou externe et à partir des communautés du sol. (2) via la communication trophique et de signal ; micro-organismes dans la rhizosphère est recrutée dans la spermosphère. (3) et des communautés vivant dans le sol via la communication trophique (4) ; les micro-organismes de la phyllosphère proviennent de la graine et de la rhizosphère, (3, 5) mais principalement des communautés aéroportées sur leur capacité à adhérer à la surface de la plante et à résister aux stress biotiques et abiotiques. (6).

Le recrutement des communautés microbiennes dans ces différentes sphères (spermosphère, rhizosphère et phyllosphère) repose sur un réseau de communication subtil entre la plante et les micro-organismes. Cette communication joue un rôle majeur dans la sélection de populations microbiennes spécifiques, et il y a de plus en plus de preuves que la plante hôte est capable de perturber les communications entre micro-organismes à son avantage.

La plante n'est pas une entité autonome, elle dépend des micro-organismes, pour sa croissance, sa nutrition et sa santé.



## *Chapitre I*

### *Les micro-organismes de la spermosphère*

## 1. Historique :

Le rôle joué par les graines dans la promotion et l'établissement des interactions microbiennes a été largement ignoré jusqu'aux années 1940 et 1950. La spermosphère a été mentionnée pour la première fois dans une étude sur les agents pathogènes des semis de graminées fourragères, dans laquelle il a été noté que « le développement de *Fusarium culmorum* dans l'environnement à proximité immédiate des graines en germination était différent de celui du sol environnant. " Il a défini cette région comme la « **spermatosphère** » (Nelson, 2004).

Ce n'est qu'à la fin des années 1950 et au début des années 1960 que le concept de spermosphère a été pleinement développé par Onorato Verona, qui a défini la spermosphère comme la zone d'activité microbienne élevée autour d'une graine en germination. Dans son article de 1958, il a décrit la spermosphère en détail, y compris le rôle des exsudats et des mucilages des graines dans la régulation de la stimulation microbienne. Il a développé ce concept plus complètement dans un article de 1963 dans lequel il a fourni plus d'exemples de la stimulation microbienne se produisant dans le sol autour des graines (Nelson, 2004).

Slykhuis (1947) a aussi reconnu la nature distincte et unique des micro-organismes de la spermosphère et a émis l'hypothèse qu'ils pourraient contribuer aux communautés microbiennes de la rhizosphère. Le concept de spermosphère a été élargi en 1966 pour inclure la surface des graines, une zone que Watson a appelé le spermoplane.

Depuis les années 1960, il y a eu relativement peu d'études en biologie de la spermosphère. Cependant, malgré la lenteur des progrès au cours des dernières décennies, la spermosphère est aujourd'hui reconnue comme un site dynamique d'interactions microbiennes, régi en grande partie par la nature et la quantité de substances libérées des graines lors de la germination. L'importance de cet habitat pour la microbiologie végétale devient plus apparente et les efforts de recherche en biologie de la spermosphère devraient augmenter.

## 2. Les voies de transmission :

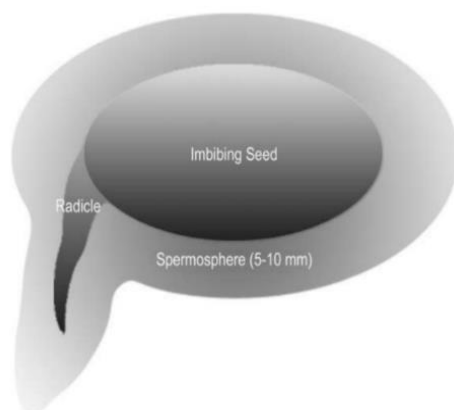
Les graines ( structures sexuellement dérivées de spermatophytes) sont non seulement responsables de la transmission du matériel génétique d'une génération de plante à une autre mais également fortement liées à la transmission verticale de multiples micro-organismes allant des agents favorisant la croissance des plantes aux microorganismes phytopathogènes. Ces micro-organismes sont associés à différents compartiments de semences, tels que l'embryon, les tissus de stockage et le tégument, représentant des micro-habitats distincts. La colonisation de ces micro-habitats dépend fortement de la voie de transmission des microorganismes.

Il existe trois principales voies de transmission :

- a. **La voie interne**, dans laquelle les micro-organismes colonisent les graines en développement via le xylème ou le tissu non vasculaire de la plante mère.
- b. **La voie florale** qui représente la colonisation microbienne des graines en développement à travers la stigmatisation.
- c. **La voie externe**, ce qui correspond à la colonisation des graines matures par contact de la graine avec des micro-organismes situés sur les fruits ou les résidus de battage (Maude, 1996, Fig.2).

Les micro-organismes transmis par les voies interne et florale se trouvent généralement dans tous les compartiments des graines, tandis que ceux transmis par la voie externe sont presque exclusivement associés au tégument (Singh et Mathur, 2004).

La voie externe étant plus permissive que la voie interne ou florale, les communautés microbiennes associées au tégument sont généralement plus diversifiées que celles associées à l'endosperme ou à l'embryon (Barret *et al.*, 2016).



**Figure 3 :** Schéma représente la spermosphère (Nelson, 2004)

### **3. Microbiologie de la spermosphère**

De nombreuses études ont démontré que les graines abritent une communauté microbienne diversifiée, non seulement à leur surface mais également à l'intérieur de l'embryon. Pendant la germination, la prolifération de ces micro-organismes et d'autres micro-organismes du sol est stimulée.

Malgré le rôle important des communautés microbiennes du sol dans l'établissement des communautés de spermosphère, le génotype de la graine peut certainement affecter les niveaux quantitatifs des populations bactériennes indigènes qui colonisent la spermosphère et qui s'associent de manière endophytique avec les graines et les racines. Les graines peuvent également sélectionner des groupes spécifiques d'organismes, car des études ont montré que les microorganismes qui prolifèrent dans la spermosphère semblent différer de ceux qui colonisent la rhizosphère.

Les espèces de *Fusarium* et de *Pythium* étaient les champignons dominants des spermosphères récupérés des graines de navet germées pendant 72 h dans le sol. Des fréquences élevées des oomycètes *Achlya* et *Thraustotheca* ont également été détectées. *Rhizoctonia solani* et des espèces de *Penicillium*, *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Cylindrocarpon*, *Cephalosporium*, *Cunninghamella*, *Mucor* et *Helicocephalum* ont été récupérés à faible fréquence. Ces mêmes champignons ont également été isolés à peu près dans les mêmes proportions dans les spermosphères de tomate, oignon, chou, haricot, moutarde et melon.

Parmi les bactéries colonisant les graines d'orge aux premiers stades de la germination, on trouve les espèces d'*Acinetobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Pantoea* et *Pseudomonas*, tandis que les graines de coton ont été colonisées par des espèces de *Xanthobacter*, *Enterobacter*, *Microbacterium*, *Paracoccus*, *Curtobacterium*, *Micrococcus*, *grobacterium*, *Paenibacillus* et d'autres bactéries non identifiées.

Pendant l'imbibition des graines, plusieurs composés tels que les glucides, les acides gras, les acides organiques et les acides aminés sont libérés dans le sol environnant (Nelson, 2004 ; Schiltz *et al.*, 2015). La nature et la quantité de ces exsudats sont non seulement liées aux espèces végétales mais également à des facteurs abiotiques tels que le type de sol et la température (Nelson, 2004; Schiltz *et al.*, 2015). La libération de ces composés organiques dans le sol crée une zone densément peuplée de micro-organismes. Pour se protéger contre la myriade de micro-organismes à proximité, les graines libèrent des composés antimicrobiens

au cours du processus de germination tels que des flavonoïdes et des peptides modulant la croissance microbienne (Terras *et al.*, 1995 ; Scarafoni *et al.*, 2013).

L'attachement aux graines représente un autre trait crucial pour la colonisation de la spermosphère par les bactéries commensales et pathogènes. La fixation peut être médiée par la formation du biofilm et est régulée par la détection du quorum sensing (QS) (un ensemble de mécanismes régulateurs qui contrôlent l'expression coordonnée de certains gènes bactériens au sein d'une même population), qui pourrait également expliquer la résistance microbienne à divers composés antimicrobiens produits par la plante pendant la germination ou par des concurrents microbiens. QS participe également à la production d'un certain nombre de composés antimicrobiens tels que les phénazines ou le 2,4-diacétylphloroglucinol (Nelson, 2004) et à la libération de toxines bactériennes. Les micro-organismes associés aux graines représentent les premières populations à coloniser les semis et finalement les racines.

## *Chapitre II*

### *Les micro-organismes de la rhizosphère*

### **1. La rhizosphère :**

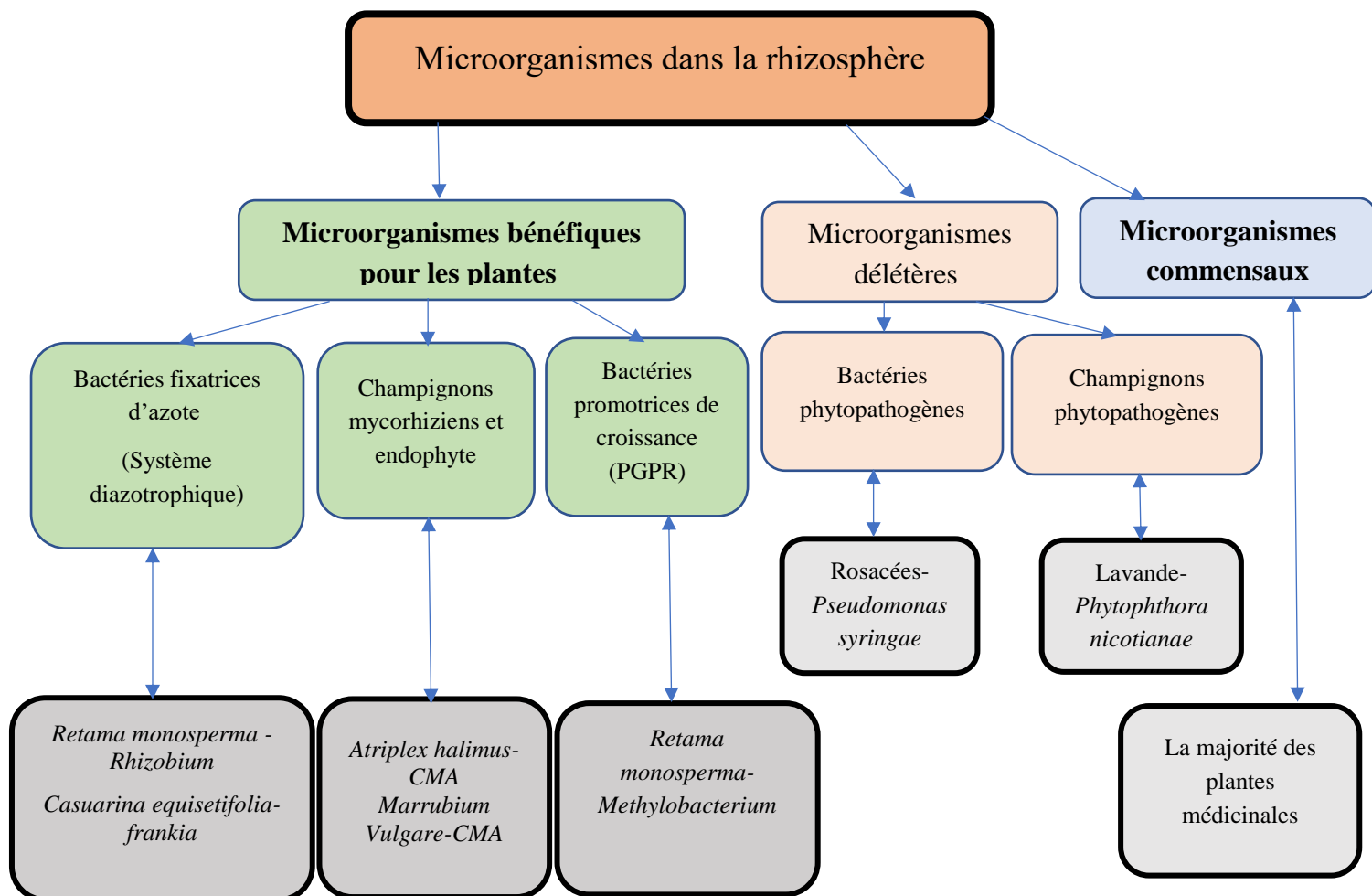
La rhizosphère est la région du sol directement influencée par les racines. On distingue le rhizoplan qui est l'interface racine/sol et le sol rhizosphérique situé au voisinage immédiat de la racine et soumis à son influence.

La rhizosphère est donc un environnement particulier où les flux de matières et d'énergie entre le sol et la plante sont particulièrement intenses.

La plante y mobilise l'eau et les éléments minéraux nécessaires à son développement et à sa croissance, induisant aussi des modifications importantes du potentiel de l'eau et des concentrations ioniques du sol rhizosphérique. En outre, les échanges ioniques et gazeux entre les racines des végétaux et le sol, contribuent à modifier d'une manière notable le pH, le potentiel d'oxydo-réduction de la rhizosphère et, par suite, la biodisponibilité de nombreux éléments minéraux nutritifs ou non.

### **2. La communauté microbienne de la rhizosphère**

La richesse de la rhizosphère en sucres, acides aminés, acides organiques, isoflavonoïdes, régulateurs de croissance et en enzymes libérées par la plante, rend ce microenvironnement un site d'une remarquable activité biologique et d'une richesse naturelle en vers de terre, nématodes, protozoaires, champignons, algues et bactéries. Ces êtres vivants sont requis dans le processus de la décomposition et le recyclage des nutriments dans la rhizosphère de la plante, Ils jouent aussi un rôle significatif dans l'état de la santé de plantes : certains sont nuisibles, d'autres sont bénéfiques et certains ne semblent avoir aucun effet (commensale) (Fig.4).



**Figure 4 :** Diversité microbienne dans la rhizosphère des plantes médicinales et aromatiques.



## **2.1. Les systèmes diazotrophiques :**

Les microorganismes capables de fixer biologiquement l'Azote sont appelés diazotrophes ou diazotrophiques, ils réduisent l'azote moléculaire ( $N_2$ ) en ammonium ( $NH_4$ ) grâce à leur enzyme spécifique, la nitrogénase. Les systèmes diazotrophiques sont répartis en deux grands groupes :

### **2.1.1. Les diazotrophes exophytes:**

Regroupant toutes les bactéries vivant en dehors de la plante.

#### **-Le système diazotrophique exophyte libre :**

Ce système est composé de bactéries fixatrices d'azote atmosphérique vivant à l'état libre dans le sol, sans être en contact avec aucune plante. La majorité des bactéries diazotrophes libres sont des cyanobactéries, des bactéries photosynthétiques et des bactéries hétérotrophes. Le potentiel de fixation d'azote par ce système serait très modéré et ne constituerait que 16 à 20% du besoin total de la plante en azote.

