



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
«ASSOCIATIONS SYMBIOTIQUES »
DESTINE AUX ETUDIANTS DE DEUXIEME ANNEE
MASTER EN BIOTECHNOLOGIE ET GENOMIQUE
VEGETALE

Réalisée par Dr. SELAMI Nawel

Mars 2017

"When the living plant cell must live with another organism which is actually part of its protoplasm, it is necessary that a subtle balance must exist between the growth of the plant and the growth of the bacterium"

(Beijerinck, 1888)

Préambule

L'Algérie est un pays d'Afrique du Nord, largement ouvert sur la Méditerranée et constitue une entité écologique exceptionnelle caractérisée par une grande diversité biologique, permettant la coexistence de nombreuses espèces végétales et animales, souvent adaptées à des conditions abiotiques extrêmes ainsi qu'à de fortes pressions biotiques. Cependant ces ressources naturelles sont limitées et fragilisées du fait de l'aridité du climat d'une part et des activités humaines, d'autre part. En effet, l'utilisation des pesticides et des engrais chimiques pour augmenter la production végétale, engendre une menace pour l'état sanitaire des végétaux, des animaux, et présente une source d'altération de la qualité des produits.

Cette conjoncture a engendré un débat global à l'échelle planétaire qui préconise de réhabiliter les Légumineuses dans la consommation humaine, la nourriture animale et les écosystèmes naturels pour des raisons que nous verrons au cœur de ce polycopié. La diversité de cette famille végétale qui comprend environ 20 000 espèces, offre des possibilités énormes d'exploitation. Ainsi les Légumineuses, par leurs intérêts agronomiques, alimentaires et écologiques, se trouvent actuellement au centre des préoccupations des instances internationales. Leur importance est due entre autres à leur contribution, chaque année environ 65 millions de tonnes d'azote atmosphérique intégrés dans la biosphère. Grâce à cette fixation d'azote réalisée en association avec les bactéries du sol collectivement appelées Rhizobia.

Une importance considérable doit donc être attribuée au développement des possibilités offertes par cette association symbiotique fixatrice d'azote, dans les zones arides et semi arides, comme c'est le cas des pays du bassin méditerranéen et donc l'Algérie.

Actuellement cette discipline est devenue très sollicitée vue la détérioration rapide de notre Environnement.

Ce polycopié sera donc destiné aux Etudiants de Master 2 en Biotechnologie et Génomique végétale et toute personne qui s'intéresse à l'Association Symbiotique. Cette unité d'enseignement, a pour but de fournir aux Etudiants une formation théorique sur les Interactions plantes/ Microorganismes.

Table des matières

Préambule

Chapitre I : La Symbiose Plantes – Microorganismes

I.1. La fixation biologique de l'azote.....	1
I.2. Symbiose Légumineuse/ Rhizobia	2
I.2.1. Partenaire végétal : les Légumineuses	2
I.2.2. Partenaire microbien : Les Rhizobia	3
I.2.3. La s spécificité d'hôte	5
I.2.4. Les étapes de mise en place de la nodulation	6
a. L'étape de pré-infection : reconnaissance des partenaires et réponses biologiques induites chez la plante hôte	10
b. Le processus d'infection de la racine (L'initiation de l'infection et la formation du cordon d'infection)	12
c. L'organogenèse du nodule	15
I.2.5. La structure du nodule	16
I.2.6. Régulation du nombre de nodules	17
I. 3. La formation des nodules caulinaires	18
I.3.1. La nodulation aérienne	18
I.4. Présentation d'autres modèles d'infection des plantes tropicales arborées	19
I.4.1. Infection par pénétration intercellulaire ("crack entry").....	19
I.5. La symbiose fixatrice d'azote avec <i>Frankia</i>	19
I.5.1. Infection intracellulaire (<i>Myrica</i> , <i>Comptonia</i> , <i>Alnus</i> et <i>Casuarina</i>)	20
I.5.2. Infection intercellulaire (<i>Elaeagnus</i> , <i>Ceanothus</i> et <i>Cercocarpus</i>)	20
I.5.3. La structure d'un nodule actinorhizien	24
I.6. Intérêt de la fixation symbiotique d'azote	25

Chapitre II : La Symbiose Mycorhizienne

II.1. Les différents types de symbiose mycorhizienne	26
II.1.1. Les Ectomycorhizes	27
II.1.2. Les Endomycorhizes	27
II.1.3. Les Ectendomycorhizes	29
II.2. Les différents types de symbiose mycorhizienne	30

II.2.1. Le partenaire végétal	30
II.2.2. Le Partenaire fongique	30
II.3. La spécificité d'hôte	32
II.4. Mise en place de l'interaction symbiotique	32
II.5. Impact écologique de la symbiose mycorhizienne	34
II.6. Intérêts socioéconomiques	35

Chapitre III. Interaction Plantes /Bactéries Endophytes

III.1. Systèmes diazotrophiques endophytes associatives	36
III.2. Importance des bactéries endophytes associatives	36
III.2.1. Capacité métabolique des endophytes associatives	36
III.2.2. Solubilisation des phosphates	37
III.2.3. Production des phytohormones par endophytes associatives	39
III.2.4. Bio-protection des plantes par des bactéries endophytes associatives	39

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 1. Phylogénie des Légumineuses

Figure 2. Les symbiotes bactériens au sein des protéobactéries

Figure 3. Variations morphologiques des nodules dans l'interaction Rhizobia-légumineuse

Figure 4. Photographie des deux Légumineuses modèles. a. *Lotus japonicus*. b. *Medicago truncatula*

Figure 5. Représentation schématique du dialogue moléculaire Rhizobia-Légumineuse

Figure 6. Représentation schématique des réponses précoces induites par application globale de FNods au niveau de la zone racinaire susceptible à l'infection chez la plante hôte

Figure 7. Le processus d'infection dans les poils absorbants et les cellules sous-jacentes

Figure 8. Ramification du cordon d'infection et formation des symbiosomes

Figure 9. Schéma de la libération des bactéries dans les cellules de la zone d'infection

Figure 10. Processus d'infection de la racine et mise en place du nodule chez *M. truncatula*

Figure 11. Les différents types de nodules chez les Légumineuses

Figure 12. Schéma de la structure d'un nodule mature

Figure 13. La nodulation aérienne chez *Sesbania rostrata*

Figure 14. Infection par pénétration intercellulaire ("crack entry")

Figure 15. Nodules actinorhiziens de *Casuarina glauca*

Figure 16. Section longitudinale d'un nodule ramifié de racine d'Aulne, avec de grandes cellules corticales remplies de diazovésicules

Figure 17. Schéma comparatif entre l'infections intra et inter-cellulaire chez les plantes actinorhiziennes

Figure 18. Processus d'infection intracellulaire et organogenèse d'un lobe nodulaire chez les plantes actinorhiziennes

Figure 19. Anatomie d'un nodule actinorhizien chez l'hôte *Discaria trinervis*

Figure 20. La symbiose Ectomycorhizienne

Figure 21. La symbiose mycorhizienne des Ericoïdes

Figure 22. La symbiose mycorhizienne à arbuscules

Figure 23. Récapitulatif des principales formes de mycorhizes associées aux racines des plantes supérieures

Figure 24. Photographie d'un *Suillus Lutéus* sur un *Pin bonsaï* (exemple d'un champignon ectomycorhizien épigé) et photographie d'un champignon hypogé (Ex. Truffes)

Figure 25. Schéma récapitulant les principaux processus d'échanges de nutriments

Figure 26. Schéma montrant le mécanisme de pénétration du champignon Mycorhizien

Figure 27. Comparaison de la zone d'exploitation racinaire d'une plante non mycorhizée et d'une plante mycorhizée

Figure 28. Représentation Schématique de la solubilisation du phosphore dans sol par les rhizobactéries

Figure 29. Schéma récapitulant les principales importances des bactéries endophytes associatives

Liste des tableaux

Tableau 1. Exemples d'associations entre Rhizobia et Légumineuses

Chapitre I

Symbiose Plantes – Microorganismes

Chap. I. Symbiose Plantes – Microorganismes

La symbiose est une association réciproquement bénéfique entre deux organismes, qui souvent s'établit entre un partenaire autotrophe et un partenaire hétérotrophe. Les symbioses fixatrices d'azote les plus connues font intervenir la famille des Légumineuses avec ses symbiontes bactériens, les Rhizobia. D'autres bactéries fixatrices d'azote sont capables d'interagir avec les plantes, comme les actinomycètes. Dans les deux cas, la symbiose avec les bactéries aboutit à la formation d'un nouvel organe au niveau des racines (et/ou tiges), le nodule fixateur d'azote. Dans les nodules, les bactéries, protégées et nourries par la plante, lui fournissent en échange de l'azote fixé.

Au cœur de ce polycopié, La symbiose Légumineuse-Rhizobia, et la symbiose Frankia- plante actinorhizienne seront plus particulièrement abordée.

I.1-La fixation biologique de l'azote

La fixation biologique de l'azote est un processus qui permet de produire des substances protéiques à partir de l'azote gazeux présent dans l'atmosphère et l'environnement. Cependant, l'azote est un composant essentiel à la croissance et au développement de tous les organismes, hors sa disponibilité est fortement limitée aussi bien dans les écosystèmes naturels que cultivés, ce qui constitue souvent un des principaux facteurs limitant de la croissance des végétaux.

En revanche, certaines plantes peuvent s'associer en symbiose avec des microorganismes diazotrophes qui sont capables de fixer l'azote atmosphérique, notamment grâce à la nitrogénase, un complexe enzymatique qui catalyse la réduction de l'azote atmosphérique en ions ammonium (NH_4^+) assimilables par la plante.

Ces microorganismes peuvent vivre en association avec certains groupes de végétaux. Cette symbiose est à bénéfice mutuelle qui permet d'améliorer la nutrition azotée du partenaire végétal.

Ces associations symbiotiques sont responsables chaque année de la réduction de 120 millions de tonnes d'azote atmosphérique en ammonium. Plusieurs symbioses fixatrices d'azote existent et sont classées en fonction des types de bactéries diazotrophes qu'elles impliquent: les Cyanobactéries, *Frankia* et Rhizobia.

I.2. Symbiose Légumineuse-Rhizobia

La symbiose BNL (**B**actéries **N**odulant **L**égumineuses)-Légumineuse, décrite pour la première fois par Frank (1889), présente un modèle d'étude d'association entre eucaryote et procaryote. Elle présente un intérêt agronomique considérable. La symbiose permet l'enrichissement naturel du sol en azote et la réduction des apports d'engrais. L'azote fixé par la symbiose est restitué au sol après la décomposition de la matière végétale (racines, nodules, parties aériennes), ou via les déjections des animaux ayant pâture.

Dans ce chapitre nous présentons les deux partenaires de la symbiose: le partenaire bactérien et le partenaire végétal, ainsi que le mécanisme d'établissement de cette symbiose.

I.2.1. Partenaire végétal : les Légumineuses

Les Légumineuses (ou *Fabaceae*) représentent une large famille chez les Angiospermes, comprenant plus de 650 genres et 18000 espèces. Les *Fabaceae* sont divisées en trois sous-familles : les *Mimosoideae*, les *Caesalpinoideae* et les *Papilionoideae* (Fig.1).

La sous-famille des *Caesalpinoideae*, comprenant environ 150 genres et 2200 espèces, rassemble principalement des arbres ou arbustes retrouvés en régions tropicales et subtropicales. Très peu de membres de cette sous-famille sont capables de noduler, 30% selon contre 90% chez les deux autres sous-familles ; Ex : *Chamaecrista fasciculata* est une des espèces nodulées.