**-Le système diazotrophe exophyte associative** ou « épiphytes » quand ces bactéries résident plus au niveau de la surface de feuilles (Phylloplan) ou au contact avec les racines (rhizoplan) d'une plante saine ; Ces exophytes associatives peuvent aussi coloniser d'autres types d'organe tels que les bourgeons et les fleurs. En général, les feuilles constituent l'espace le mieux colonisé par les épiphytes

### **2.1.2. Les diazotrophes endophytes :**

Incluant toutes bactéries vivant à l'intérieur de la plante hôte. Les bactéries appartenant à ces systèmes sont des diazotrophes nichant à l'intérieur de leur plante hôte. Selon l'espace colonisé dans la plante hôte, ces bactéries sont réparties en deux groupes distincts

**-Des bactéries endophytes associatives** qui se logent dans les espaces intercellulaires.

**-Des bactéries endophytes symbiotiques** caractérisées par leur localisation à l'intérieur d'une structure spécifique dite nodosité. Ce système est communément qualifié de symbiose fixatrice d'azote. Il est illustré par des associations symbiotiques et spécifiques établies entre les couples de bactéries type rhizobia et des plantes légumineuses et des actinomycètes du genre *Frankia* avec des plantes actinorhiziennes telle *Casuarina*.

#### **2.1.2.1. Symbiose *Rhizobium*-Fabaceae**

Les rhizobia sont des bactéries en forme de bâtonnets à l'état libre, non sporulant, généralement mobiles grâce à la présence d'un ou plusieurs flagelles.

La symbiose Légumineuse-Rhizobium est une interaction hautement adaptée et régulée, il ne s'agit pas d'une interaction obligatoire ou permanente. En effet, les deux partenaires peuvent vivre indépendamment et de manière autonome et chaque nouvelle génération de plante doit être infectée par de nouvelles bactéries.

Au cours de cette interaction un nouvel organe, **le nodule**, est formé sur les racines ou plus rarement sur les tiges. C'est au sein de cet organe protecteur que l'azote atmosphérique est fixé par les bactéries (fig. 5).



**Figure 5** : des nodules dans l'interaction Rhizobia-légumineuse.

#### **2.1.2.1.1. L'organogenèse du nodule**

Chez les légumineuses deux types de nodules peuvent être distingués suivant la persistance ou non du méristème.

- **les nodules, de types indéterminés**, sont initiés à partir des cellules du cortex interne et ont un méristème apical persistant qui produit en continue de nouvelles cellules. Les nodules matures sont alors allongés et organisés en zones histologiquement différentes.
- **les nodules, de types déterminés** : sont initiés à partir du cortex externe et ont un méristème transitoire. Les nodules matures sont sphériques et toutes les cellules du tissu central sont globalement au même stade de différenciation.

#### **2.1.2.1.2. Structure du nodule indéterminé** : il existe cinq zones (fig. 6)

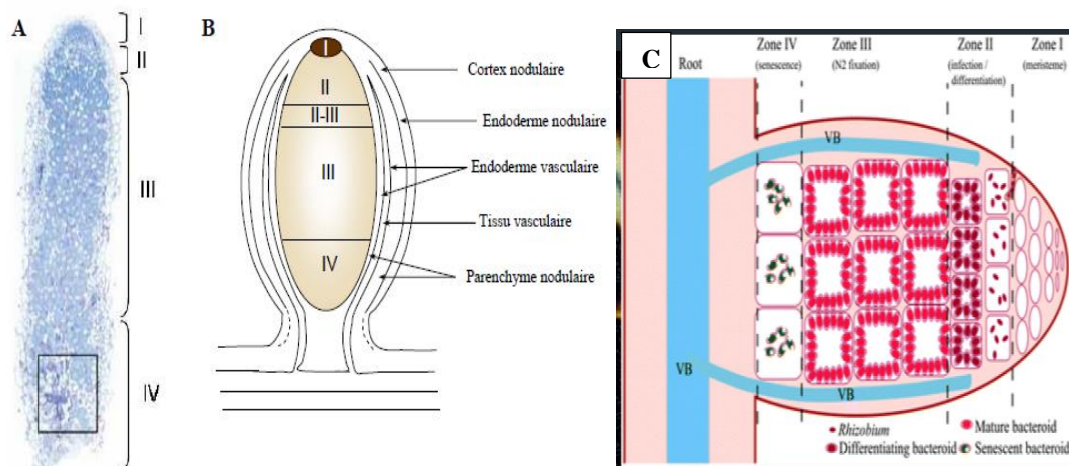
- **Zone méristématique (zone I)** : Située à l'apex. Cette zone est toujours dépourvue de bactéries.
- **Zone de préfixation (zone II)** : Contient les cellules corticales nouvellement produites par le méristème et qui sont envahies par des cordons d'infection rhizobiens. Les bactéries sont déversées dans les cellules, entourées par la membrane

péribactéroïdienne, et leur différenciation en bactéroïdes commence. *À ce stade, elles ne fixent pas encore l'azote.*

- **Interzone II-III** dans laquelle la différenciation des bactéroïdes se poursuit et la fixation de l'azote commence. Cette zone se caractérise par la présence de nombreux amyloplast.
- **Zone de fixation (zone III)** où les bactéroïdes pleinement différenciés fixent activement l'azote.
- **Zone de sénescence (zone IV)**

De la périphérie vers l'intérieur du nodule, on trouve :

- **le cortex externe** constitué en majorité par des cellules parenchymateuses
- **le cortex moyen**
- **les tissus vasculaires** constitués surtout de phloème et entourés par un endoderme et un péri-cycle
- **le cortex interne** formé d'une à trois couches de cellules
- **le parenchyme central** qui contient les cellules infectées par les Rhizobia et des cellules non infectées plus petites.



**Figure 6 :** Zonation d'un nodule indéterminé (Rodriguez-Haas et al. 2013).

A : Coupe longitudinale d'un nodule colorée au bleu de toluidine. Le cadre entoure les cellules en cours de sénescence. B et C : Schéma d'une coupe longitudinale d'un nodule mature représentant les différentes zones du nodule et les tissus les entourant.

### 2.1.2.1.3. Les étapes de la nodulation :

#### 2.1.2.1.3.1. Echange de signal d'infection :

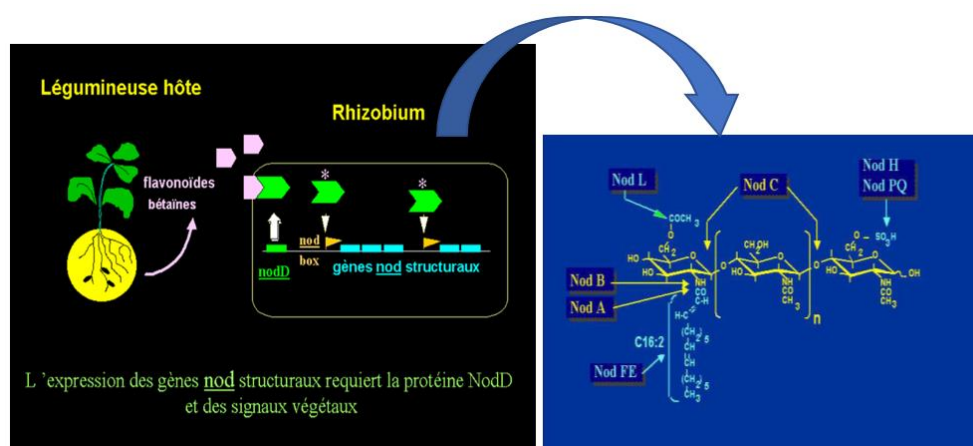
Le processus de nodulation commence par un échange de signaux entre la plante hôte et la bactérie. Les racines rejettent par leur métabolisme normal, des substances qui ont des effets attracteurs sur certains microorganismes du sol. Certaines d'entre elles appartiennent au groupe des flavonoïdes tels que les flavones, isoflavones, flavonone, Ce signal, une fois perçu par le rhizobium, induit la production de facteurs Nod , Ceux-ci sont des signaux de nodulation ciblant le programme organogénétique de la plante (fig. 7).

Il existe trois catégories de gènes :

**Les gènes régulateurs (*nod D*) :** ils codent les protéines constituant le facteur de transcription. Chez les diazotrophes, ce gène s'exprime de manière constitutive. Les facteurs de transcription sont donc continuellement synthétisés, que la bactérie soit en symbiose ou non ;

**Les gènes communs (*nod A, B, C*) :** sont présents chez tous les Rhizobium déterminent la synthèse de la structure de base commune à tous les facteurs Nod. Ces gènes *nod ABC* jouent un rôle absolument essentiel dans la formation des nodosités. Une mutation dans l'un de ces gènes rend la bactérie incapable d'établir une relation symbiotique.

**Les gènes spécifiques :** une combinaison de gènes *nod* spécifiques qui "décorent" le squelette oligochitinique à l'aide de substitutions particulières qui confèrent aux facteurs Nod leur spécificité.



**Figure 7 :** Echange de signal d'infection et la synthèse du facteur nod (Dénarié, 2000)

Les flavonoïdes pénètrent dans les bactéries et réagissent avec des facteurs de transcription synthétisés par les gènes régulateurs de l'opéron *nod*. Ceci déclenche un rétrocontrôle positif, entraînant l'expression des gènes communs et spécifiques. Les facteurs

*nod* sont alors synthétisés par les bactéries. Ceci déclenche le programme de nodulation chez la plante-hôte.

Les facteurs *nod* sont synthétisés grâce aux enzymes des gènes communs, puis modifiés par les enzymes des gènes spécifiques, qui introduisent des fonctions ou des molécules sur le squelette oligosaccharidique. Ainsi, à partir d'un même squelette, chaque diazotrophe va le modifier pour se l'approprier et le rendre spécifique.

Les FNods : sont des composés lipochito-oligosaccharidiques constitués d'un squelette oligomérique de N-acétyl-D-glucosamine (GlcNAc ; 3 à 5 résidus) liés en  $\beta$ -1,4 et d'une chaîne d'acides gras (de 16 à 18 atomes de carbone) au niveau de l'extrémité non réductrice.

- La nature de la chaîne d'acide gras ainsi que les substitutions (acétylation, sulfatation, méthylation, etc...) sur le sucre réducteur et sur le sucre non réducteur sont caractéristiques de chaque espèce et sont impliqués dans la spécificité d'hôte.
- Les FNods induisent la plupart des réponses de pré-infection. Ces réponses s'étalent dans le temps de quelques secondes à quelques heures et sont localisées dans différents tissus racinaires (épiderme, cortex, endoderme et péricycle)
- Les premières réponses observées sont localisées au niveau des poils absorbants.
- les FNods induisent une alcalinisation de la surface racinaire et une dépolarisation de la membrane des poils absorbants
- sur les poils absorbants de *M. sativa* traités aux FNods a permis de mettre en évidence un influx d'ions calcium rapidement suivi d'un efflux d'ions chlorure entraînant ainsi la dépolarisation de la membrane plasmique
- Des variations cycliques de la concentration en calcium
- FNods provoque également la déformation des poils absorbants en fin de croissance apicale
- FNods activent, au niveau du cortex interne, la reprise des divisions cellulaires qui sont à l'origine de la formation du primordium nodulaire
- FNods induisent l'expression de gènes, appelés gènes de nodulines précoces, au niveau des cellules de l'épiderme, du cortex et du péricycle de la racine
  - dans les heures qui suivent l'activation des racines par les facteurs Nod, on observe une réorganisation du cytosquelette qui conduit à la déformation des poils absorbants et à la réorientation de leur croissance apicale
  - Les rhizobia contenues dans la rhizosphère sont attirées grâce à de nombreux composés exsudés par les plantes dans leur rhizosphère
  - Deux étapes de liaison ont été décrites,

- La première consiste en une liaison faible et réversible faisant intervenir des lectines, une protéine bactérienne calcium dépendante et des polysaccharides de surface des bactéries.
- La deuxième étape constitue une liaison forte et irréversible et fait intervenir des fibrilles de cellulose synthétisées par les rhizobia

A la suite de l'attachement des bactéries, une déformation des poils absorbants est observée.

#### **2.1.2.1.3.2. Initiation de l'infection et la formation du cordon d'infection :**

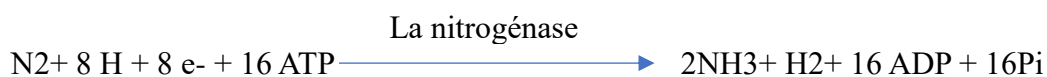
Les bactéries vont percer la paroi cellulaire du poil absorbant. La membrane du poil absorbant va s'invaginer et former un tube appelé **cordons d'infection** qui va s'enfoncer dans la cellule, la courbure piège les bactéries et la paroi pecto-cellulosique du poil absorbant à l'intérieur de la courbure est dégradée par des enzymes hydrolytiques de l'hôte.

Une fois atteinte l'épiderme, la progression des cordons d'infection dans les tissus internes de la racine est guidée par la formation de ponts cytoplasmiques de pré-infection formés dans les cellules du cortex sur le point d'être traversées.

Le cordon continue sa progression vers les tissus internes et produit des branchements en progressant vers le primordium nodulaire, augmentant ainsi le nombre possible de sites d'entrée des bactéries dans les cellules du nodule et assurant une bonne colonisation du nodule (fig. 8).

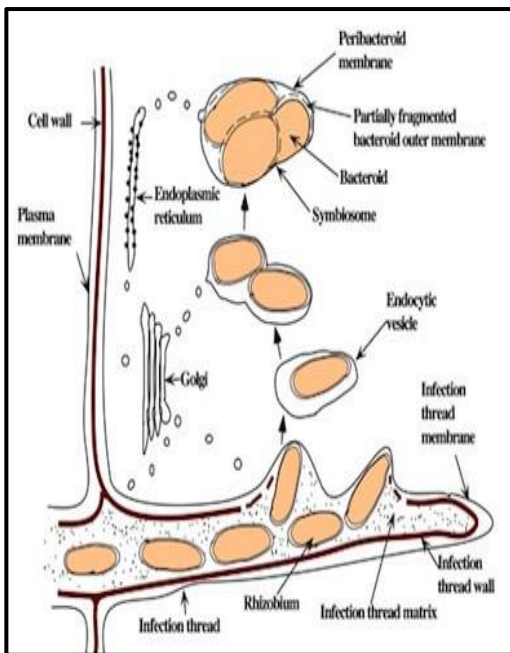
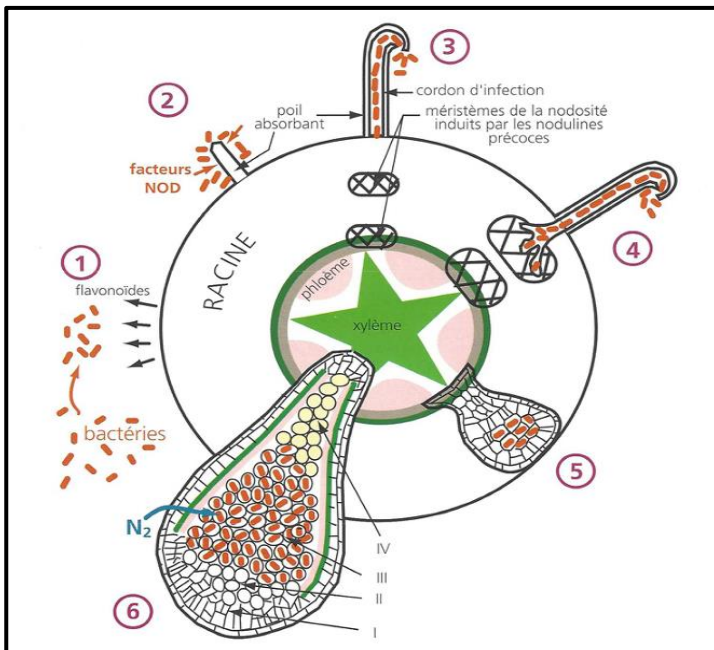
#### **2.1.2.1.3.3. Fixation d'azote :**

Au niveau des cellules de nodule les bactéries s'enkystent, augmentent de volume et changent de forme. On parle alors de bactéroïdes. Bien qu'à l'intérieur des cellules végétales, ces bactéroïdes sont entourés par une membrane péribactéroïdienne qui les isole, en partie, du cytoplasme cellulaire (fig.9.). A ce stade, ces microorganismes fabriquent **la nitrogénase**, l'enzyme responsable de la fixation du diazote en catalysant la réaction suivante :



C'est une réaction fortement consommatrice d'ATP

La nitrogénase est inactivée par l'oxygène, la fixation du  $\text{N}_2$  à lieu dans des cellules spécialisées dans lesquelles la nitrogénase est présente et la concentration en oxygène est faible grâce à la présence de la leghémoglobine (couleur rouge) qui maintient une concentration basse en oxygène (fig. 10).



**Figure 8 :** Les principales étapes de l'établissement de la symbiose Rhizobium-fabacée (Meyer et al. 2008)

**Figure 9 :** pénétration des bactéries et transformation en bactéroïdes.

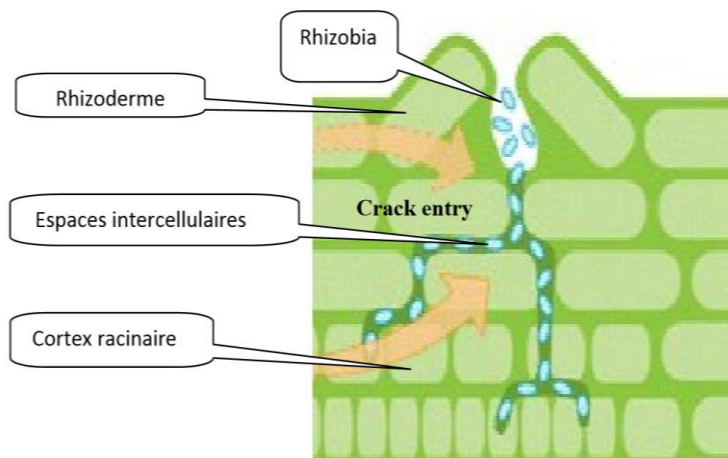


**Figure 10** : coupe au niveau nodule efficiente montrant la présence de la leghémoglobine de couleur rouge.

#### 2.1.2.1.4. Présentation d'autres modèles d'infection des plantes tropicales arborées

##### (Infection par pénétration intercellulaire ("crack entry"))

Le mode d'infection par pénétration intercellulaire ("crack entry") des racines des Légumineuses est le plus souvent observé chez les Légumineuses tropicales et subtropicales. Le mode d'infection intercellulaire où les bactéries s'immiscent entre les cellules épidermiques (rhizodermiques) et corticales de la plante se caractérise donc par l'absence de cordons d'infection et ne se produit pas par l'intermédiaire des poils absorbants (Fig.13). Ce mode a été décrit chez plusieurs Légumineuses comme par exemple chez *Arachis hypogea*, chez différentes espèces d'*Aeschynomene* et récemment chez *Retama monosperma*. Chez ces Légumineuses, l'infection se propage par division successive des cellules hôtes envahies et le nodule ainsi formé se caractérise par l'absence de cellules non envahies. (Selami, 2017)





**Figure 11** : Infection par pénétration intercellulaire (crack entry)

### 2.1.2.2. La symbiose fixatrice d'azote avec *Frankia* :

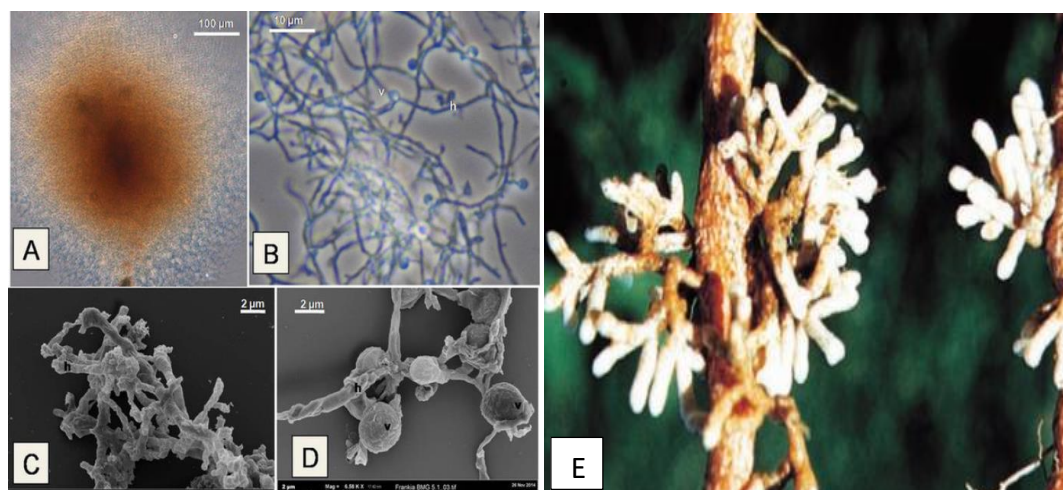
D'autres bactéries fixatrices d'azote sont capables d'interagir avec les plantes, comme les actinomycètes

Les actinomycètes du genre *Frankia* sont capables de noduler presque 220 espèces de plantes appartenant à 25 genres et regroupées dans huit familles (*Betulaceae*, *Casuarinaceae*, *Coriariaceae*, *Datisceae*, *Elaeagnaceae*, *Myricaceae*, *Rhamnaceae* et *Rosaceae*)

Le système *Frankia*-plantes ligneuses fixe, globalement, dans la biosphère presque autant d'azote (N<sub>2</sub>) que le système Rhizobium-fabacées, ces plantes actinorhiziennes poussent souvent sur des sols pauvres et peu fertiles, comme ceux de la toundra (*Dryas*), des dunes côtières (*Casuarina*, *Hippophae*, *Myrica* et *Elaeagnus*), des milieux froids (*Alnus* et *Dyas*) ou montagneux (*Alnus*) mais aussi des forêts (*Alnus*, *Casuarina*, *Coriaria* et *Shepherdia*). Elles sont donc utilisées pour la restauration des sols pauvres.

L'interaction entre *Frankia* et les plantes actinorhiziennes conduit à la formation d'un nouvel organe racinaire appelé nodule actinorhizien ou actinorhize (fig. 12) dans lequel la bactérie est hébergée et fournit de l'azote réduit à la plante. Les bactéries peuvent se différencier en trois types cellulaires, tous présents à l'état symbiotique (sauf quelques exceptions) : les hyphes, les vésicules et les sporanges. L'azote peut être fixé au sein des vésicules en condition symbiotique.

A la différence des nodules rhizobiens, les nodules actinorhiziens ont une vascularisation centrale et sont issus du péricycle racinaire. Ils sont de type indéterminé.



**Figure 12** : Souche *Frankia* en culture pure. : (A) une micro-colonie cultivée sur milieu de culture (B) observation microscopique optique des hyphes et des vésicules sphériques. (C)

et (D) micrographies électroniques à balayage montrant respectivement des hyphes et des vésicules (Gtari et al., 2015). (E) : Aspect d'une Actinorhize (Willey *et al.*, 2008).

#### **2.1.2.2.1. La formation du nodule actinorhizien :**

Les mécanismes moléculaires de la formation du nodule actinorhizien sont encore mal connus. Les gènes de plantes exprimés de manière spécifique en réponse à l'infection par *Frankia* sont appelés gènes de nodulines actinorhiziennes par homologie aux nodulines des Légumineuses. On distingue les nodulines précoces, exprimées pendant les premières phases de l'infection, et les nodulines tardives impliquées dans le fonctionnement du nodule.

##### **2.1.2.2.1.1. Pré-infection :**

Le développement du nodule actinorhizien ne se produit qu'en situation de carence azotée. Les racines émettent des signaux de nature inconnue qui sont perçus par *Frankia*. Les phénylpropanoïdes sont suspectés jouer ce rôle par analogie avec les Légumineuses.

En réponse à ces signaux végétaux, *Frankia* produit un signal symbiotique qui est perçu par la racine. Chez les plantes à voie d'infection intracellulaire, cela conduit à la courbure du poil racinaire. La nature biochimique des facteurs actinorhiziens est toujours inconnue (L'analyse du génome de *Frankia* indique l'absence des gènes requis pour la production des facteurs Nod).

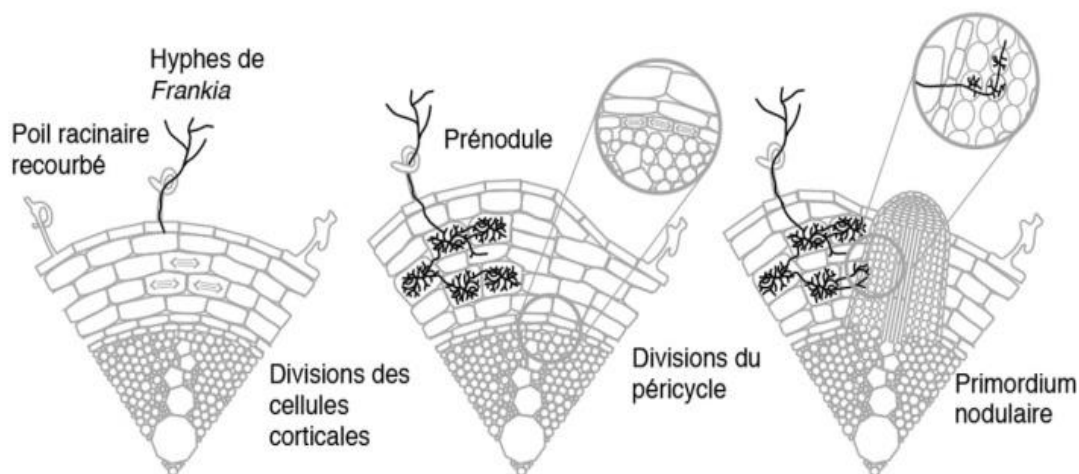
La bactérie *Frankia* produit des phytohormones qui pourraient jouer un rôle dans la signalisation symbiotique. Des auxines naturelles comme l'acide 3-indole acétique (IAA) ou l'acide phénylacétique (PAA) La cytokinine isopentényl adénosine (iPA) sont présentes dans le milieu de culture de certaines souches de *Frankia* à des concentrations assez élevées pour être perçues par la plante. Cependant, le rôle exact de ces hormones dans le processus de nodulation est toujours inconnu.

### 2.1.2.2.1.2. Infection :

Il existe deux modes d'infection des plantes actinorhiziennes par *Frankia* : La voie intracellulaire et la voie intercellulaire. Le type d'infection est dépendant de la plante hôte.

### 2.1.2.2.1.3. Le processus d'infection intracellulaire :

Décrite pour les genres *Myrica*, *Comptonia*, *Alnus*, *Casuarina* et *Allocasuarina*. Le premier signe du processus symbiotique est une déformation des poils absorbants, induite par des molécules de nature inconnue secrétées par *Frankia* lors du contact avec les racines de la plante hôte. Les hyphes pénètrent ensuite dans la zone de courbure d'un poil racinaire, puis sont encapsulés dans une structure équivalente au cordon d'infection des légumineuses. Suite à des divisions dans le cortex de la racine infectée, une structure appelée **prénodule** est observée. Ce prénodule contient de larges cellules corticales infectées par *Frankia*. Le primordium nodulaire est ensuite initié à partir de divisions observées dans le péricycle de la racine, dans une zone proche du prénodule. Les hyphes vont ensuite progresser du prénodule vers les cellules corticales du lobe nodulaire en formation. Un nodule mature est constitué de plusieurs lobes nodulaires, chacun possédant une vascularisation centrale, et un cortex organisé en plusieurs zones (fig. 13).

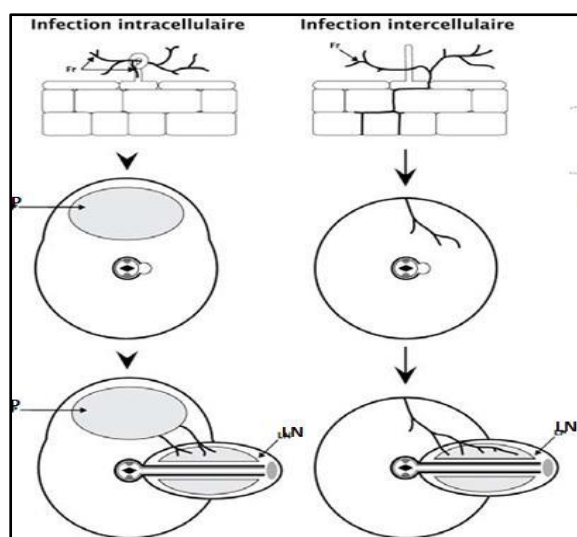


**Figure 13** : Processus d'infection intracellulaire du système racinaire de *Casuarina glauca* par *Frankia* (Benabdoun *et al.*, 2012).

#### 2.1.2.2.1.4. L'infection de type intercellulaire

(Chez *Eleagnus Hippophae*, *Shepherdia Ceanothus*, *Discaria* et *Cercocarpus*. Chez ces plantes, les hyphes de *Frankia* pénètrent entre deux cellules du rhizoderme de la racine et progressent dans l'apoplaste. Des cordons d'infection intracellulaires apparaissent postérieurement. Dans ce cas, il n'y a pas de formation d prénodule, mais des divisions cellulaires corticales peuvent avoir lieu, Les cellules issues de ces divisions restent toutefois dépourvues de *Frankia*.