La sous-famille des *Mimosoideae* rassemble surtout des arbres et des arbustes des régions tropicales et subtropicales. Cette sous-famille possède plus d'une soixantaine de genres et environ 2500 espèces avec notamment les genres *Acacia* et *Albizia*.

La sous-famille des *Papilionoideae* représentent le groupe le plus diverse avec environ 430 genres et plus de 12000 espèces, Les plantes de cette sous-famille sont principalement des herbes (plantes annuelles), mais comprennent aussi des arbres et des arbustes, présents en régions tempérées et tropicales.

De nombreuses Légumineuses constituent une source majeure de protéines et d'huiles végétales et sont largement cultivées sur l'ensemble de la planète. On peut citer par exemple : le haricot (*Phaseolus vulgaris*), le soja (*Glycine max*), le pois (*Pisum sativum*), le pois chiche

(*Cicer arietinum*), la fève (*Vicia faba*), le niébé (*Vigna unguiculata*), la lentille (*Lens esculenta*), ou encore la cacahuète (*Arachis hypogea*).

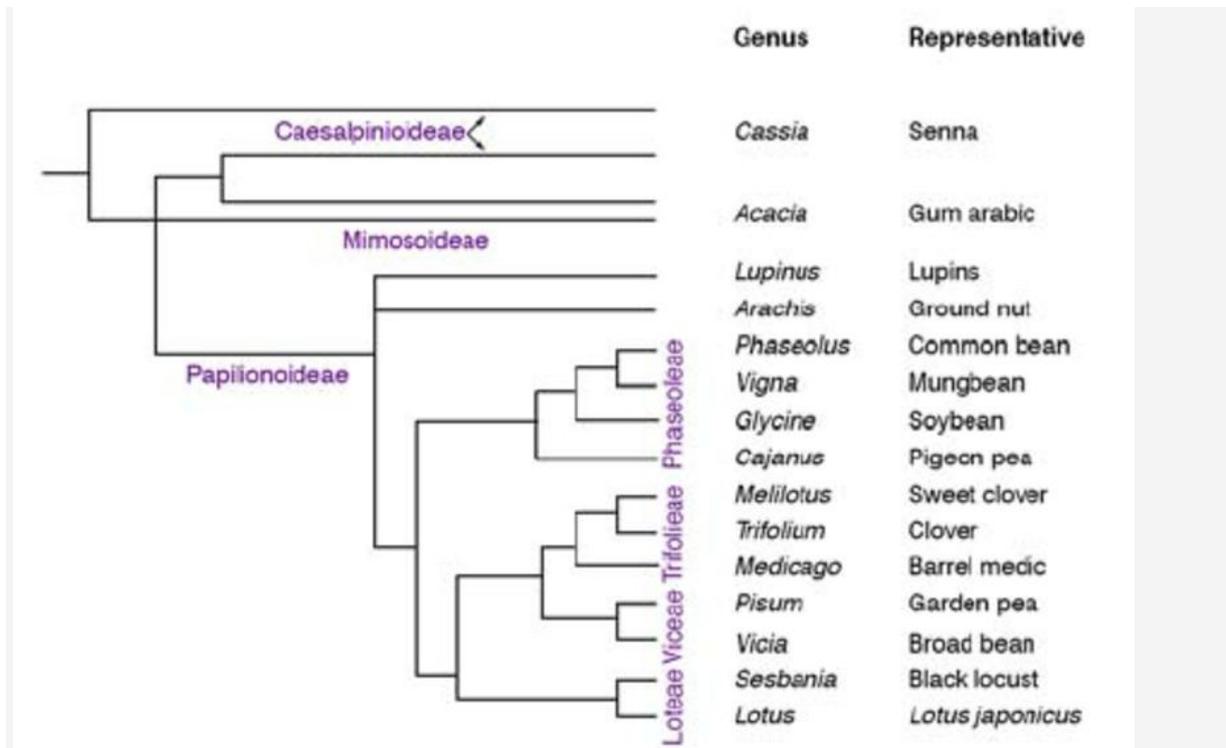


Figure 1. Phylogénie des Légumineuses

I.2.2. Partenaire microbien : Les Rhizobia

Les Rhizobia sont d'abord définis par leur aptitude à induire la formation de nodules fixateurs d'azote sur les racines ou les tiges des Légumineuses et à réduire l'azote atmosphérique en ammonium assimilable par la plante. Cette réaction est Catalysée par un complexe enzymatique :

La *Nitrogénase/Hydrogénase*

La réaction, réalisée par les fixateurs biologiques, exige:

- 8 électrons et 8 protons pour la réduction,
- 16 ATP pour la fourniture de l'énergie d'activation et la réaction globale deviennent :



Tous les Rhizobia caractérisés sont des bactéries Gram-négatives (au contraire des actinomycètes), en forme de bâtonnets à l'état libre, non sporulantes et généralement mobiles grâce à la présence d'un ou plusieurs flagelles, présentes dans le sol et appartenant aux sous-classes α et β protéobactéries (Fig. 2). Quatre genres d' α -protéobactéries :

Bradyrhizobium ;

Mesorhizobium ;

Rhizobium ;

Sinorhizobium.

Qui constituent les symbiotes prédominants de la plupart des espèces de Légumineuses.

-Des lignées supplémentaires d' α -protéobactéries, formant des nodules et ayant une distribution géographique réduite et un spectre d'hôtes limité: *Azorhizobium* ;

Methylobacterium ;

Phyllobacterium ;

Ochrobactrum ;

Devosia.

-D'autres symbiotes de la lignée de β protéobactéries ont également été trouvés :

Burkholderia ;

Cupriavidu.

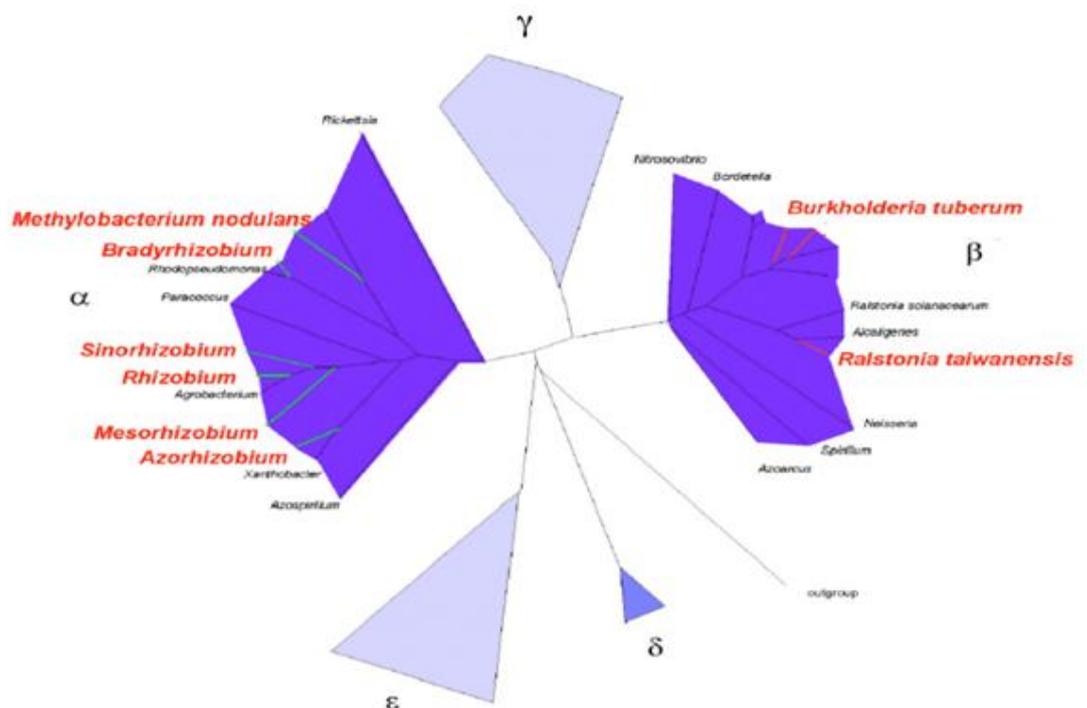


Figure 2. Les symbiotes bactériens au sein des protéobactéries.

I.2.3. La s spécificité d'hôte

Les spécificités d'interaction entre les Rhizobia et les Légumineuses sont variables (Tableau 1). Un Rhizobia donné n'est capable d'établir une symbiose fixatrice d'azote qu'avec un nombre limité d'espèces végétales, définies par son spectre d'hôtes. Inversement, une espèce de Légumineuse donnée ne pourra établir une association symbiotique qu'avec une ou plusieurs espèces ou genres de Rhizobia, définissant ainsi le spectre d'hôtes de la légumineuse.

Tableau 1. Exemples d'associations entre Rhizobia et Légumineuses

Rhizobia	Plantes hôtes
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	Luzerne (<i>Medicago</i> sp)
<i>Mesohizobium loti</i>	Lotier (<i>Lotus</i>)
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	<i>Pisum, Vicia, Trifolium, Phaseolus</i>
<i>Sinohizobium fredii</i>	Soja (<i>Glycine</i>)
<i>Rhizobium</i> sp. NGR234	Large spectre et <i>Parasponia</i> (non légumineuse)
<i>Rhizobium tropicii</i>	<i>Phaseolus</i> , Faux Mimosa (<i>Leucaena</i>)
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Soja (<i>Glycine</i>)
<i>Azorhizobium caulinodans</i>	<i>Sesbania</i>

Ces spécificités d'hôte sont généralement dépendantes de la composition des exsudats racinaires, ainsi que de la nature de déterminants moléculaires secrétés par les Rhizobia appelés facteurs Nods. La variabilité des spécificités d'interactions est illustrée dans les exemples suivants:

- Les plantes du genre *Galega* (sous famille des Papilionidae) qui ne peuvent être nodulées que par une seule espèce de Rhizobia, *Rhizobium galegae* ;

- La Légumineuse *Sesbania rostrata* qui n'établit une symbiose qu'avec *Azorhizobium caulinodans* ;
- La souche NGR234 de *Sinorhizobium* peut former des nodules sur 112 genres de plantes différents, dont une seule non-Légumineuse *Parasponia andersonii*.

I.2.4. Les étapes de mise en place de la nodulation

Le nodule est un nouvel organe produit par la plante hôte au sein duquel les bactéries, différenciées en bactéroïdes, fixent l'azote atmosphérique. Pour permettre une activité optimale de la nitrogénase, enzyme irréversiblement inactivé par l'oxygène, la plante maintient les nodules en condition de micro-oxie grâce au parenchyme nodulaire pendant que la leghémoglobine transporte et régule la concentration d'oxygène indispensable à la respiration.

Les nodules sont majoritairement racinaires (Fig.3.A), comme c'est le cas chez les deux Légumineuses modèles *Medicago truncatula* et *Lotus japonicus* mais peuvent parfois être caulinaires (Fig.3.B) comme dans le cas de l'interaction *Sesbania rostrata* - *Azorhizobium caulinodans*.



Figure 3. Variations morphologiques des nodules dans l'interaction Rhizobia-légumineuse. (A) Nodules déterminés racinaires-(B) Nodules caulinaires.

Nb : Les deux légumineuses *Medicago truncatula* et *Lotus japonicus* (Fig.4) sont choisis comme plantes modèle:

- Systèmes efficaces et puissants pour étudier les interactions symbiotiques ;
- Posséder des génomes diploïdes petits relativement simples et donc séquencables ;
- Temps de génération courts (trois a quatre mois).