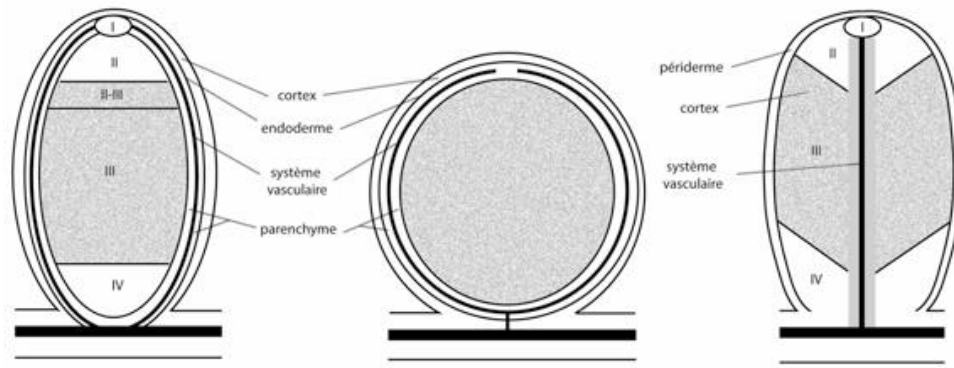
Comme pour l'infection intracellulaire, des divisions sont induites au niveau du péricycle et donnent naissance à un lobe nodulaire, dont le cortex est envahi par des cordons d'infection de *Frankia* (fig. 14).



**Figure 14 :** Schéma comparatif entre l'infections intra et inter-cellulaire chez les plantes actinorhiziennes. P : pré-nodule, LN : lobe nodulaire (d'après Franche et al., 1998).

**2.1.2.2.2. Structure du nodule :** quatre zones sont habituellement décrites (fig 15).

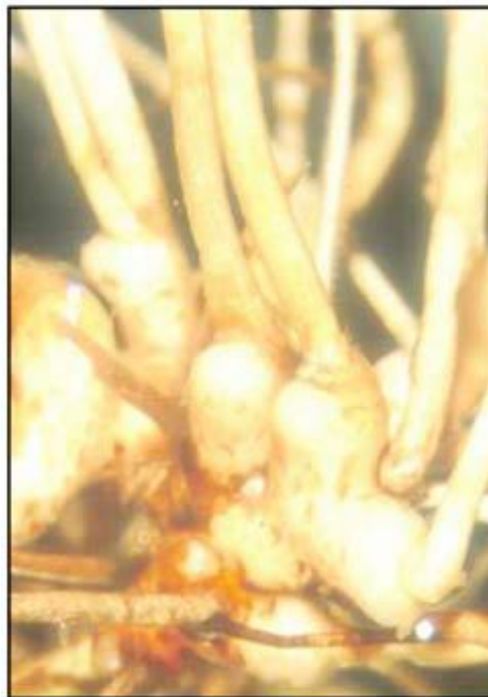
- la **zone méristématique** située à l'apex. Elle est responsable de la croissance indéterminée du nodule Cette zone est toujours dépourvue de *Frankia*.
- la **zone d'infection** adjacente au méristème apical. Les hyphes infectent les cellules corticales nouvellement formées.
- la **zone de fixation** qui contient à la fois des cellules infectées et des cellules non infectées. Les cellules infectées présentent une hypertrophie caractéristique et sont remplies d'hyphes. Les cellules bactériennes et végétales se différencient pour permettre la fixation de l'azote.
- la **zone de sénescence** qui est présente chez les nodules âgés. Les cellules bactériennes et végétales dégènèrent, *Frankia* produit des sporanges.



**Figure 15 :** Structure des nodules de légumineuses et des plantes actinorhiziennes. **A :** Nodule de Légumineuse de type indéterminé. **B :** Nodule de Légumineuse de type déterminé. **C :** Lobe nodulaire actinorhizien (d'après Pawlowski et Bisseling, 1996).

I : zone méristématique ; II : zone d'infection ; II-III : interzone II-III ; IV : zone de sénescence

Chez certaines espèces, une « **racine nodulaire** » dépourvue de *Frankia* est présente à l'apex de chaque lobe nodulaire. Dans ce cas, le méristème nodulaire est reprogrammé pour devenir un méristème de racine nodulaire mais les mécanismes moléculaires responsables de ce changement sont inconnus (fig. 18).



**Figure 16 :** Nodule et racines nodulaires de *Casuarina glauca*

## **2.2. Mycorhize**

Parmi les nombreux micro-organismes qui vivent dans la rhizosphère, on trouve des champignons microscopiques dont les filaments s'associent aux racines des plantes pour former un nouvel organe appelé : mycorhize.

Le terme mycorhize, « mukes » : champignon et « rhiza » : racine, désigne l'interaction entre les racines d'une plante et un champignon du sol. Ce type de symbiose se retrouve dans les environnements naturels impliquant un échange bi-directionnel des ressources entre les deux partenaires. C'est une des associations biologiques les plus communes et largement étudiées entre des plantes et des microorganismes. Il a été suggéré que 80 % des espèces de plantes terrestres, 90 % des espèces de plantes vasculaires et plus de 90 % de l'ensemble des familles de plantes soient mycorhizées.

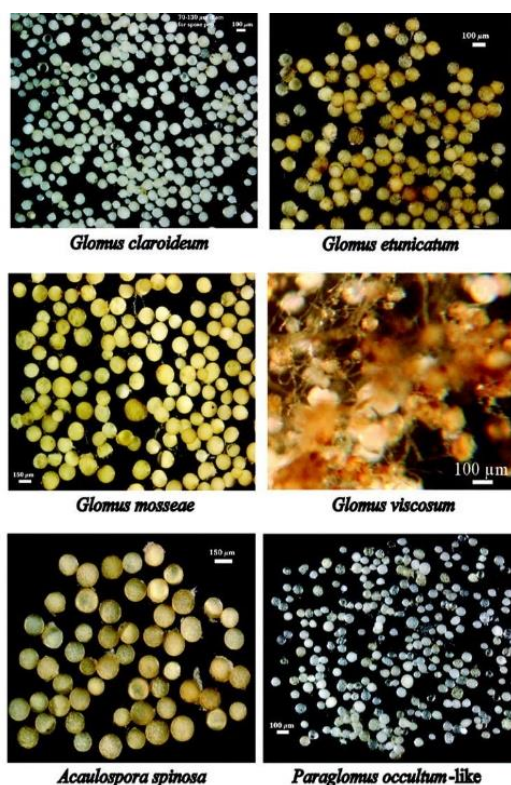
Ils existent différents types de mycorhizes, en fonction de la morphologie de l'interaction, caractérisés par une interaction superficielle (ectomycorhize) ou interne (endomycorhize) et par les deux (ectendomycorhize).

### **2.2.1. Les endomycorhizes :**

Caractérisées par la présence de structures fongiques à l'intérieur de certaines cellules de la plante hôte. En fonction de la morphologie de l'appareil fongique intracellulaire, on différencie plusieurs types d'endomycorhizes.

#### **2.2.1.1. Les endomycorhizes à arbuscules :**

La symbiose mycorhizienne à arbuscules a été observée pour la quasi-totalité des plantes chez lesquelles elle a été recherchée. Ainsi des plantes appartenant aux angiospermes, aux ptéridophytes, certaines gymnospermes, et même les gamétophytes de certaines plantes inférieures (lycopodes et mousses) sont capables de mycorhizer. Les champignons des endomycorhizes MA sont des symbiotes obligatoires et appartiennent à la famille des **Zygomycètes**, ordre des Glomales (Glomeromycota), genres : *Glomus*, *Acaulospora*, *Scutellospora*, *Gigaspora*, *Paraglomus* et *Archaeospora*.



**Figure 17 :** la forme des spores de quelque espèce des champignons mycorhiziens a arbuscule (CMA).

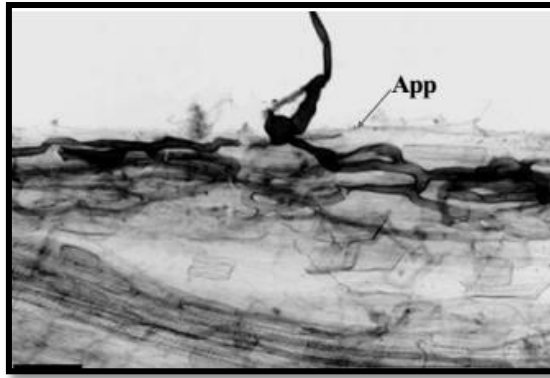
#### **-Cycle de vie des CMA :**

##### **a-Germination des spores :**

En plus des facteurs environnementaux tels que le pH du sol, la température et l'humidité, les exsudats racinaires et les composés volatiles tel que le CO<sub>2</sub> provenant de la respiration racinaire, peuvent déclencher la germination des spores et le début de croissance du tube germinatif la nature des composants actifs présents dans les exsudats racinaires des plantes n'est pas très connue. Toutefois, par analogie avec les interactions Rhizobium-légumineuses, il a été démontré que certains flavonoïdes et composés phénoliques stimulent considérablement la germination des spores (Fig.17) et la croissance du tube germinatif.

##### **b-Formation de l'appressorium : étape avant la colonisation intra-racinaire**

Le contact de l'hyphe est suivi d'une adhésion puis de la formation d'un appressorium à partir duquel se développera la phase intra-racinaire de la croissance du champignon. La formation de l'appressorium prend généralement place deux à trois jours après le rattachement de l'hyphe à la surface de la racine de la plante. Le seul inducteur de ce phénomène est le contact physique de l'hyphe avec la racine.



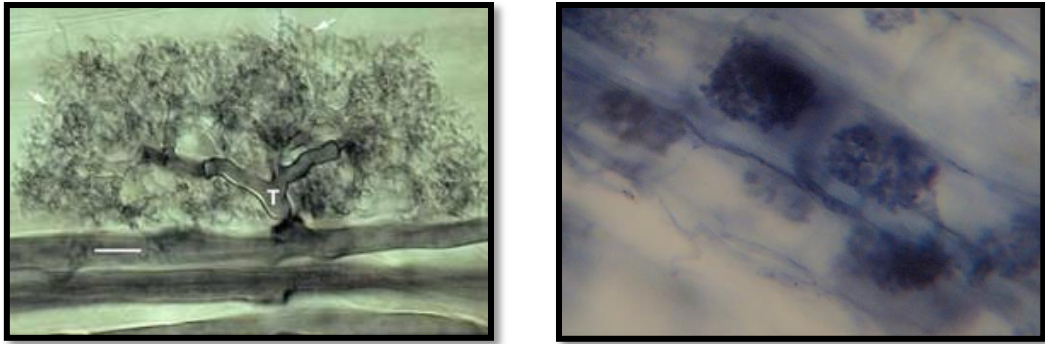
**Figure 18:** Appressorium

### **c-Développement intra racinaire et formation d'arbuscules :**

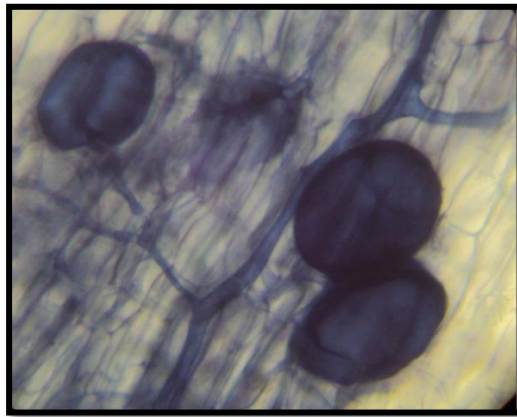
La pénétration du champignon dans l'épiderme de la racine ou des poils absorbants est immédiatement suivie par la colonisation intra- et intercellulaire du cortex par l'hyphe. Le degré de développement des hyphes dans les deux niveaux intra- et intercellulaire varie selon l'espèce de plante hôte et les conditions environnementales. Le développement intracellulaire du champignon est caractérisé par la production d'une structure à position terminale sur l'hyphe, très ramifiée et connue sous le nom d'**arbuscule**. Les arbuscules sont produits progressivement à l'intérieur des cellules corticales (fig. 19), L'hyphe ne pénètre pas (provoque une forte invagination de la membrane plasmique de la cellule). La paroi cellulaire des champignons devient progressivement plus mince durant le développement de l'arbuscule. Par conséquent, l'interface d'échange intracellulaire, dans laquelle les deux symbiotes sont en étroit contact, augmente considérablement. Cette interface intracellulaire est considérée comme le site d'échange bidirectionnel des éléments nutritifs entre les deux symbiotes.

Après la formation des arbuscules, certaines espèces de CMA forment des structures sphériques appelées **vésicules**, ce sont des gonflements de l'extrémité des hyphes. Elles sont produites à l'intérieur du cortex racinaire et peuvent avoir une position intracellulaire ou intercellulaire selon les espèces de CMA. Les vésicules jouent le rôle d'un organe de stockage de réserves lipidiques (fig. 20).





**Figure 19 : Arbuscules**



**Figure 20 : Vésicules**

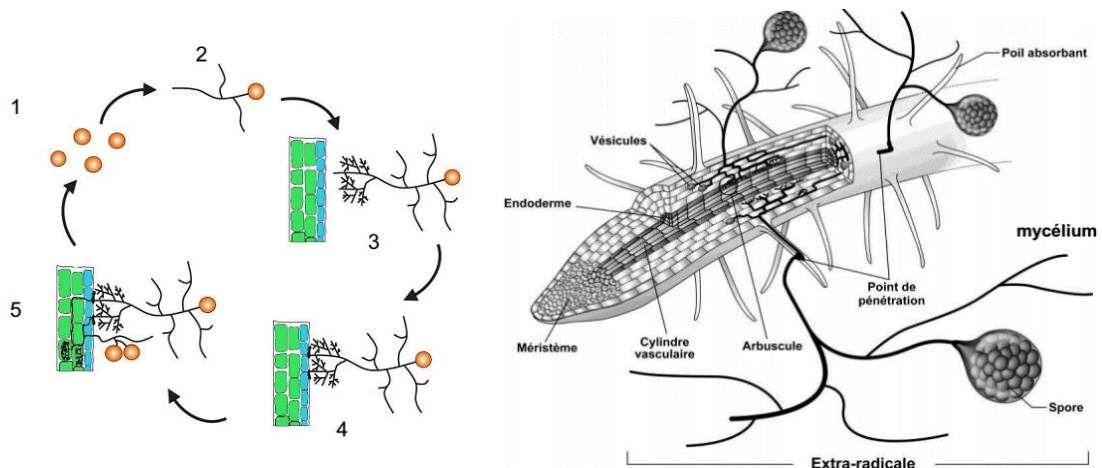
**d-Développement extraracinaire du mycélium:**

Suite à la colonisation du cortex racinaire, la phase extraracinaire prend place. Les hyphes du champignon commencent à se développer très rapidement et intensivement dans le sol.

**e-Sporulation du mycélium extraracinaire:**

La sporulation du mycélium représente la phase finale du cycle de vie du champignon mycorhizien à arbuscule (Fig. 21). Le champignon forme à partir de ces hyphes somatiques, de larges spores asexuées.

Le rôle des spores consiste probablement à maintenir la diversité génétique du champignon. Les spores en germant donnent naissance à de nouveaux individus et elles permettent leur dispersion dans de nouveaux habitats.

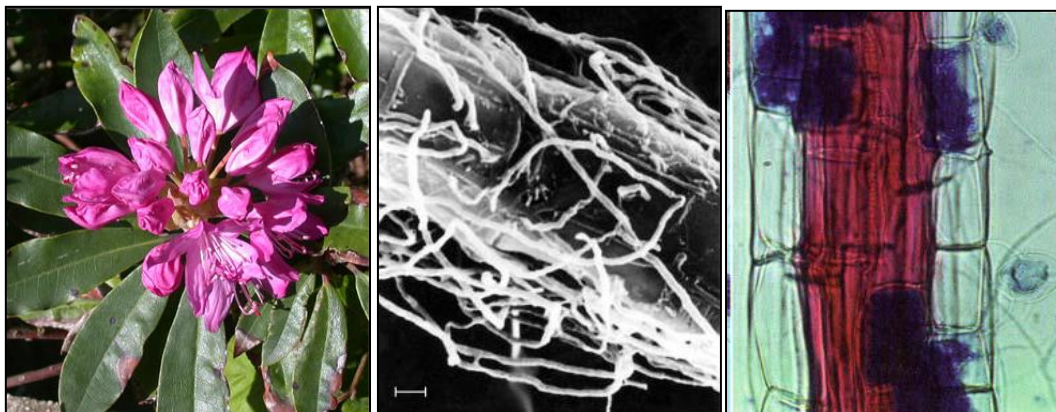


**Figure 21** : cycle de vie des CMA.

### 2.2.1. 2. Les endomycorhizes à pelotons:

#### 2.2.1. 2. 1. Des éricoïdes :

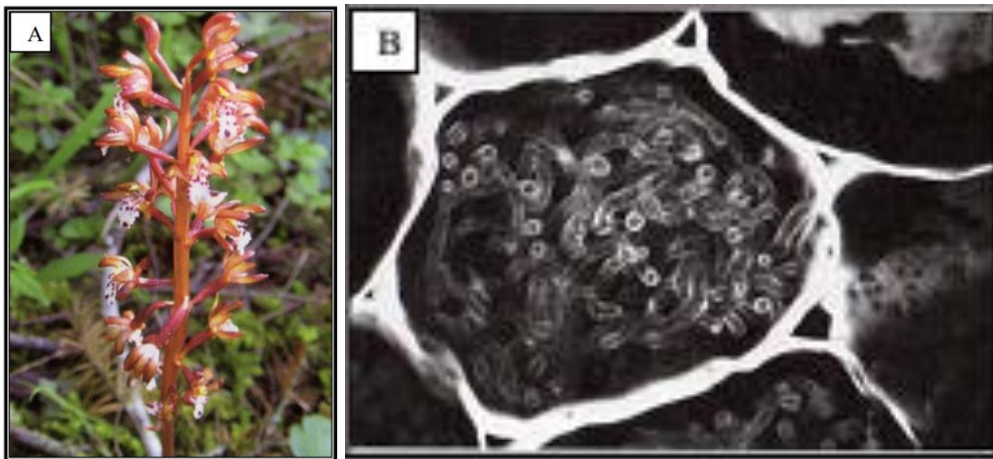
Les fines racines des Ericacées ne comportent généralement qu'une seule couche de cellules qui constitue à la fois l'épiderme et le cortex. Chez les mycorhizes de type éricoïde, le champignon pénètre l'épiderme et forme des pelotons mycéliens. Les champignons impliqués appartiennent à des Ascomycètes aux fructifications de petites dimensions et se cultivent facilement au laboratoire (fig. 22).



**Fig 22.** Racine de *Rhododendron* observées au microscope électronique (bar= 10µm) colonisée (in Smith et Read, 2008), La racine primaire des éricacées possède une seule couche de cellules qui sert à la fois d'épiderme et de cortex, colonisée par le champignon (Fortin et al., 2008).

### 2.2.1. 2. 2. Des orchidées

Les graines minuscules de nombreuses orchidées ne germent que si leur embryon est envahi par le mycélium symbiotique. Leur germination dépend de l'apport en carbone et en énergie par les hyphes mycéliennes. Mais les Orchidées conservent également leur endomycorhize au cours des stades ultérieurs de leur développement. Certaines orchidées non chlorophylliennes (plus de 100 espèces) dépendent totalement de leurs champignons associés pour survivre (fig. 23A). Ce type de mycorhize est constitué par des Basidiomycètes dont les hyphes forment des pelotons (fig. 23B).



**Figure 23** : Mycorhize des orchidées. A : le corallorhiza (orchidée non chlorophyllienne), B : peloton (Fortin et *al.*, 2008) .

### 2.2.2 Les ectomycorhizes :

Les plantes ectomycorhizienne sont généralement des espèces forestières, principalement des arbres et arbustes, avec lesquelles le partenaire fongique joue un rôle important dans la croissance des arbres dans divers habitats à travers le globe terrestre.

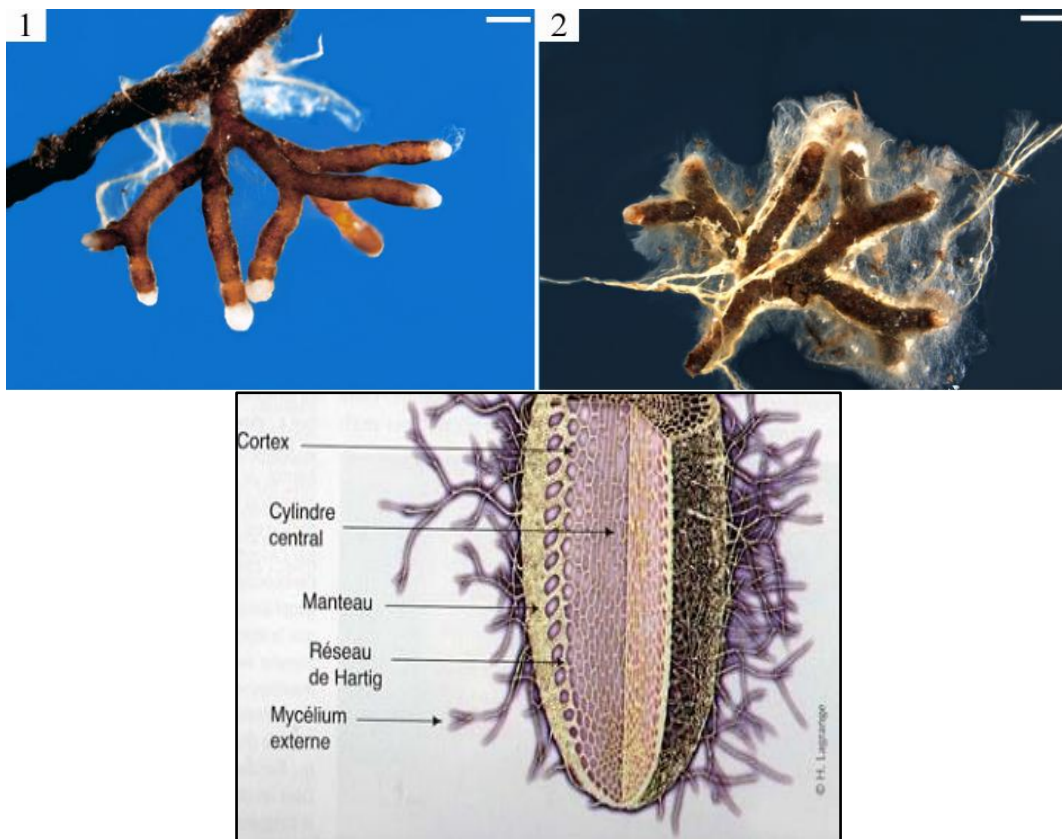
Les champignons qui forment des ectomycorhizes appartiennent aux Ascomycota, aux Basidiomycota et aux Zygomycota.

L'ectomycorhize est un organe dont la structure est relativement homogène. Les filaments du champignon (= hyphes), qui constituent son appareil végétatif (le mycélium) colonisent de jeunes racines, pénètrent dans l'espace intercellulaire (fig. 24).

Les hyphes forment ainsi un réseau, appelé **réseau de Hartig**, lieu des échanges bidirectionnels entre le partenaire fongique et végétal.

Dans l'ectomycorhize, contrairement aux endomycorhizes, les filaments du champignon ne pénètrent jamais dans les cellules végétales. A l'extérieur les hyphes s'agglomèrent pour constituer une masse fongique plus ou moins importante, **le manteau ou manchon**. De ce manteau se détachent des filaments mycéliens qui explorent le sol et forment ce que l'on appelle le **réseau extramatriciel**.

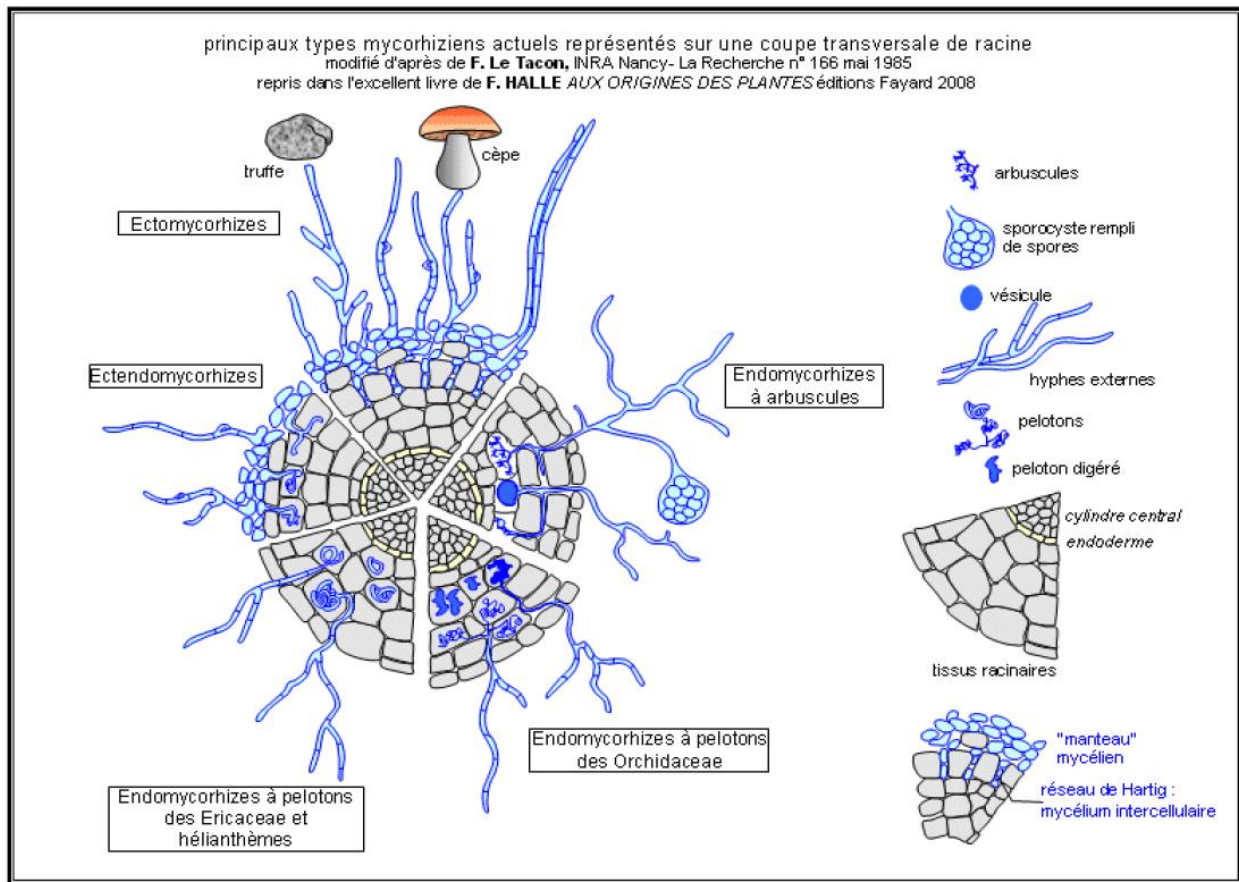
La formation d'une ectomycorhize entraîne des modifications de l'aspect des racines courtes. Ces changements, variables selon les espèces impliquées, se traduisent par un manteau plus ou moins charnu, différentes colorations et différentes ramifications.



**Figure 24** : Morphologie des ectomycorhizes.

### 2.2. 3. Les ectendomycorhizes :

Les ectendomycorhizes présentent à la fois des structures caractéristiques de la symbiose ectomycorhizienne et endomycorhizienne. Dans ce type de mycorhize les hyphes du champignon colonisent à la fois les espaces intercellulaires et intracellulaires de la racine. Elles sont connues chez les Ericacées, les Pinacées et les Monotropacées (Fig. 25).



**Figure 25 :** Principaux types de mycorhize.

**-Intérêts des mycorhizes**

**Pour le champignon :**

A l'intérieur de la racine, il est à l'abri des agressions extérieures : variations de température, prédateurs, pathogènes, etc. La plante lui fournit, en quantités importantes, des composés carbonés directement assimilables, essentiels à la vie du champignon, et qu'il est incapable de synthétiser lui-même. La plante apporte également au champignon de petites quantités d'acides aminés et de vitamines.

**Bénéfices pour la plante :**

Résistance à la sécheresse grâce au mycélium très dense et ramifié qu'il développe autour des racines, le champignon multiplie foi 1000 la surface de contact entre le sol et la racine, ce qui augmente les capacités d'absorption de l'eau par le système racinaire. Outre cette interface sol/racine extrêmement importante, les très fins filaments du mycélium peuvent s'insinuer dans les pores les plus petits du sol et en extraire l'eau, chose que les racines, plus épaisses, ne peuvent pas faire : en cas de sécheresse, ces micro-pores du sol constituent une réserve d'eau précieuse.

Autre avantage décisif pour la plante : le champignon l'aide à absorber les éléments nutritifs présents dans le sol, en solubilisant les minéraux contenus dans les fragments de roche, mais aussi en fragmentant les matières organiques du sol (humus) et en les rendant ainsi disponibles pour la plante.

Le mycélium offre également une protection aux racines contre les substances toxiques, qu'elles soient d'origine naturelle (substances issues de la dégradation de certaines roches, substances sécrétées par d'autres espèces de plantes concurrentes ou dues à la pollution (dioxines, hydrocarbures, métaux lourds, etc.).

Le champignon sécrète des régulateurs de croissance (l'équivalent des hormones pour les végétaux) qui accroissent le développement du système racinaire : plus dense, plus ramifié, il permet ainsi une meilleure croissance de la plante.