Figure 4. Photographie des deux légumineuses modèles. a. *Lotus japonicus*. b. *Medicago truncatula*

La symbiose Rhizobia-Légumineuse est le résultat d'interactions complexes entre la bactérie et son hôte. Ces interactions débutent par une reconnaissance mutuelle faisant intervenir un dialogue moléculaire entre les deux partenaires. Le dialogue moléculaire débute par l'exsudation, via les racines des Légumineuses, de composés phénoliques pouvant être des flavonoïdes (les plus étudiés), des stachydrines, ou des acides aldoniques. Ces composés sont reconnus spécifiquement par des protéines régulatrices bactériennes, majoritairement les protéines NodD. Cette reconnaissance représente un premier niveau de spécificité de la symbiose. L'activation des protéines régulatrices bactériennes conduit à l'expression coordonnée des gènes de la nodulation (gènes *nod*, *noe* et *nol* communément rassemblés sous le terme gènes *nod*) par l'intermédiaire de boîtes régulatrices (nod-box) situées en amont des gènes *nod*. Les produits des gènes *nod* sont impliqués dans la biosynthèse de lipochitooligosaccharides appelés facteurs Nod, qui sont directement responsables de la courbure des poils absorbants racinaires, de l'induction d'un méristème, de la formation des

nodules chez la plante (Fig. 5). La reconnaissance du facteur Nod par la plante représente un second niveau de spécificité de la symbiose.

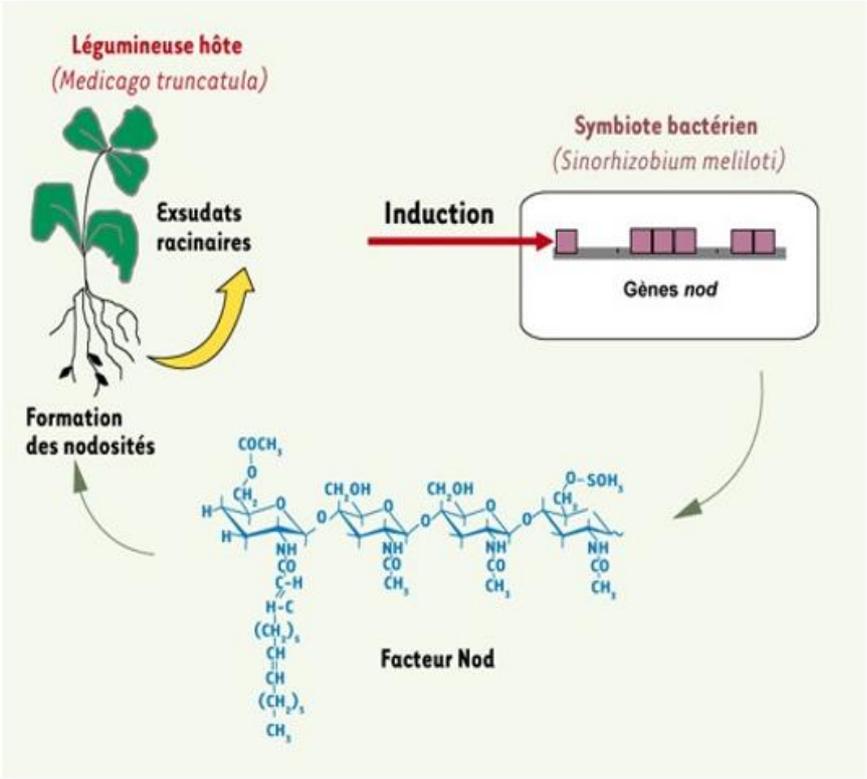


Figure 5. Représentation schématique du dialogue moléculaire Rhizobia-Légumineuse

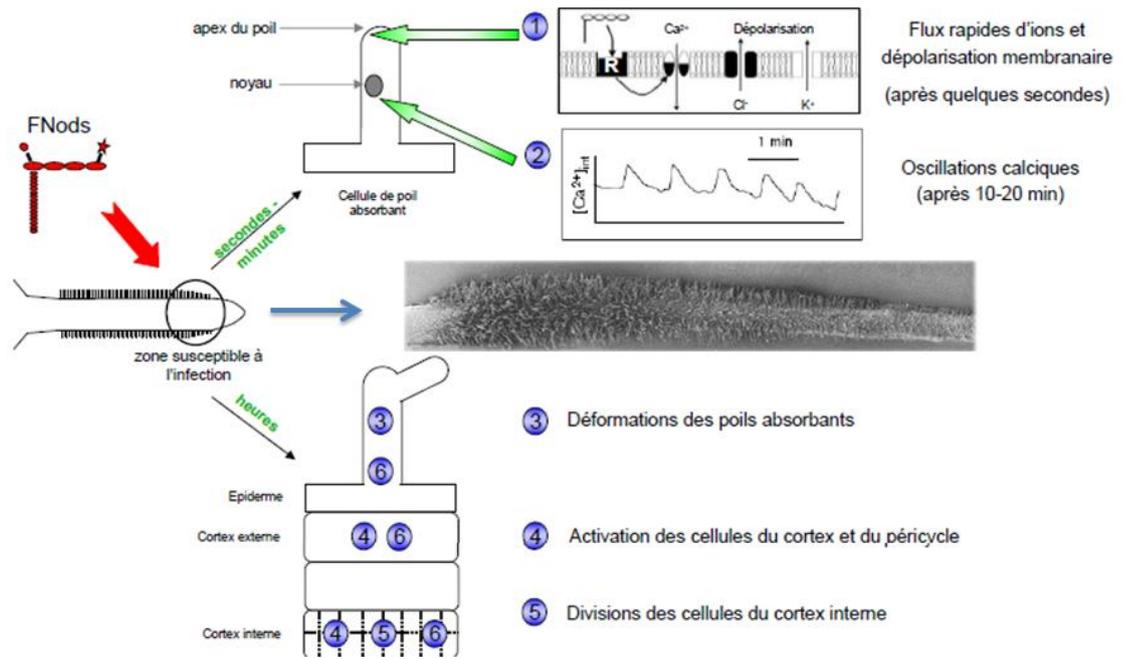


Figure 6. Représentation schématique des réponses précoces induites par application globale de FNods au niveau de la zone racinaire susceptible à l'infection chez la plante hôte

Le processus de nodulation commence lors de la pré-infection, par une phase de reconnaissance entre les deux partenaires, et qui est suivie de deux étapes quasiment simultanées, l'infection de la racine par les bactéries et l'organogenèse du nodule.

Dans ce cours, nous allons décrire l'enchaînement des principaux événements associés à la mise en place de cette symbiose

a. L'étape de pré-infection : reconnaissance des partenaires et réponses biologiques induites chez la plante hôte

L'interaction commence avec la colonisation de jeunes poils absorbants par les Rhizobia et un échange de molécules signaux. Les bactéries reconnaissent des flavonoïdes qui sont sécrétées par la plante hôte. Ces molécules induisent la production de facteurs NOD par les Rhizobia. Les facteurs NOD sont des lipo-chitooligosaccharides (LCO) émis par la bactérie, à l'origine de la reconnaissance spécifique entre les deux symbiotes et du déclenchement du programme d'organogenèse nodulaire chez le végétal par une cascade d'expression de gènes spécifiques.

Les facteurs NOD agissent essentiellement sur deux types de cellules au niveau de la racine (Fig. 6): Les cellules épidermiques et corticales. Au niveau des cellules épidermiques, les facteurs NOD induisent une dépolarisation de la membrane plasmique, une oscillation du flux de Ca^{2+} , une induction de l'expression de gènes spécifiques et une modification de la croissance polaire des poils absorbants formant une structure dite en «crosse de berger» qui enferme les Rhizobia. A partir de cette niche, les Rhizobia pénètrent la cellule végétale par la formation d'un cordon d'infection

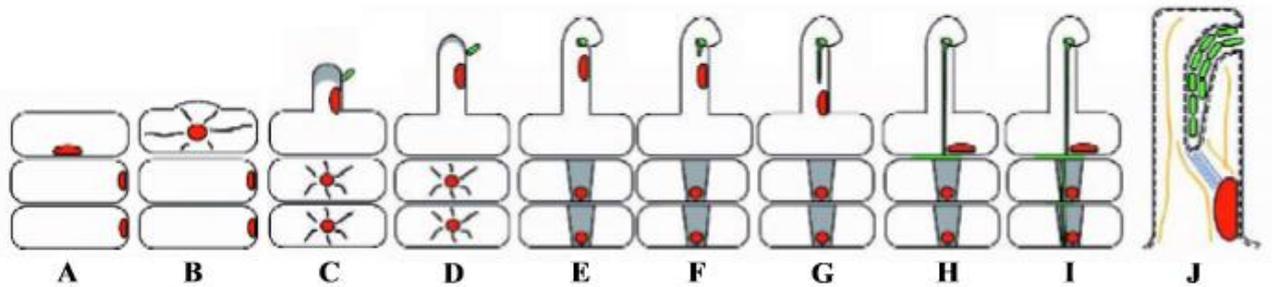


Figure 7: Le processus d'infection dans les poils absorbants et les cellules sous-jacentes

A. Une cellule épidermique et deux cellules du cortex externe sous-jacentes. Le noyau (en rouge) de la cellule épidermique est positionné en face du futur poil absorbant.

B. Initiation du poil absorbant dans la cellule épidermique.

C. Attachement d'une cellule rhizobienne (en vert) à un poil absorbant de type I et activation des cellules corticales sous-jacentes en réponse aux facteurs Nod.

D. Croissance continue du poil qui atteint le type II.

E. Déformation du poil de type II en crosse de berger sous l'influence des facteurs Nod et croissance de la microcolonie rhizobienne dans le creux du poil. Dans les cellules du cortex externe, formation des ponts cytoplasmiques ou Pré-Infection-Threads (PITs) se sont formés (en gris).

F. Initiation du cordon d'infection.

G. Croissance du cordon d'infection vers la base du poil absorbant. Le noyau descend en avant du cordon d'infection. Fusion du cordon d'infection avec la paroi de la cellule épidermique et croissance des bactéries dans l'espace intercellulaire entre la cellule épidermique et la cellule corticale sous-jacente.

I. Croissance du cordon d'infection au travers des PITs des cellules du cortex externe.

J. Grossissement du poil absorbant observé en G. La crosse a été coupée afin de voir que les bactéries dans le cordon d'infection sont toujours à l'extérieur du poil absorbant. La paroi cellulaire est représentée en trait noir, la membrane plasmique en pointillés. Des microtubules (en bleu) sont situés entre l'extrémité du cordon d'infection et le noyau. Des filaments d'actine sont représentés en orange.

b. Le processus d'infection de la racine (L'initiation de l'infection et la formation du cordon d'infection) (Fig.7)

La courbure en crosse de berger piège les bactéries qui forment alors une micro colonie. Lors de l'infection, la paroi pecto-cellulosique du poil absorbant à l'intérieur de la courbure est dégradée par des enzymes hydrolytiques de l'hôte.

En parallèle, la membrane plasmique du poil absorbant s'invagine et une nouvelle paroi est formée autour de cette invagination produisant une structure tubulaire appelée le cordon d'infection. Ce processus implique la synthèse d'une nouvelle membrane plasmique par fusion de vésicules issues du golgi et la synthèse de paroi.

Une fois atteinte la base de 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 ainsi sa progression vers les tissus internes et produit des branchements (Fig.8 .K) 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. Certains cordons libèrent alors les bactéries dans les cellules du nodule (Figure.8.L).

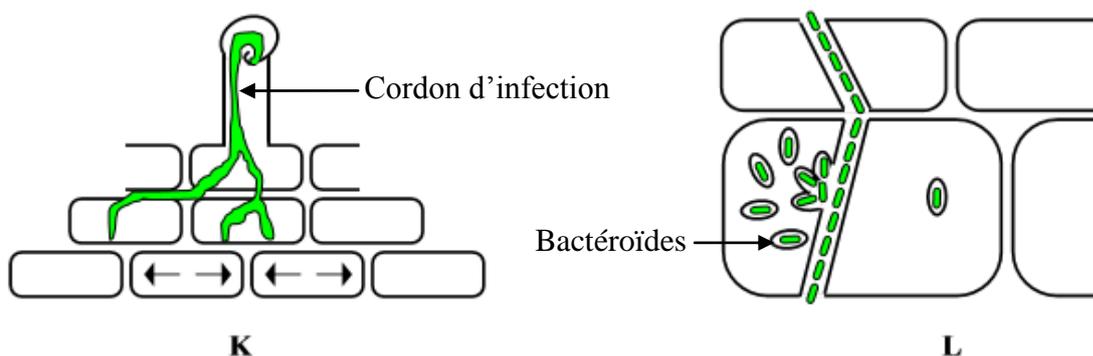


Figure 8. K. Ramification du cordon d'infection et progression vers le cortex interne qui est en cours de division pour former le primordium puis le méristème nodulaire. Les flèches représentent l'initiation de la mitose dans ces cellules. **L.** Formation des symbiosomes et libération des bactéries dans une cellule du nodule où elles sont entourées d'une membrane provenant de la plante

C'est à cet endroit qu'elles 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 pér bactéroïdienne 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.

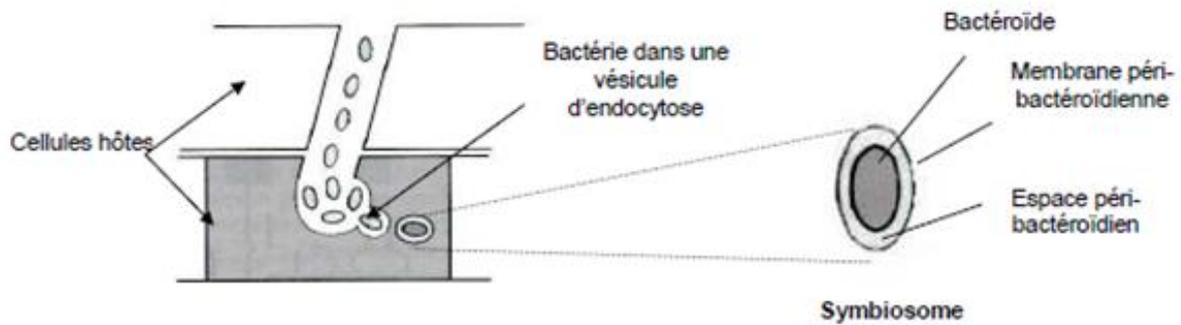


Figure 9. Schéma de la libération des bactéries dans les cellules de la zone d'infection (zone II) et formation d'un symbiosome

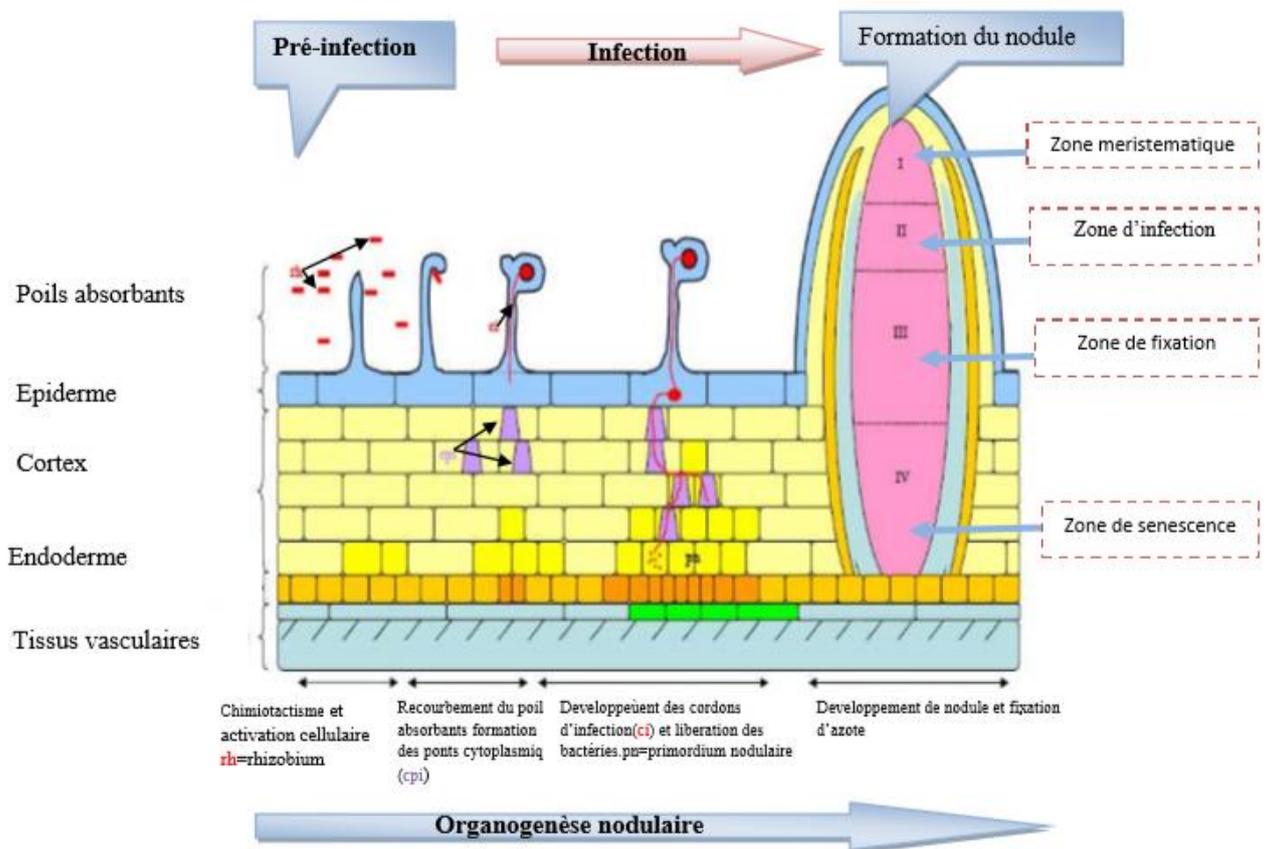


Figure 10 : Processus d'infection de la racine et mise en place du nodule chez *M. truncatula*. Les Rhizobia (rh) attirés par la présence des racines de l'hôte, adhèrent et se développent à la surface racinaire. La capture des bactéries au sein du recourbement d'un poil absorbant permet la formation d'un cordon d'infection (ci) qui véhicule les bactéries dans la racine en traversant les cellules qui s'y sont préparées en mettant en place un cordon de pré-infection (cpi). La production par les rhizobiums de facteurs Nod, associée au déroulement du processus infectieux, induit l'activation du programme d'organogénèse qui débute par la mise en place d'un primordium nodulaire (pn) où sont relarguées les bactéries. Ce processus aboutit à la formation d'une nodosité fixatrice d'azote mature, qui présente quatre zones spécifiques : le méristème (I), la zone d'infection (II), la zone de fixation (III) et la zone de sénescence (IV)

c. L'organogenèse du nodule

De manière concomitante à l'infection dans les poils absorbants, les cellules du cortex racinaire se différencient et subissent des cycles de mitoses menant à la formation d'un primordium nodulaire (Fig.10).

Il existe deux types majeurs de morphologie nodulaire chez les Légumineuses. Les Légumineuses tempérées (pois, luzerne, trèfle...) forment généralement des nodules **indéterminés** (Fig.11. a), alors que les Légumineuses tropicales (soja, haricot...) forment des nodules **déterminés** (Fig.11. b).

Les différences entre ces deux types de nodules sont liées aux sites des premières divisions cellulaires associées au primordium nodulaire, au maintien d'une région méristématique, et à la forme des nodules matures.

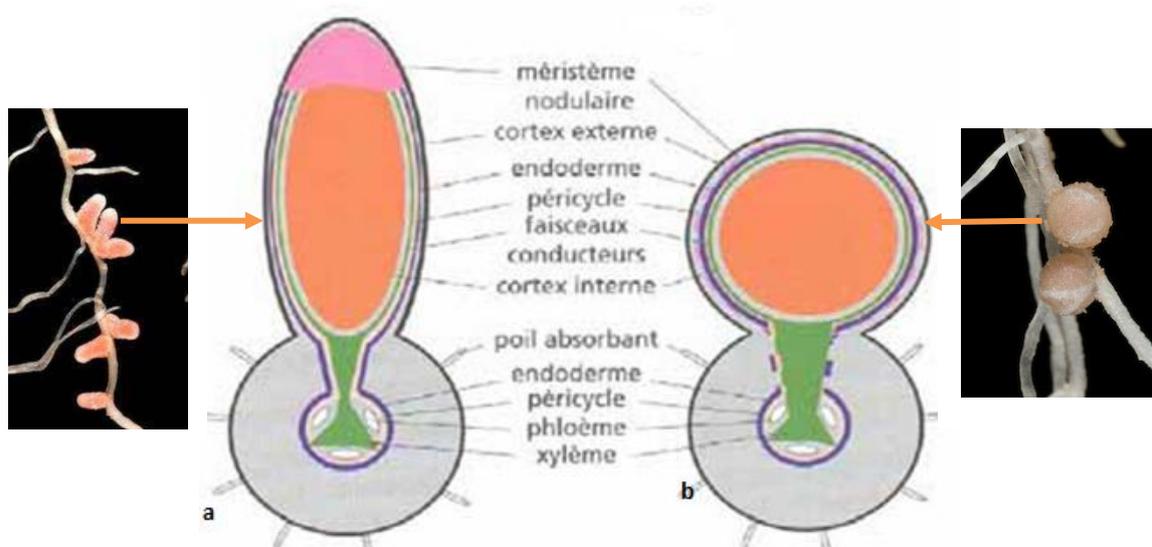


Figure 11 : Les différents types de nodules chez les Légumineuses. **a.** Nodule de type indéterminé, présence d'un méristème, plusieurs stades de développement cellulaires. **b.** Nodule de type déterminé, toutes les cellules sont au même stade de développement.

Les nodules indéterminés (EX. *Medicago truncatula*) ont un méristème actif persistant, ce qui leur confère une forme allongée et cylindrique (Fig.11. a).

Les nodules déterminés (EX. *Lotus japonicus*) ont un méristème non persistant, leur conférant une forme sphérique (Fig.11. b).

Ces deux types de nodules sont issus de deux processus développementaux différents au niveau racinaire. Les nodules indéterminés sont formés à partir des cellules du péricycle et du cortex interne, alors que les nodules à croissance déterminée proviennent des cellules du cortex moyen ou du cortex externe.