Enfin, le réseau des filaments du mycélium stabilise la structure du sol autour des racines, ce qui implique notamment une meilleure rétention de l'eau et des éléments nutritifs par le substrat de culture.

### **2.3. Les endophytes racinaires septés DSE :**

Ce sont des champignons appartenant aux Ascomycota et ou aux Basidiomycota qui vivent en saprophytisme ou en endosymbiose à l'intérieur des racines de certaine plantes et leur sont bénéfiques.

## 2.4. Bactéries promotrices de croissance (PGPR)

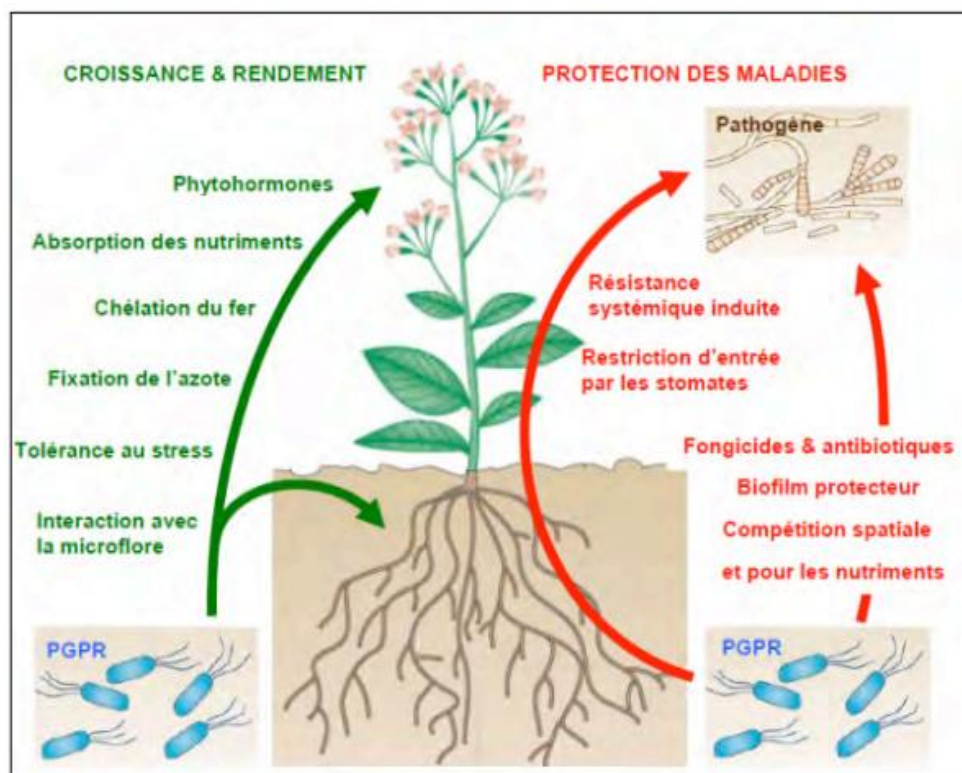
### 2.4.1. Définition :

Les PGPR ou «Plant Growth-Promoting Rhizobacteria » sont des bactéries qui se développent dans la rhizosphère, et qui ont un effet positif sur la plante, pour cet effet on les considère comme rhizobactéries promotrice de la croissance végétale.

Les bactéries PGPR peuvent avoir un impact positif sur la croissance des plantes de manière directe ou indirecte (Fig.26).

**La promotion directe :** Ce mécanisme comprend la stimulation bactérienne des phytohormones (auxine ou cytokinine), l'augmentation de la qualité de nutriments disponibles (fixation libre de l'azote, solubilisation du phosphate, etc.) et une augmentation de la microstructuration du sol rhizosphérique qui retient alors mieux l'eau.

**La promotion indirecte :** Ce mécanisme repose sur la capacité des PGPR à réduire les effets nocifs pour la plante. L'effet phytobénéfiques indirect des bactéries PGPR résulte d'interactions entre PGPR et des pathogènes et/ou parasites de la plante, à l'occasion desquelles les effets négatifs de ces derniers sont diminués. Ces interactions correspondent souvent à la compétition ou de l'antagonisme.



**Figure 26 :** les mécanismes d'action des rhizobactéries (Ramos et al., 2009).

## **2.4.2. Mécanismes utilisés par les PGPR pour promouvoir la croissance des plantes**

### **2.4.2.1. La promotion directe**

#### **2.4.2.1.1. La fixation d'azote (N<sub>2</sub>)**

De nombreux genres de bactérie (diazotrophes) peuvent réduire l'azote moléculaire en ammoniac grâce à leur enzyme spécifique appelé la nitrogénase.

#### **2.4.2.1.2. Production des sidérophores**

Les sidérophores sont synthétisés et sécrétés pour la solubilisation d'ions ferriques par des microorganismes aérobies, tels que les bactéries, certains champignons mais aussi organismes supérieurs (certaines plantes monocotylédones) en réponse à des conditions de carence en fer. Après sécrétion par la bactérie, les sidérophores chélatent avec une haute affinité le fer dans l'environnement extracellulaire, et le transportent via des voies d'assimilation spécifiques.

#### **2.4.2.1.3. Solubilisation du phosphate**

Les plantes sont incapables d'utiliser le phosphate car 95 à 99% de phosphate présents sous la forme insoluble, immobilisée et précipitée. Les plantes absorbent le phosphate uniquement sous deux formes solubles : les ions monobasique (H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) et basique (HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>).

La solubilisation microbienne du phosphate joue un rôle important dans la conversion du P insoluble en P soluble. En effet, il a été démontré que certains microorganismes du sol sont impliqués dans la solubilisation des phosphates insolubles par la production d'une enzyme de type phytase.

Ces microorganismes bénéficient directement du P bio disponible nécessaire pour leur croissance. De même d'autres organismes sont en mesure de profiter du P solubilisé, tels que les champignons et les plantes supérieures.

#### **2.4.2.1.4. Solubilisation du potassium**

C'est le troisième nutriment majeur important pour les plantes. Les concentrations de potassium soluble dans le sol sont généralement très faibles et plus de 90% de potassium dans le sol existe sous forme de roches insolubles et de minéraux de silicate.

Les microorganismes des sols jouent un rôle clé dans le cycle de K naturel et, par conséquent, les microorganismes solubilisant de potassium présents dans le sol pourraient fournir une technologie alternative pour rendre le potassium disponible pour l'absorption par les plantes.



#### **2.4.2.1.5. Production des phytohormones:**

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes produisent des phytohormones telles que les auxines, les cytokines, les gibbérellines et l'éthylène peuvent affecter la prolifération cellulaire dans l'architecture racinaire par la surproduction de racines latérales et de racines avec un accroissement subséquent de l'apport d'éléments nutritifs et d'eau.

##### **2.4.2.1.5.1. Acide Indole Acétique (AIA)**

L'acide Indole Acétique (AIA) est l'auxine naturelle la plus courante dans le monde végétal. Elle a un effet positif sur la croissance des racines, la prolifération cellulaire et l'absorption des minéraux et des nutriments du sol par la plante. Cette phytohormone augmente le taux de développement du xylème et des racines, contrôle les processus de croissance végétative, initie la formation latérale et l'adventice de la racine, affecte la photosynthèse, la formation des pigments, la biosynthèse de divers métabolites et la résistance aux conditions stressantes

##### **2.4.2.1.5.2. Les gibbérellines**

L'histoire des gibbérellines a commencé en 1926 avec le champignon *Fusarium moniliforme* lorsque Kurosawa (Japon) a décrit l'existence de composés bioactifs dans le milieu de culture de ce champignon. En 1983, deux autres japonais (Yakutat et Sumiki) ont isolé ces principes actifs sous forme de cristaux du milieu de culture et les ont nommés gibbérellines A et B.

Divers processus de croissance des plantes impliquant la germination, l'allongement de la tige, la floraison, la fructification, la promotion de la croissance des racines, la régulation de la dormance des bourgeons végétatifs et reproductifs et le retard de la sénescence dans de nombreux organes.

Le premier rapport de gibbérellines bactériennes était en 1988 avec la bactérie *Rhizobium meliloti*.

##### **2.4.2.1.5.3. Les cytokinines**

A part leur libération par les racines des plantes, les cytokinines peuvent également être produites par les microalgues, les bactéries, les champignons mycorhiziens et les nématodes dans la rhizosphère.

Ces molécules ont la capacité d'influencer les processus physiologiques et de développement des plantes. Les cytokinines sont impliquées dans le contrôle de la division cellulaire, du cycle cellulaire, la sénescence foliaire, la mobilisation des éléments nutritifs, la formation et

l'activité des méristèmes apicaux, le développement floral, la rupture de la dormance des bourgeons et la germination des graines etc.

#### **2.4.2.1.5.4. L'éthylène**

Au début, l'éthylène était considéré comme une hormone du stress. Dans des conditions inadéquates (salinité, sécheresse, stress dû aux métaux lourds et aux pathogènes), les plantes synthétisent des quantités élevées d'éthylène, entraînant une altération de leurs performances physiologiques et développementales. Plus tard, d'autres fonctions vitales ont été attribuées à l'éthylène (germination des graines, développement des poils absorbantes, formation de racines secondaires, nodulation, abscission des feuilles et des fruits, sénescence des fleurs et des feuilles etc.) (Bakshi et al., 2015 ; Shrivastava et Kumar, 2015).

#### **2.4.2.1.5.5. Aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) désaminase**

Les PGPR produisent des enzymes ACC désaminase qui facilitent le développement des plantes en réduisant leur production d'éthylène (Hydrocarbure gazeux incolore).

Les PGPR produisant cet enzyme peuvent ainsi soulager la plante de plusieurs stress causés par des infections, l'absorption de métaux lourds, une salinité élevée et même la sécheresse

Les bactéries ACC<sup>+</sup> sont un groupe de PGPR qui dégradent l'acide 1-aminocyclopropane-1-carboxylique (ACC) qui est le précurseur de l'éthylène. Ces bactéries ont la capacité de réduire les niveaux de l'ACC et de l'éthylène deux à quatre fois. De plus, des études ont montré que les bactéries ACC<sup>+</sup> en association avec les racines des plantes, peuvent améliorer la croissance des plantes sous stress abiotique (par exemple, la sécheresse, la salinité, les métaux lourds). L'enzyme ACC désaminase se trouve à l'intérieur du cytoplasme des cellules bactériennes, et l'ACC produite par les plantes est repris à l'intérieur des cellules bactériennes et dégradée par l'enzyme ACC-désaminase. L'enzyme ACC désaminase a été trouvée dans différents types de bactéries, telles que les bactéries Gram-négatives, des bactéries Gram positives, les *Rhizobium* et les bactéries endophytes.

#### **2.4.2.2. La promotion indirecte :**

Certaines PGPR peuvent stimuler le système immunitaire des plantes et leur permettre une résistance contre certains virus, les champignons et même les bactéries pathogènes. Le phénomène est désigné ISR (Induced Systemic Resistance) ou **résistance systémique induite**.

Les défenses mises en œuvre par les plantes ne se limitent pas aux seules réponses locales. Les végétaux sont également capables de déployer des défenses systémiques, c'est-à-dire généralisées à l'ensemble de leurs tissus.

Cette résistance est stimulée par certaines rhizobactéries non-pathogènes (PGPR), ces rhizobactéries sont capables de réduire une maladie à travers la stimulation de mécanismes de défense inductibles chez la plante. L'induction d'une telle capacité de défense est systémique : le traitement des racines par des PGPR produit des effets protecteurs sur d'autres parties de la plante sans migration des bactéries induisant l'ISR au travers du système vasculaire de la plante ou à travers les tissus.

La preuve du rôle d'une souche de PGPR en tant qu'inducteur de l'ISR dans la réduction d'une maladie est donc obtenue en garantissant une séparation spatiale de l'agent pathogène et de l'agent inducteur de la résistance.

La deuxième façon est **l'utilisation d'antagonistes microbiens** contre les agents pathogènes des plantes dans les cultures agricoles qui a été suggérée comme substitut aux pesticides chimiques. Les PGPR jouent un rôle majeur dans l'inhibition des micro-organismes pathogènes en produisant des antibiotiques.

La production d'antibiotiques par les PGPR contre plusieurs agents pathogènes des plantes est devenue l'un des mécanismes de bio-contrôle les plus efficaces et les plus étudiés au cours des deux dernières décennies. La plupart des espèces de *Pseudomonas* produisent une grande variété d'antifongiques (phénazines, acide phénazine-1-carboxylique, phénazine-1-carboxamide, pyrrolnitrine, pyolutéorine, 2,4diacétylphloroglucinol, rhamnolipides, oomycine A, cépaciamide A, écomycines, viscosinamide, butyrolactones, N-butylbenzène sulfonamide, pyocyanine), antibiotiques bactériens (acide pseudomonique et azomycine), antibiotiques antitumoraux (FR901463 et cépafungines) et antibiotiques antiviraux (Karalicine) (Ramadan et al., 2016).

## **2.5. Microorganismes phytopathogènes**

La phytopathologie est la science qui étudie les maladies des plantes. L'organisme phytopathogène se développe dans la plante au détriment de celle-ci, en provoquant une maladie. Cette dernière se manifeste par des symptômes visibles sur les parties infectées de la plante. Les modifications affectant les feuilles, peuvent subvenir sous forme de chlorose (perte de chlorophylle, pâleur de la feuille), ou albinisme (absence de pigmentation) ou encore de brunissement des racines. L'altération des organes peut prendre la forme de nécrose (mort cellulaire), de flétrissement ou de pourriture. Des modifications anatomiques touchant les rameaux et les tiges comme les chancres ou encore affectant les feuilles, les fleurs, la croissance (nanisme ou gigantisme).

Les maladies des plantes sont dues à :

- des organismes pathogènes (champignons, bactéries, virus, nématodes)
- des conditions environnementales (manque des substances nutritives, l'inondation, trop de soleil, etc.)

Les champignons peuvent entrer dans les plantes par les blessures ou les ouvertures naturelles, et aussi directement.

Les bactéries et les virus peuvent entrer dans les plantes par les blessures ou les ouvertures naturelles, ou par vecteurs, mais jamais directement

### **2.5.1. Champignons phytopathogènes**

Les champignons phytopathogènes sont des espèces de champignons parasites

Ces champignons appartiennent aux différents groupes du règne des eumycocètes ou « champignons vrais » : ascomycètes, basidiomycètes, chytridiomycètes, zygomycètes et deutéromycètes (champignons imparfaits)

Les champignons sont la principale cause de maladies chez les plantes et sont responsables d'environ 70 % des maladies des plantes cultivées. On estime entre dix mille et quinze mille espèces le nombre d'organismes du type champignons ou pseudo-champignons susceptibles

d'infecter les plantes (contre une cinquantaine susceptibles d'infecter l'homme). Les pertes économiques annuelles dues aux maladies fongiques dans l'agriculture mondiale, avant et après la récolte, étaient estimées en 2003 à plus de 200 milliards d'euros, et le coût annuel des traitements fongicides s'élève pour les seuls États-Unis à plus de 600 millions de dollars.