I.2.5. La structure du nodule

Toutes les étapes de développement nodulaire sont présentes au sein d'un même nodule selon un gradient de différenciation, ainsi, le nodule est typiquement divisé en cinq zones (Fig. 12 A,B) :

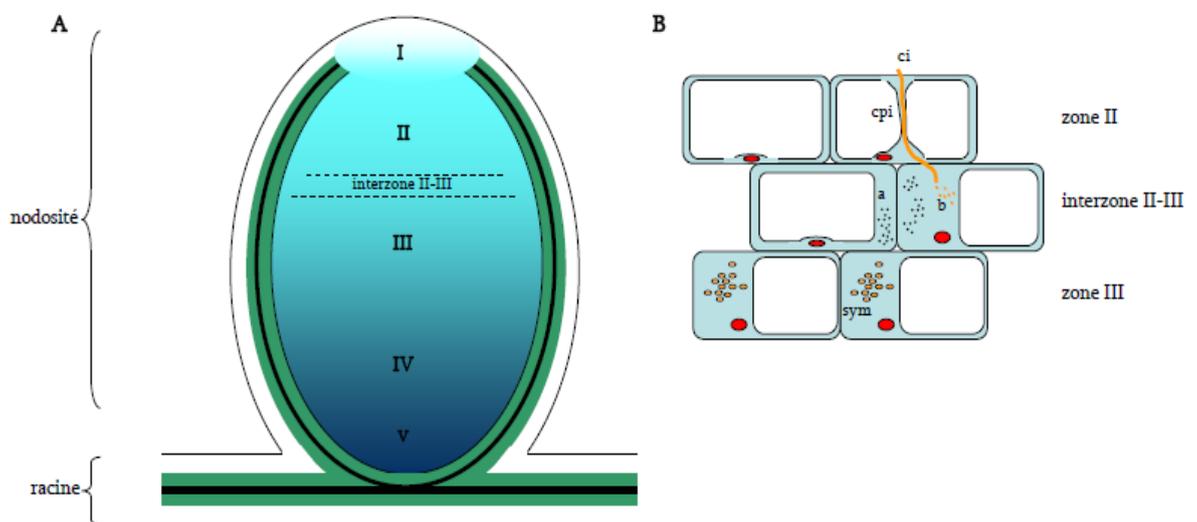


Figure 12. Schéma de la structure d'un nodule mature (A) et détail de l'infection des cellules (B).

La zone méristématique (I) : située à l'apex, cette zone est toujours dépourvue de bactéries.

La zone d'infection (II) (où les bactéries sont libérées) : cette zone 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.

Nb : À ce stade, elles ne fixent pas encore l'azote.

L'interzone (II-III) riche en amyloplast : 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.

La zone de fixation (III) : dans cette zone les bactéroïdes pleinement différenciés fixent activement l'azote.

La zone de sénescence (IV) : où bactéroïdes et cellules végétales dégénèrent

La zone saprophytique (V) : cette zone apparaissant plus tardivement et constituant une niche pour les bactéries non différenciées).

Au contraire, les nodules déterminés ont une activité méristématique qui disparaît très tôt après l'initiation du nodule. La croissance du nodule se fait par élargissement des cellules, donnant une forme arrondie au nodule. Il n'y a pas de différenciation spatiale du nodule, juste une différenciation temporelle.

De la périphérie vers l'intérieur du nodule (Fig. 11, 12), 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 **péricycle**
- Le **cortex interne** : formé de une à trois couches de cellules
- Le **parenchyme central** : qui contient les cellules infectées par les Rhizobia et des cellules non infectées de petites tailles.

I.2.6. Régulation du nombre de nodules

La nodulation est le résultat d'un dialogue utilisant des signaux moléculaires entre le microsymbionte et la plante hôte. La symbiose est contrôlée par un processus d'autorégulation qui commande le nombre de nodules et la fixation de l'azote par une signalisation à distance. Les nodules sont formés dans les régions spécifiques de la racine. Quand le système racinaire se développe, d'autres régions pouvant être infectées sont continuellement formées. Mais une fois que les nodules sont fonctionnels, la nodulation est inhibée dans les autres parties jeunes.

Dans ce cas les plantes contrôlent le nombre de nodules en maintenant un certain équilibre: bénéfice (fixation d'azote) / coût (ressources de carbone). Cette autorégulation est réalisée par des signaux moléculaires émis par la partie racinaire ainsi que par des phytohormones (Ex: ABA) produits au niveau des tiges.

I. 3. La formation des nodules caulinaires

I.3.1. 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. 13). 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*.



Figure 13. La nodulation aérienne chez *Sesbania rostrata*

I.4. Présentation d'autres modèles d'infection des plantes tropicales arborées

I.4.1. 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.14). 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.

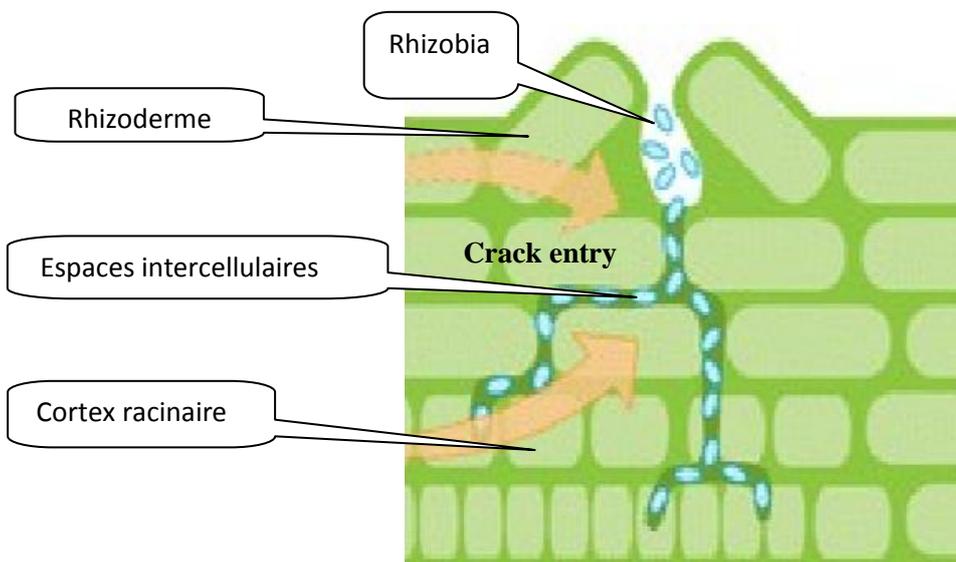


Figure14. Infection par pénétration intercellulaire ("crack entry")

I.5. 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 environ 220 espèces de plantes appartenant à 25 genres et regroupées dans huit familles (*Betulaceae*, *Casuarinaceae* (Fig.15.A), *Coriariaceae*, *Datisceae*, *Elaeagnaceae*, *Myricaceae*, *Rhamnaceae* et *Rosaceae*) composées principalement d'arbres ou de buissons à l'exception du genre *Datisca*. Le genre *Frankia* est composé de bactéries filamenteuses (Fig.15. B) du sol Gram positives. Il est caractérisé par sa capacité à induire des nodules (Fig.15. C) sur un large spectre d'hôtes avec un degré de spécificité variable.

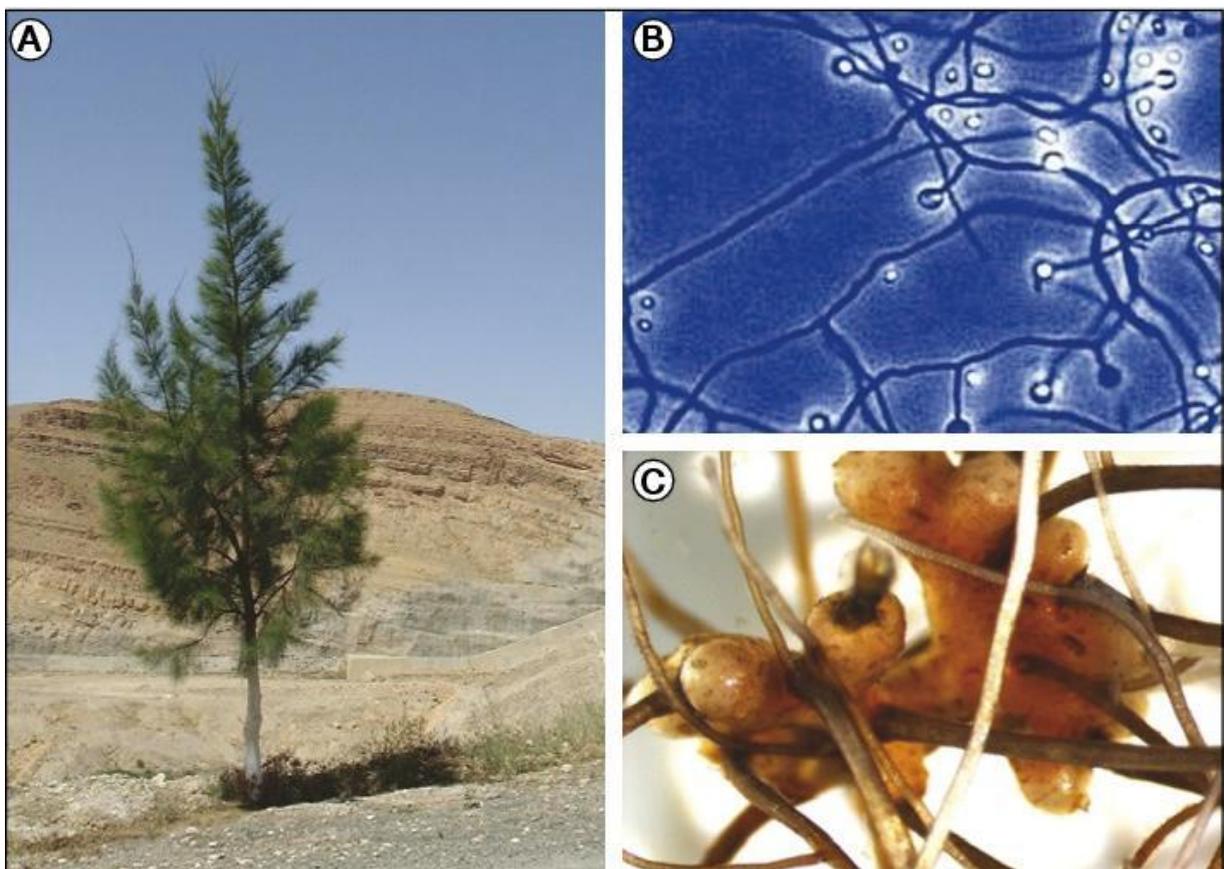


Figure 15. A. l'arbre tropical *Casuarina glauca*. B. aspect morphologique de la bactérie *Frankia* en culture pure. C. Nodules actinorhiziens de *C. glauca*.

Les bactéries peuvent se différencier en trois types cellulaires, tous présents à l'état symbiotique (sauf quelques exceptions) : les hyphes, les vésicules et les sporangies. L'azote peut être fixé au sein des vésicules en condition libre ou symbiotique. A la différence des nodules rhizobiens, les nodules actinorhiziens ont une vascularisation centrale et sont issus du péricycle racinaire. Les nodules actinorhiziens sont de type indéterminé (Fig.16).

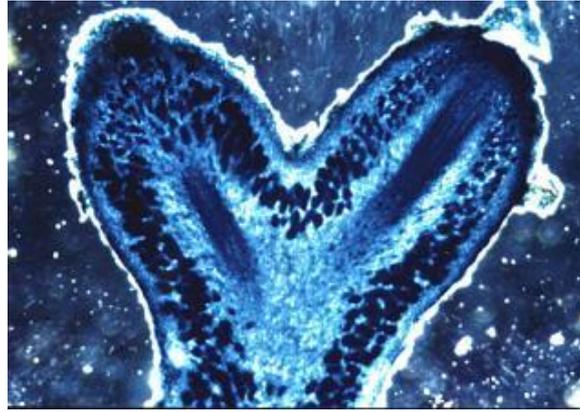


Figure 16: Section longitudinale d'un nodule ramifié de racine d'Aulne, avec de grandes cellules corticales remplies de diazovésicules

Nb : -Les 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 et des côtes.