**-*Phytophthora nicotianae* : exemple de champignon phytopathogène qui attaque la lavande (fig. 27)**

Le mot *Phytophthora* tire son origine du grec 'phyton', la plante et 'phthora', destructeur. En effet, la totalité du genre *Phytophthora* est phytopathogène. Ce genre a été décrit pour la première fois par Anton de Barry en 1876. Ces organismes sont responsables de nombreuses maladies sur plantes cultivées, dont la plus historiquement connue est le mildiou de la pomme de terre (*Phytophthora infestans*), qui a conduit à la grande famine irlandaise de 1845. *P. cinnamomi* et *P. nicotianae* (anciennement appelé *P. parasitica*) causent des pourritures racinaires et du collet sur une large gamme d'hôtes, le premier sur les arbres fruitiers ou forestiers et le second sur tabac, lavande ou tomate principalement (Erwin, 1996).

Deux types de symptômes se distinguent chez *P. nicotianae* : les primaires et les secondaires. Les symptômes primaires correspondent aux dégâts causés par l'agent et sont souvent non visibles à cause de leur localisation racinaire ou sur le collet des plantes. A ce niveau, les parties souterraines présentent une pourriture sèche et se teintent d'une couleur noir-marron (Putnam, 1991; Fig. 28). Ces symptômes proviennent de la colonisation racinaire par le mycélium qui va progressivement obstruer les vaisseaux conducteurs. L'obstruction va finir par bloquer la montée de la sève vers les parties aériennes et provoquer l'apparition plus tardive des symptômes secondaires. Ces symptômes résultent des effets physiologiques de la maladie et touchent des tissus éloignés de la zone d'infection. Il peut s'agir d'une croissance retardée, d'un manque de vigueur général, pouvant aller jusqu'à une décoloration du feuillage, un flétrissement voire la mort de la plante (Fig 28).

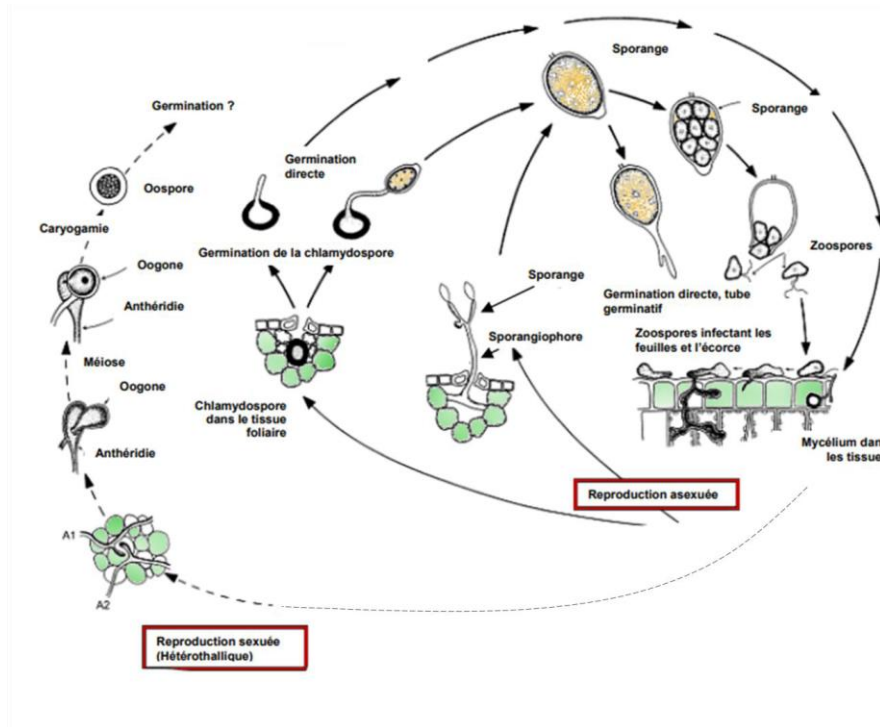


Figure 27 : Cycle de reproduction de *Phytophthora* (d'après Bilodeau, 2008).

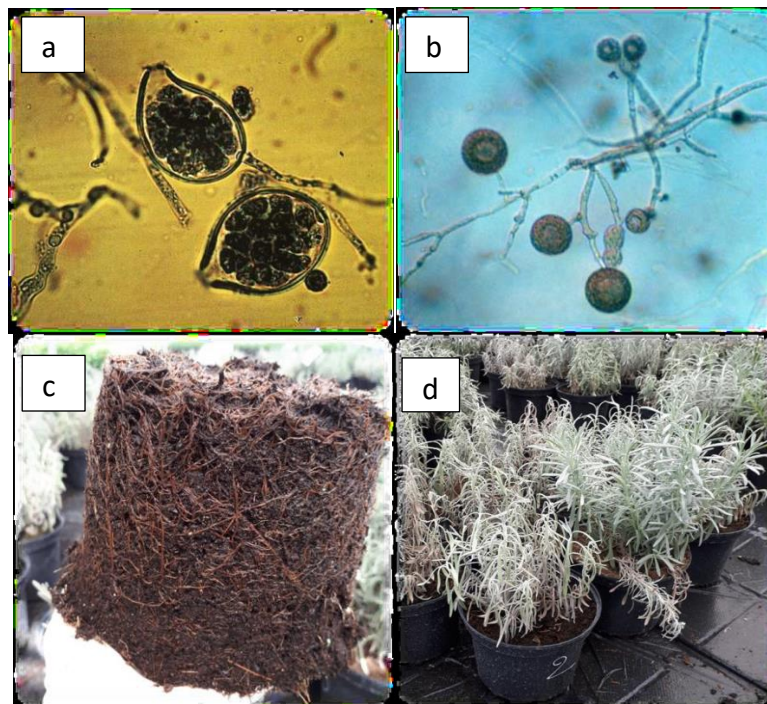


Figure 28 : Sporangies contenant des zoospores (a) et chlamydospores (b) de *Phytophthora nicotianae* (Blancard, 1998). Symptômes racinaires (c) et de flétrissements foliaires (d) sur lavande causés par *Phytophthora nicotianae* (Dubernard, 2017).

### **2.5.2. Bactéries phytopathogènes**

Sont des bactéries responsables de maladies bactériennes ou bactérioses chez les végétaux. Vivant en parasites sur les plantes sauvages ou cultivées.

Le nombre d'espèces de bactéries phytopathogènes est estimé à une centaine et reste très secondaire comparé à celui des espèces de champignons phytopathogènes qui serait supérieur à 10000. Néanmoins l'impact économique des maladies bactériennes peut être très important pour certaines cultures,

La plupart des bactéries phytopathogènes appartiennent aux genres suivants : *Acidovorax*, *Burkholderia*, *Spiroplasm*, *Clavibacter*, *Erwinia*, *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Streptomyces*, *Xanthomonas*, *Xylella*, *Phytoplasma* et *Agrobacterium*

Les symptômes provoqués par les bactéries phytopathogènes sont variés. Les plus importants sont :

- des taches huileuses sur le limbe foliaire (graisse du haricot provient de la *Pseudomonas Phaseolicola*, feu sauvage du tabac).ou sur des tiges (jambe noire de la pomme de terre) ;
- des infections vasculaires : les bactéries envahissent les vaisseaux et provoquent un flétrissement (flétrissement de la tomate, feu bactérien sur poirier) ;
- des tumeurs : principalement sur racines (galle du collet du rosier, framboisier, vigne, etc).

#### ***Agrobacterium tumefaciens* : exemple de bactérie phytopathogène provoquant des tumeurs :**

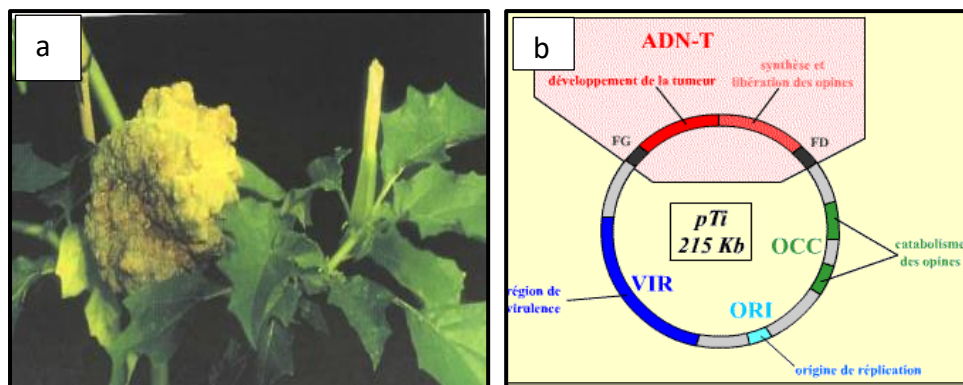
Les tumeurs du collet et des racines affectent plus de 600 espèces de plantes réparties en 93 familles. Les plantes de la famille des Rosacées sont particulièrement sensibles comme le pommier, le poirier, le cerisier, le framboisier et le rosier (Les plantes de la famille des rosacées ont une inflorescence qui diffuse un parfum agréable dû au fait qu'elles contiennent l'huile essentielle).

Ces tumeurs sont répandues dans les pépinières. Elles sont pâles et molles au début mais plus tard elles deviennent foncées et dures, et elles sont habituellement de forme irrégulière.

L'organisme responsable de la maladie est la bactérie *Agrobacterium tumefaciens*. C'est une bactérie du sol qui n'existe pas à l'intérieur de la plante. La plante produira des protéines nécessaires à la bactérie qu'elle ne synthétise pas, donc c'est un parasite. La bactérie utilise ces protéines jusqu'à la mort de la plante.

Une substance a été détecté chez la plante malade est absente chez la plante saine : les Opines (un acide aminé et d'un sucre). Les opines rejetées dans le milieu extra cellulaire de la plante vont être utilisées par la bactérie comme source de carbone et d'azote pour assurer sa croissance et sa multiplication.

Après la découverte des gènes d'opines, il a été montré que ces gènes provenaient de l'ADN plasmidique de la bactérie transférés au niveau des cellules végétales infectées et intégrés au niveau de son génome (le plasmide Ti (Tumor inducing) d'où vient l'idée de son utilisation en transgénèse pour avoir une plante génétiquement modifiée.



**Figure 29 :** Tumeurs du collet provoqué par *Agrobacterium* (a) et le plasmide T de cette bactérie (b).

### 2.5.3. Virus phytopathogènes :

Les virus sont constitués soit de l'ARN, soit de l'ADN monocaténaire ou bicaténaire, circulaire ou linéaire, entouré d'une capsid protéique. La plus part des virus végétaux sont des virus à ARN.

Dans la cellule hôte, le virus perd sa capsid et libère son acide nucléique. Plus de 2000 maladies connues chez les plantes sont provoquées par plus de 600 types de virus identifiés. La transmission des virus entre les plantes malades et saines implique le plus souvent des insectes vecteurs. Les symptômes engendrés par une infection virale sont nombreux : nanisme, chloroses, nécroses, jaunisses, mosaïques, striures, rayures, Exemples de maladies : Mosaïque du tabac, du concombre, Sharka (pêchers, pruniers, abricotier, etc.).

#### - Cycle cellulaire du virus dans la plante :

Contrairement aux virus animaux, les virus végétaux sont incapables de traverser la paroi cellulaire. Leur pénétration se fait par les blessures ou par l'intermédiaire des vecteurs comme les insectes (cicadelles, aphides ou mouches blanches) pourvus de pièces buccales



capables de percer et de sucer. Les principales phases du cycle viral sont la décapsidation, la traduction du génome, la réplication, l'encapsidation et le mouvement.

- **La décapsidation** : une fois à l'intérieur d'une cellule hôte, le virus perd son enveloppe et son acide nucléique est libéré.
- **La traduction du génome** : les virus utilisent la machinerie traductionnelle de la cellule hôte pour synthétiser leurs protéines virales. L'ARN des virus contient une partie des déterminants génétiques nécessaires à sa multiplication, codant ainsi les ARN polymérase, les protéines de capsid et de mouvement, des protéines impliquées dans le clivage de l'acide nucléique et la transmission du virus par son vecteur, et d'autres protéines de fonctions encore inconnues.
- **la réplication ou multiplication virale** : lors de cette phase, il y a réplication du génome, expression du génome sous forme d'ARNm (transcription) et traduction des ARNm en protéines par la machinerie cellulaire. Selon les types de virus et la nature de leur génome, le mécanisme de la multiplication virale peut être très différent. Pendant ce cycle, il est impossible d'isoler une particule virale.
- **L'encapsidation (phase de maturation)** : après la synthèse des protéines et la réplication du génome les deux composantes vont s'assembler et former de nouvelles particules virales.

## *Chapitre III*

### *Les micro-organismes de la phyllosphère*

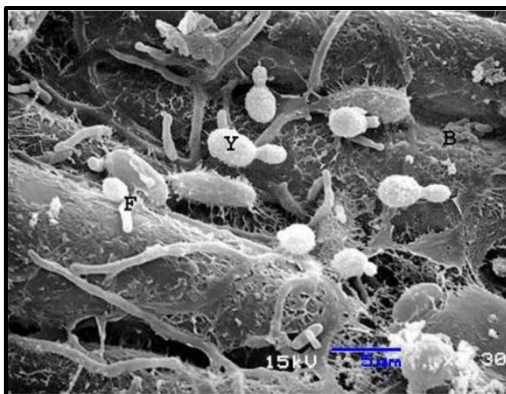
## 1. La phyllosphère :

Deux définitions de la phyllosphère, l'une désigne la communauté microbienne qui vit en relation avec les parties aériennes de la plante (Lindow et Brandl, 2003), et l'autre désigne l'habitat fourni seulement par la partie foliaire des plantes (Jumpponen et Jones, 2009). Des études sur la phyllosphère ont permis une avancée significative dans la compréhension de la dynamique microbienne dans les organes aériens des plantes, principalement dans les feuilles. Les microorganismes de la phyllosphère sont divisés en

- **Phylloplane** ou épiphytes : micro-organismes vivent sur les surfaces des organes végétaux.
- **Endosphère** ou endophytes : micro-organismes vivent à l'intérieur des tissus végétaux et dans les espaces inter-cellulaires des feuilles.
- Certaines espèces microbiennes épiphytes peuvent activement pénétrer dans les tissus des feuilles pour devenir endophytes (Viret *et al.* 1994 ; Wilson *et al.* 1999).

Cette communauté est composée de bactéries, virus, champignons, algues, archées et rarement par des protozoaires et des nématodes (Fig. 30) (Vorholt, 2012). Les bactéries dépassent de loin les autres groupes, à la fois en nombre de cellules et en diversité de groupes taxonomiques (Andrews et Harris, 2000).

La colonisation de la phyllosphère par les microorganismes commence à l'émergence des semis et recommence chaque année au moment du rinçage des feuilles dans le cas des espèces de plantes vivaces. La plupart des microorganismes phyllosphériques sont acquis horizontalement, à partir de l'environnement. Certains d'entre eux peuvent également être transmis verticalement, des plantes maternelles à la progéniture via les graines.



**Figure 30:** Photographie observée au microscope électronique de la surface d'un fruit colonisé par des bactéries (B), des levures (Y), et des champignons filamenteux (F). Issus de Buck *et al.* 2003.

## 2. Modes de transmission des microorganismes dans la phyllosphère

### 2.1. Transmission horizontale :

Les microorganismes de la phyllosphère peuvent provenir de diverses sources environnementales, y compris le sol et la litière de l'environnement de germination et des bioaérosols. Les bioaérosols eux-mêmes proviennent de diverses sources, y compris les milieux aquatiques, le sol, les animaux et bien sûr les plantes voisines. Les gouttes de pluie, l'eau d'irrigation et les insectes foliaires peuvent également apporter des micro-organismes sur les feuilles des plantes. Dans le cas des plantes vivaces, la phyllosphère peut également être colonisée au débourrement par les micro-organismes associés aux organes pérennes de la plante, tels que les rameaux (Lemanceau *et al.*, 2017).

### 2.2. Transmission verticale :

Certains micro-organismes de la phyllosphère sont transmis des plantes maternelles à la progéniture via les graines. La transmission peut se produire via les tissus des graines ou l'extérieur des téguments.

Certaines bactéries bénéfiques inoculées sur les graines de maïs ont par exemple été récupérées des feuilles, après avoir colonisé la rhizosphère, les racines et les tiges (Fig.2) et il a été démontré qu'elles augmentent considérablement la tolérance du maïs à la sécheresse (Naveed *et al.*, 2014). Une telle transmission verticale est également courante chez les espèces fongiques endophytes protégeant les plantes contre les herbivores (Hodgson *et al.*, 2014).

Certains endophytes foliaires de plantes herbacées ont également été trouvés dans et sur les grains de pollen, ce qui suggère que la transmission aux graines peut également se produire via le tube pollinique (Hodgson *et al.*, 2014).

Les communautés microbiennes de la phyllosphère sont significativement différentes des communautés microbiennes aéroportées, bien qu'elles soient en contact direct avec l'atmosphère entourant la plante. Chaque feuille crée en effet un environnement spécifique dans lequel seuls certains microorganismes peuvent prospérer. Cet effet sélectif des feuilles sur les communautés microbiennes peut être appelé effet phyllosphère, par analogie avec l'effet rhizosphère (Lemanceau et *al.*, 2017).

### 3. Formation des nodules caulinaires (La nodulation aérienne) :

La nodulation sur les tiges est beaucoup plus rare. La légumineuse tropicale *Sesbania rostrata* est un des exemples les plus étudiés. C'est une plante tropicale d'Afrique de l'ouest, adaptée à la croissance en conditions humides. Suite à une infection par *Azorhizobium caulinodans*, des nodules peuvent être formés sur les tiges au niveau de sites prédéterminés correspondant à des primordia racinaires dormants disposés en rang le long de la tige (Fig.31). A la différence des nodules racinaires, le nodule se forme à partir d'une « préstructure » mais le développement des nodules aériens et racinaires est morphologiquement équivalent. Il existe aussi des Rhizobia photosynthétiques capables de former des nodules sur les tiges d'*Aeschynomene* ou les hypocotyles du genre *Lotonis* (in Selami, 2017).



**Figure 31** : La nodulation aérienne chez *Sesbania rostrata*.

### 4. Intérêt des microorganismes phyllosphériques :

Les microorganismes de la phyllosphère interviennent dans le métabolisme de certains nutriments de la plante.

Certains groupes de micro-organismes associés aux feuilles sont capables de fixer l'azote (N) des sources atmosphériques. Dans ce processus, ils produisent du N organique en utilisant l'enzyme hautement spécialisée appelée nitrogénase. Les plantes absorbent ensuite le N organique en complément pour satisfaire leurs demandes internes. Les groupes bactériens dominants de la phyllosphère sont des bactéries diazotrophes (fixatrices d'azote).

Les microorganismes de la phyllosphère sont également impliqués dans la modification des nutriments pour les rendre disponibles pour l'absorption des plantes. Un procédé bien connu est la solubilisation du phosphore (P). Comme il se trouve dans les réservoirs naturels sous forme inorganique et semblable à de la roche, le P est converti en forme assimilable par les plantes grâce à un processus qui implique la production et la chélation d'acide organique.

Un certain nombre d'études récentes ont montré qu'un pourcentage important d'isolats bactériens prélevés dans la phyllosphère étaient capables de solubiliser les phosphates (Batoool *et al.*, 2016).

Un autre élément essentiel pour presque tous les organismes vivants est le fer. Cet élément est physiologiquement important car un grand nombre de protéines nécessitent du fer pour leurs activités, en particulier les enzymes. Bien que le fer soit très répandu sur la croûte terrestre, il est moins disponible pour une utilisation biologique. Une stratégie employée par les microorganismes pour obtenir le fer disponible est la production et l'utilisation de **sidérophores**.

Les sidérophores sont des molécules organiques de faible poids moléculaire qui présentent une grande affinité pour les nutriments à base de fer et augmentent leur mobilité et leur disponibilité, ils sont généralement libérés dans des environnements extracellulaires et une fois liés au fer, le complexe sidérophore – fer résultant est collecté et introduit dans la cellule par des canaux ou récepteurs sidérophores spécifiques.

Les microorganismes produisent des régulateurs de croissance naturels, tels que les **auxines**, qui améliorent la croissance des plantes et l'augmentation de l'activité de photosynthèse en augmentant la surface foliaire. Un nombre important de micro-organismes de la phyllosphère montre la capacité de produire de l'AIA. En conséquence, l'AIA produit par les microorganismes est capable d'induire efficacement la croissance des plantes et de promouvoir la santé globale, ce qui en fait une alternative intéressante aux auxines synthétiques dans la production agricole (Lu, 2020).

## Références bibliographiques :

- Andrews JH, Harris RF. 2000. The ecology and biogeography of microorganisms of plant surfaces. *Annu Rev Phytopathol* 38 : 145 – 180  
[doi:10.1146/annurev.phyto.38.1.145](https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.38.1.145)
- Bafana, A. 2013. Diversity and metabolic potential of culturable root-associated bacteria from *Origanum vulgare* in sub-Himalayan region. *World J Microbiol Biotechnol* . 29: 63–74.
- Bakshi A, Wilson RL, Lacey RF, Kim H, Wuppalapati SK, Binder BM. 2015. Identification of Regions in the Receiver Domain of the ethylene response1 Ethylene Receptor of Arabidopsis Important for Functional Divergence. *Plant Physiol*. 169:219–232. pmid:26160962; PubMed Central PMCID: PMC4577405.
- Barret, M., Guimbaud, J.F., Darrasse, A., Jacques M.A. 2016. Plant microbiota affects seed transmission of phytopathogenic microorganisms. *Molecular Plant Pathology*, 17: 791-795.
- Batool, F., Rehman, Y., Hasnain, S. 2016. Phylloplane associated plant bacteria of commercially superior wheat varieties exhibit superior plant growth promoting abilities. *Front. Life Sci*. 9: 313– 322.
- Benabdoun M., Gherbi H. Djekoun A., Bogusz D., Franche C., Ykhlef N. 2012. Fixation biologique de l’azote : la symbiose actinorhizienne *Casuarina-frankia*. *Sciences & Technologie*. 35 : 15-19.
- Bilodeau G. 2008. Détection et génomique de *Phytophthora ramorum* agent causal de la mort subite du chêne (l'encre des chênes rouges).Thèse de doctorat. Université Laval, Québec. 244 p.
- Blancard D. 1998. Maladies du tabac : Observer, Identifier, Lutter. ed. Quae. Versailles, 376 p.
- Buck J.W., Walcott R.R., Beuchat L.R. 2003. Recent Trends in Microbiological Safety of Fruits and Vegetables. *Online. Plant Health Progress*. doi:10.1094/PHP-2003-0121-01-RV.
- De Bary A. 1876. Researches into the nature of the potato-fungus - *Phytophthora infestans*. *Journal of the Royal Agricultural Society*. 12: 239-268.
- Dénarié J. 2000. Dialogue moléculaire des symbioses. la 8ème conférence de l'université de tous les savoirs réalisée le 8 janvier.

- Dubernard N. 2017. valuation de l'efficacité de produits de bio-contrôle à base de micro-organismes dans la lutte contre *Phytophthora nicotianae* sur lavande. Mémoire de Master. Université Angers. 32p.
- Egamberdiev D., Shrivastava S., Varma A. 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants. *Soil Biology*. Vol 42. E.Book. DOI 10.1007/978-3-319-13401-7.
- Erwin, D.C. and Ribeiro, O.K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. *American Phytopathological Society Press*, St. Paul, MN.562 p.
- Fortin J.A., Plenchette C., Piche Y. 2008. les mycorhizes, la nouvelle révolution verte, édition Multi Mondes et Quae. Québec. 131 p.
- Franche C., Laplaze L., Duhoux E. Bogusz D. 1998. Actinorhizal symbioses: recent advances in plant molecular and genetic transformation studies. *Crit. Rev. Plant Sci.* 17: 1-28.
- Gtari, M., Ghodhbane-Gtari, F., Nouioui, I. *et al.* 2015. Cultivating the uncultured: growing the recalcitrant cluster-2 *Frankia* strains. *Sci Rep.* 5, 13112 <https://doi.org/10.1038/srep13112>
- Hodgson, S., de Cates, C., Hodgson, J., Morley, N. J., Sutton, B. C., Gange, A. C. 2014. Vertical transmission of fungal endophytes is widespread in forbs. *Ecology and Evolution*, 4: 1199-1208.
- Jumpponen A., Jones K.L. 2009. Massively parallel 454 sequencing indicates hyperdiverse fungal communities in temperate *Quercus macrocarpa* phyllosphere. *New Phytologist*. 184: 438-448.
- Kurosawa, E.1926. Experimental studies on the nature of the substance excreted by "bakanae" fungus. *Trans. Nat. Hist. Soc. Formosa*, 16: 213-227.
- Lemanceau P., Barret M., Mazurier S., Mondy S., Pivato B., Fort T., Vacher C. 2017. Plant Communication with Associated Microbiota in the Spherosphere, Rhizosphere and Phyllosphere. In G. Becard (Ed.), *How Plants Communicate with their Biotic Environment*. 101–133.
- Lindow S.E., Brandl M.T., 2003. Microbiology of the phyllosphere. *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 1875-1883.
- Lu H. 2020. Extrait d'une revue des recherches actuelles sur la phyllosphère. *Ver de terre*. 7p.



- Maude R. B. 1996. Seedborne diseases and their control: Principles and practice. Wallingford, Oxon, UK: CAB International.
- Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R. 2008. Botanique. Biologie et physiologie végétales. Maloine, Paris, 2e édition.
- Naveed M., Mitter B., Reichenauer T. G., Wiczorek K., Sessitsch A. 2014. Increased drought stress resilience of maize through endophytic colonization by *Burkholderia phytofirmans* PsJN and *Enterobacter* sp. FD17. *Environmental Experimental Botany*, 97, 30-39.
- Nelson E. B. 2004. Microbial dynamics and interactions in the spermosphere. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42 :271–309. doi: 10.1146/annurev.phyto.42.121603.131041
- Pawlowski K., Bisseling T. 1996. rhizobial and Actinorhizal Symbioses: What Are the Shared Features? *Plant Cell.* 8:1899-1913.
- Putnam M. 1991. Root rot of lavender caused by *Phytophthora nicotianae*. *Plant Pathology*, 40:480-482.
- Ramadan E.M, AbdelHafez A.A, Hassan E.A, Saber F.M. 2016. Plant growth promoting rhizobacteria and their potential for biocontrol of phytopathogens. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 10: 486-504
- Ramos-Solano B., Barriuso-Maicas J., Gutierrez-Mañero J., 2009. Biotechnology of the Rhizosphere. In: Kirakosyan A. et Kaufman P.B., Recent Advances in Plant Biotechnology. Springer Science & Business Media. 137-162.
- Rodriguez-Haas B., Finney L., Vogt S. , Gonzalez-Melendi P., Imperialac J., Gonzalez-Guerrero M. 2013. Iron distribution through the developmental stages of *Medicago truncatula* nodules. : *Metallomics*, 5, 1247-1253.
- Scarafoni A., Ronchi A., Prinsi B., Espen L., Assante G., Venturini G., Duranti, M. 2013. The proteome of exudates from germinating *Lupinus albus* seeds is secreted through a selective dual-step process and contains proteins involved in plant defence. *FEBS Journal*, 280, 1443-1459.
- Schiltz, S., Gaillard, I., Pawlicki-Jullian, N., Thiombiano, B., Mesnard, F., & Gontier, E. (2015). A review: what is the spermosphere and how can it be studied? *Journal of Applied Microbiology*, 119, 1467-1481.
- Selami N. 2017. Association symbiotique. Polypier du cours. 53p.
- Shelake R. M., Pramanik D., Kim J. Y., 2019. Exploration of plant-microbe interactions for sustainable agriculture in CRISPR era. *Microorganisms*, 7(8): 269.

- Shrivastava P., Kumar R. 2015. Soil salinity: a serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J. Biol. Sci.* 22, 123–131. doi: 10.1016/j.sjbs.2014.12.001
- Slykhuis JT. 1947. Studies on *Fusarium culmorum* blight of crested wheat and brome grass seedlings. *Can. J. Res.* 25:15–80.
- Smith S., Read D. 2008. Mycorrhizal symbiosis. 3rd edition. London : Academic Press. 800 p.
- Terras F. R. G., Eggermont K., Kovaleva V., Raikhel N. V., Osborn R. W., Kester A., et al. 1995. Small cysteine-rich antifungal proteins from radish e their role in hostdefense. *Plant Cell*, 7, 573-588.
- Viret O, Scheidegger C, Petrini O, 1994. Infection of Beech Leaves (*Fagus-Sylvatica*) by the Endophyte *Discula-Umbrinella* (Teleomorph, *Apiognomonina-Errabunda*) - LowTemperature Scanning Electron-Microscopy Studies. *Canadian Journal of Botany/Revue Canadienne De Botanique* 71: 1520-1527.
- Vorholt J. A. 2012. Microbial life in the phyllosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 10: 828-840. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2910>
- Watson A.G. 1966. Effect of soil fungicide treatments on inoculum potentials of spermosphere fungi and damping-off. *NZ J. Agric. Res.* 9:931–55
- Willey J. M., Sherwood L., Woolverton C. J., 2008. Prescott, Harley, and Klein's microbiology 7th edition. Ed. McGraw-Hill, 1088 p.