-L'ensemble de ces symbioses actinorhiziennes fixe à peu près autant d'azote que les symbioses Rhizobia-Légumineuses

I.5.1. Infection intercellulaire (*Elaeagnus*, *Ceanothus* et *Cercocarpus*) (Fig.17)

- La pénétration des hyphes de *Frankia* a lieu dans la lamelle moyenne de deux cellules du rhizoderme ;
- L'infection de la racine se poursuit par la progression intercellulaire des hyphes vers le lobe nodulaire qui est issu de cellules du pérycyle opposées au pôle du protoxylème ;

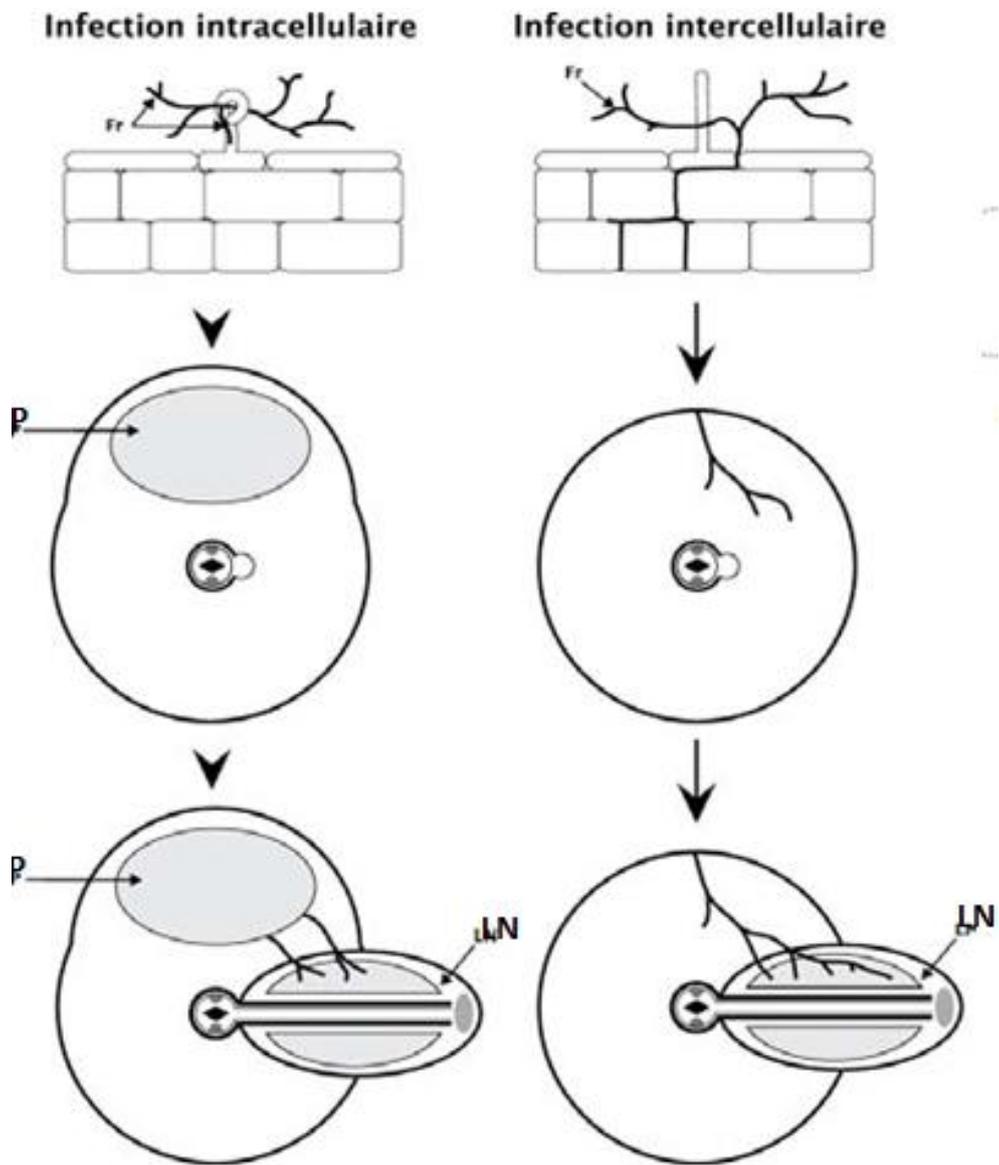


Figure 17. Schéma comparatif entre l'infections intra et inter-cellulaire chez les plantes actinorhiziennes. P : prenodule, LN : lobe nodulaire

- L'invasion du lobe nodulaire par *Frankia* est intracellulaire et reste localisée au parenchyme cortical du lobe nodulaire ;
- Dans ce type d'infection, on n'observe pas de stade prénodule.

I.5.2. Infection intracellulaire (*Myrica*, *Comptonia*, *Alnus* et *Casuarina*)

(Fig.17, 18)

- La voie de pénétration de *Frankia* (Fr) est un poil absorbant. De manière concomitante à la progression de *Frankia* dans le poil absorbant, a lieu une activité mitotique dans le cortex de la racine ;
- Les divisions cellulaires et l'hypertrophie de ces cellules infectées par *Frankia* donnent naissance à une légère protubérance de la racine, visible à l'œil nu, le prénodule (P) ;
- Le lobe nodulaire (LN) est initié dans des cellules du péri-cycle qui sont opposées à l'un des pôles du xylème primaire ;
- L'invasion du lobe par *Frankia* se réalise par des hyphes issus du prénodule.

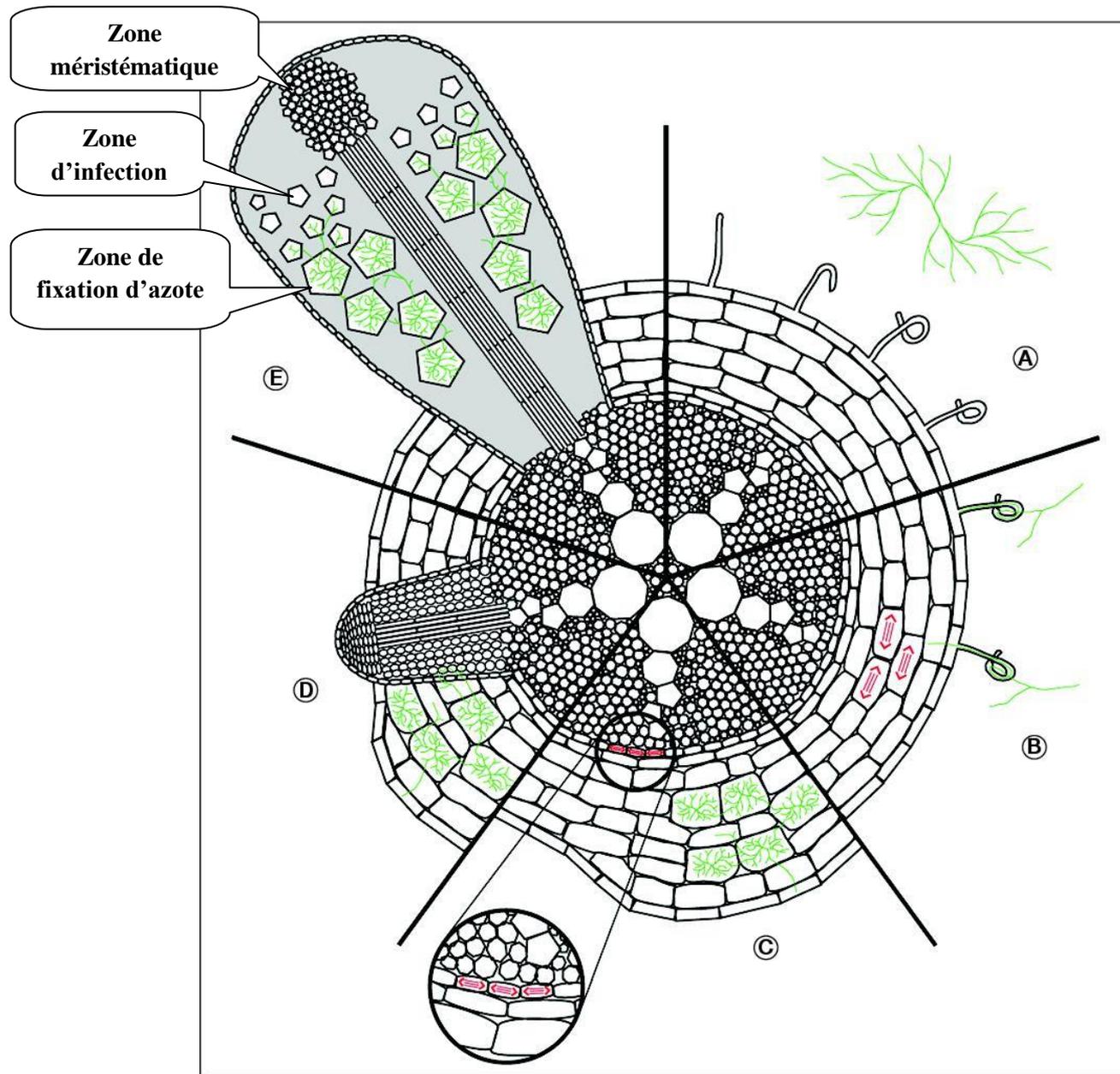


Figure 18. Processus d'infection intracellulaire et organogénèse d'un lobe nodulaire chez les plantes actinorhiziennes

A. L'échange de signaux entre Frankia et la plante actinorhizienne aboutit à la déformation du poil racinaire (A).

B. La bactérie pénètre dans un poil déformé et provoque des divisions des cellules corticales (B).

C. Les cellules corticales en division sont infectées par les hyphes de *Frankia* et s'hypertrophient ce qui provoque l'apparition du pré-nodule. En même temps, quelques cellules du péricycle situées en face du pôle de xylème se divisent pour donner naissance au primordium nodulaire (C).

D. Les hyphes de Frankia en provenance du pré-nodule envahissent les cellules corticales du nodule en formation (D).

I.5.3. La structure d'un nodule actinorhizien

Dans le nodule mature, quatre zones sont décrites (Fig.19) :

- **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** où *Frankia* et les cellules végétales dégènèrent.

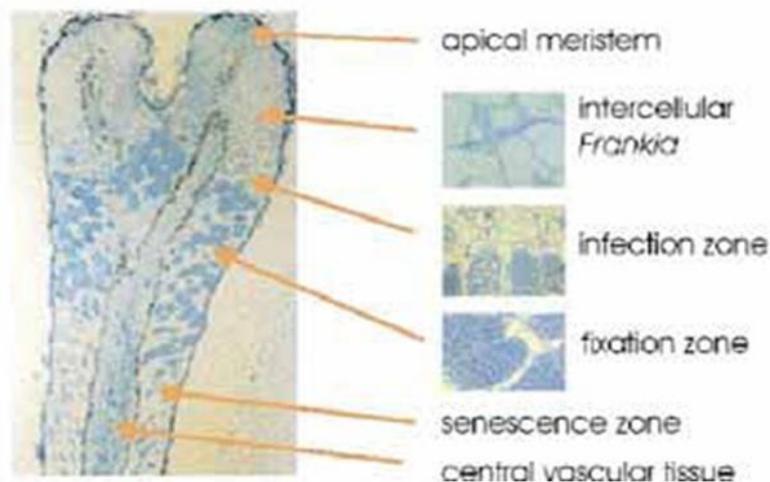


Figure 19 : Anatomie d'un nodule actinorhizien chez l'hôte *Discaria trinervis*

I.6. Intérêt de la fixation symbiotique d'azote

Il faut de 2 à 3 tonnes d'équivalent pétrole (du gaz naturel, le plus souvent) pour produire une tonne d'engrais azoté (L'azote produit industriellement par synthèse chimique) par le processus Haber-Bosch (gaz naturel pour fournir l'hydrogène et température et pression élevées nécessaires pour la réaction).

Comprenez-vous pourquoi le prix des aliments augmente dès que le prix du pétrole augmente?

- On produit environ 40 millions de tonnes d'ammoniac par le procédé Haber/Bosh par année. C'est environ 1/5 de ce qui est produit par les bactéries fixatrices d'azote sur toute la planète.
- La moitié de l'engrais ajouté est absorbée par les plantes cultivées. Le reste est absorbé par d'autres plantes ou lessivé, ce qui engendre la pollution des nappes phréatiques.
- Les hauts rendements agricoles qui permettent actuellement de nourrir la population mondiale ne seraient pas possibles sans cette production industrielle d'engrais azoté.

En effet, **l'azote de la fixation symbiotique** a une contribution plus importante pour la croissance des plantes par rapport à celui des engrais azotés appliqués dans l'agriculture des pays en développement. L'azote fixé dans l'atmosphère contribue pour 50 à 60 % du N des légumineuses à graines, 55 à 60 % du N des arbres fixateurs d'azote, 70 à 80 % du N des légumineuses fourragères. Cette réserve d'azote, étant stockée dans les feuilles, les nodules ou bien les autres organes, reste plus longtemps disponible dans les sols comparativement à l'azote minéral fortement lessivé par les eaux.

Comment renforcer la fixation biologique de l'azote ?

Produire soi-même son azote pour les grandes cultures : A l'heure actuelle, les possibilités de fourniture d'azote par les légumineuses sont sous-utilisées dans l'agriculture Algérienne. Il existe différentes techniques pour mettre en valeur ce potentiel, en utilisant les légumineuses comme précédent cultural (cad d'alterner différentes cultures dans un même sol, pour le nourrir, le protéger et dans le cas des légumineuses pour le gorger d'azote naturel) ou en association avec la culture. Les précédents culturaux «prairie temporaire» et «légumineuses à graine» apportent à la culture suivante entre 10 et 60 kg de N/ha.

La rotation des cultures avec les Légumineuses permet d'économiser les engrais azotes, très couteux en énergie fossile et contribuant a l'effet de serre via l'émission de grandes quantités d'oxyde nitrique.

Chapitre II

La Symbiose Mycorhizienne

Chap II. La Symbiose Mycorhizienne

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 puisqu'on estime que plus de 90% des familles de plantes terrestres possèdent au moins un représentant capable de mycorhizer. Ils existent différents types de mycorhizes, en fonction de la morphologie de l'interaction, caractérisés par une interaction superficielle (ectomycorhize) ou interne (endomycorhize).

II.1. Les différents types de symbiose mycorhizienne

La mycorhize débute par la rencontre d'un champignon avec les racines d'une plante.

- a. **Les ectomycorhizes (Fig.19)** : se rencontrent principalement chez les arbres et arbustes et impliquent une très grande variété de champignons Basidiomycètes, Ascomycètes ou Zygomycètes. Au cours de l'interaction, le partenaire fongique forme un manchon d'hyphes autour de certaines racines, et s'insinue entre les cellules de l'épiderme et du cortex externe sans jamais pénétrer les cellules végétales.

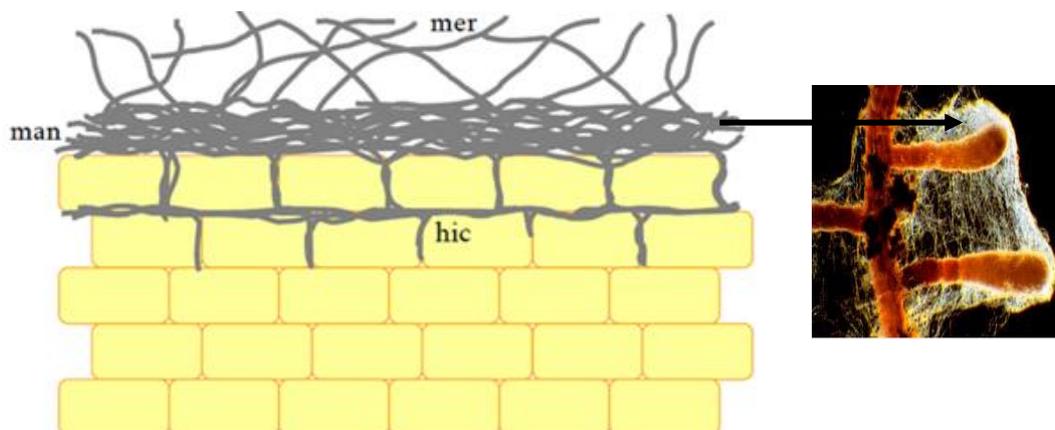


Figure 19. La symbiose Ectomycorhizienne. ap: appressorium ; hic: hyphes intercellulaires ; man: manchon fongique ;

- b. **Les endomycorhizes (Fig.20)** : A l'inverse, sont 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.

- Dans le cas des **mycorhizes des Ericacées et des Orchidées**, l'hyphe du champignon (Ascomycète ou Basidiomycète) forme un peloton à l'intérieur d'une cellule.

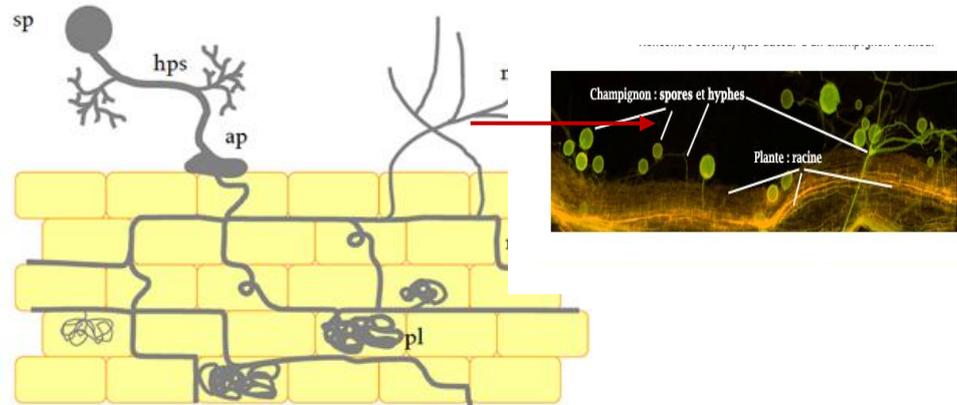


Figure 20. La symbiose mycorhizienne des Ericoïdes. ap: appressorium ; arb : arbuscule ; hic: hyphes intercellulaires ; man: manchon fongique ;hps: hyphes pré-symbiotiques ; mer: mycélium extra-radiculaire ; mir: mycélium intraradiculaire; pl: peloton ; sp: spore ; vs: vésicule.

- Alors que dans le cas de la **symbiose mycorhizienne à arbuscules** (Fig.21), le champignon développe à partir des hyphes intercellulaires, des structures intracellulaires très ramifiées, **les arbuscules**.

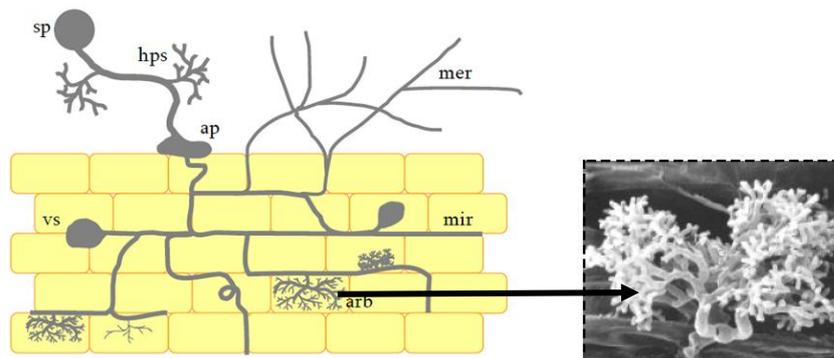


Figure 21. La symbiose mycorhizienne à arbuscules. ap: appressorium ; arb : arbuscule ; hic: hyphes intercellulaires ; man: manchon fongique ;hps: hyphes pré-symbiotiques ; mer: mycélium extra-radiculaire ; mir: mycélium intraradiculaire; sp: spore ; vs: vésicule.

- Dans les deux cas, **pelotons ou arbuscules**, ces structures intracellulaires sont le site des échanges de nutriments entre les deux partenaires)
- c. **L'ectendomycorhize** un troisième type de mycorhize, où les deux processus coexistent (Fig.22).

Nb : Ces trois grands types de symbioses mycorhiziennes, ectomycorhize, mycorhize des Ericacées et mycorhize à arbuscules, ont des répartitions géographiques différentes en fonction de la latitude, de l'altitude et de la nature des sols.

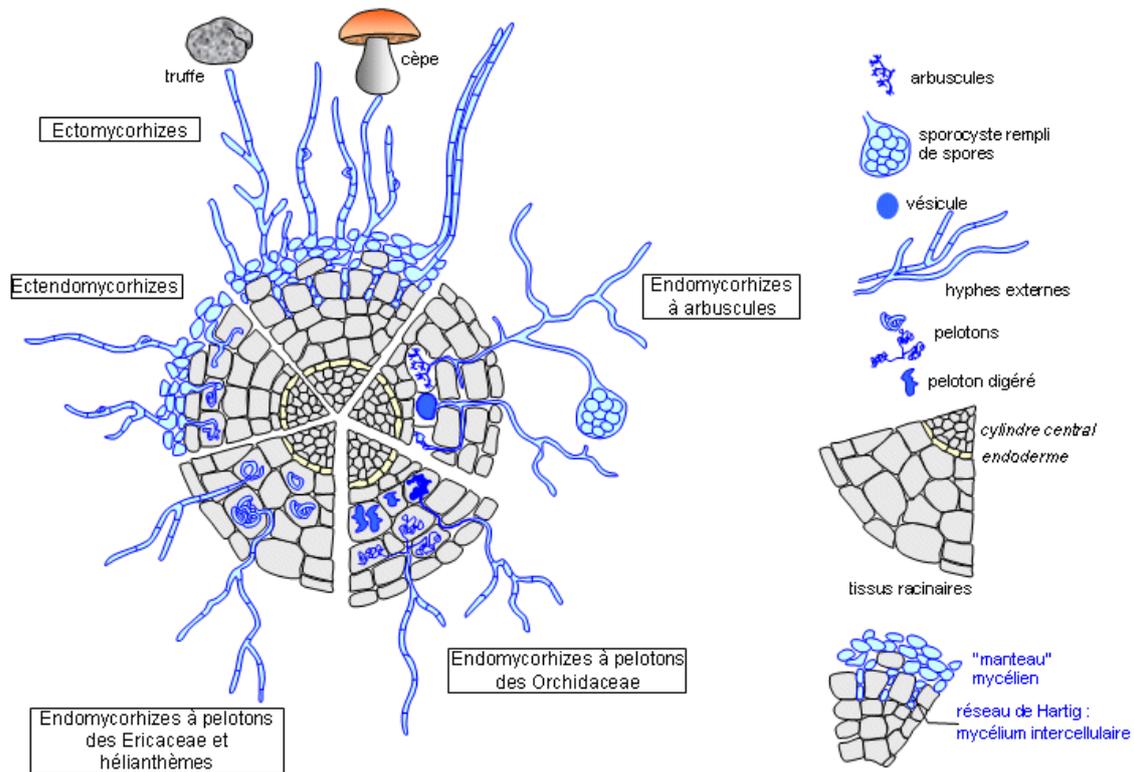


Figure. 22. récapitulatif des principales formes de mycorhizes associées aux racines des plantes supérieures. En haut, les **ectomycorhizes**, caractérisées par la non pénétration des filaments souterrains du champignon dans les cellules racinaires et par la formation d'un « manteau » autour des fines racines. Les organes reproducteurs de ces champignons **ectomycorhiziens** peuvent être épigés ou hypogés. Les filaments externes sont figurés longitudinalement et les filaments intercellulaires sont figurés en coupe transversale. Chez les **endomycorhizes**, certains des filaments du champignon pénètrent à l'intérieur des cellules des racines: 1) les **endomycorhizes** à **arbuscules** sont les plus courantes. Les **arbuscules**, minuscules arborescences, sont toujours intracellulaires; les **vésicules** peuvent être à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules. Ce type de mycorhizes est associé à la grande majorité des plantes arbustives et herbacées, aux arbres fruitiers, aux arbres tropicaux; 2) les **endomycorhizes** des orchidées qui forment des pelotons dans les cellules; 3) d'autres **endomycorhizes** à **pelotons** existant dans les cellules racinaires des bruyères et de certaines plantes méditerranéennes comme les hélianthèmes. Les champignons associés aux hélianthèmes sont les terfèzes ou truffes du désert; 4) les **ectendomycorhizes**, caractérisées par un manteau et par la pénétration des filaments à l'intérieur des cellules sous forme de pelotons. Elles existent chez certains arbres forestiers.

II.2.Présentation des partenaires du mycorhize

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, certains gymnospermes, et même les gamétophytes de certaines plantes inférieures (lycopodes et mousses) sont capables de mycorhizer. Il est couramment admis qu'au moins 60% des espèces de plantes terrestres sont capables d'établir ce type de symbiose.

a. Le partenaire végétal

Environ 6 000 espèces de plantes terrestres présentent un statut ectotrophe. Les espèces de plantes ectotrophes sont des gymnospermes et surtout des angiospermes. Les arbres sont majoritairement impliqués dans cette symbiose qui intéresse également des arbustes, des lianes et des herbacées. Les arbres sont représentés principalement dans les familles ou sousfamilles des *Betulaceae*, *Caesalpinioideae*, *Dipterocarpaceae*, *Fagaceae*, *Myrtaceae*, *Papilionoideae* et *Pinaceae*. Les arbres ectotrophes sont fréquemment associés avec des symbiotes endomycorhizogènes et/ou plus rarement avec des symbiotes formant des ectendomycorhizes, en particulier chez les *Ericaceae*. Par exemple, chez le genre *Eucalyptus*, *Helianthemum* et *Quercus*, les mycorhizes à arbuscules sont dominantes sur les jeunes semis alors que les ectomycorhizes sont principalement détectées chez les arbres adultes.

b. Le Partenaire Fongique

La diversité des champignons ectomycorhiziens est estimée entre 20 000 à 25 000 espèces (0,5 à 0,7 % de la diversité fongique totale). Ces symbiotes fongiques appartiennent majoritairement à des Basidiomycètes et Ascomycètes et plus rarement à des Gloméromycètes. La diversité des champignons ectomycorhiziens serait moins importante dans les régions tropicales que dans les régions tempérées. Ce constat serait sous-estimé, car de nombreuses espèces fongiques n'ont pas encore été identifiées dans les régions tropicales. Les Ascomycètes sont fréquemment observés chez les champignons hypogés, au contraire des Basidiomycètes qui sont épigés (Fig.23).

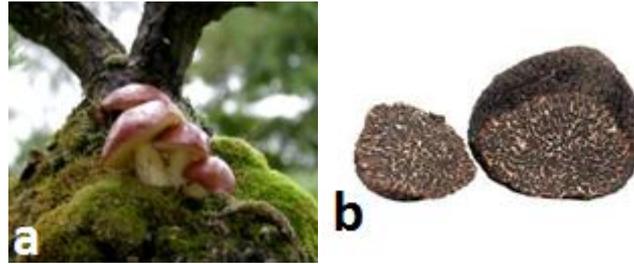


Figure 23. a. Photographie d'un *Suillus Lutéus* sur un *Pin bonsai* (exemple d'un champignon ectomycorhizien épigé), b. Photographie d'un champignon hypogé (Ex. Truffes).

❖ **Mode de vie : les symbiotes**

L'interaction mycorhizienne se caractérise par un transfert bi-directionnel de nutriments. Les champignons, en échange du carbone fourni par la plante, améliorent la nutrition hydrique et minérale de la plante, notamment en phosphore (P) et en azote (N) (Fig.24). Ces échanges nutritionnels réciproques sont au centre de l'association mycorhizienne et agissent en tant que composants régulateurs assurant le bon fonctionnement de la symbiose.

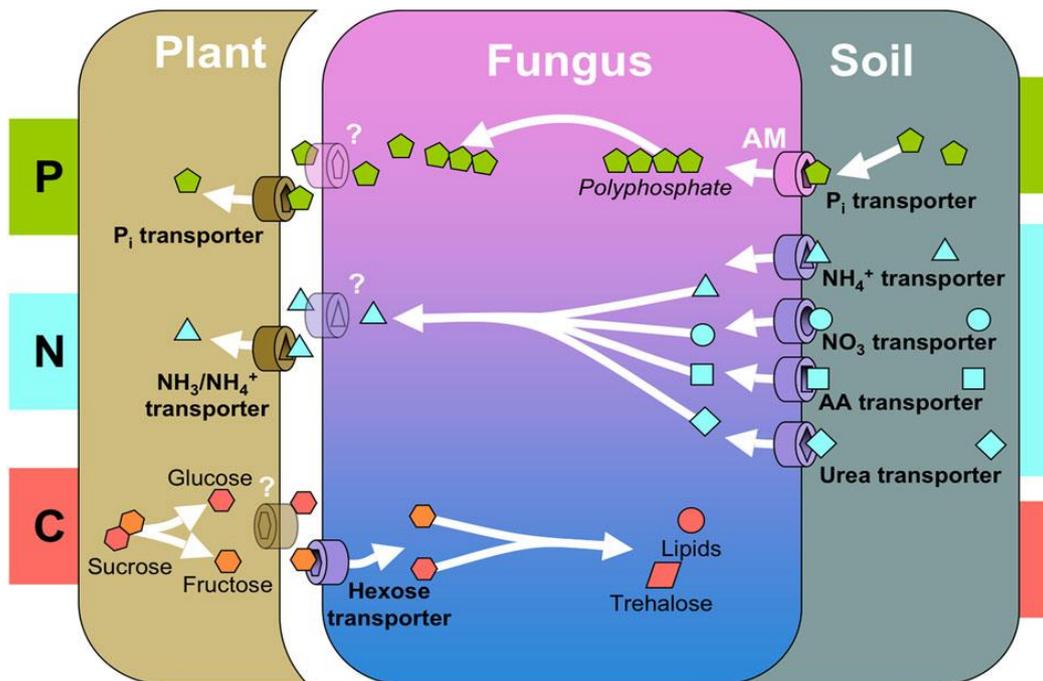


Figure 24. Schéma récapitulant les principaux processus d'échanges de nutriments [phosphore (P), azote (N) et carbone (C)] dans l'ensemble des symbioses mycorhiziennes. Les interfaces entre les trois compartiments sol, champignon et racine sont représentés. Le P inorganique (Pi) et les formes d'N organique ou inorganique, telles que le NH₄⁺, NO₃⁻ et les acides aminés (AA), sont prélevés dans le sol par des transporteurs spécialisés localisés dans le mycélium extra-racinaire. NH₃/NH₄⁺ et Pi (après hydrolyse des groupements poly-phosphate (Poly-P) chez les champignons) sont importés au niveau de l'interface symbiotique au niveau des arbuscules chez les CMA vers les cellules végétales grâce à des transporteurs spécifiques. Les transporteurs d'hexoses importent le carbone de la plante jusqu'au champignon.

Nb : *Ces échanges trophiques permettent non seulement une meilleure croissance des deux partenaires symbiotiques mais également une meilleure résistance de la plante aux stress environnementaux biotiques et abiotique*

II.3.La spécificité d'hôte

Une plante donnée peut être mycorhizée par différentes espèces de champignons n'appartenant pas obligatoirement au même genre. De la même façon, une espèce de champignon est généralement capable de mycorhizer une grande variété de plantes n'appartenant pas au même taxon. De plus, un même individu fongique est capable de mycorhizer simultanément deux plantes adjacentes d'espèces différentes.

L'efficacité de la symbiose peut varier d'un couple de partenaires à l'autre, ainsi, certains champignons se développeront plus dans certaines espèces de plantes, et ce probablement parce que la plante est plus à même de recevoir l'espèce considérée.

Pour assurer sa multiplication, l'individu est contraint d'établir une relation symbiotique avec les plantes de son environnement immédiat, ce qui favorise un large spectre d'hôte. L'hétérogénéité des matériels génétiques des champignons mycorhiziens soit l'un des facteurs assurant le large spectre d'hôte à ces organismes, en permettant une diversité dans les systèmes de reconnaissance et de signalisation entre partenaires. De la même façon, le transfert de nutriments est affecté par la nature des symbiotes et le bénéfice que peut retirer la plante de la mycorhization varie selon l'espèce du champignon.

II.4.Mise en place de l'interaction symbiotique

Pénétration du champignon dans les racines

L'infection des racines d'une plante par le champignon peut se faire par deux voies distinctes:

L'infection dite primaire se fait à partir d'hyphes fongiques pré-symbiotiques issus d'une spore en germination

L'infection dite secondaire implique, quant à elle, le mycélium extra-radiculaire d'un champignon ayant déjà envahi le système racinaire d'une plante hôte. Ce type d'infection secondaire peut se faire entre les racines du même système racinaire ou entre les systèmes racinaires de deux plantes différentes.

❖ Dans le cas de **l'infection primaire**,

- les spores germent sous l'effet de facteurs environnementaux et émettent un tube germinatif.
- Les hyphes pré-symbiotiques issus de ce tube germinatif présentent de nombreuses ramifications.
- Leur croissance peut se faire en absence de plante hôte, mais dans ce cas, le développement spatial et temporel est limité.
- La présence de la plante hôte favorise la ramification des hyphes, active et oriente leur croissance.
- Cette ramification abondante favorise la rencontre entre le champignon et la plante et constitue donc une étape cruciale pour le développement de ces champignons qui sont des symbiotes obligatoires

Au contact de la racine, le champignon forme une structure particulière, **l'appressorium**. Il s'agit d'un renflement de l'hyphe qui permet un contact étroit entre la cellule fongique et les cellules épidermiques de la racine (cad le point d'entrée du champignon dans la racine).

Nb: Bien que l'on ne sache rien du dialogue moléculaire qui s'établit à ce moment, il est certain qu'un mécanisme de reconnaissance crucial pour la poursuite de l'infection se met en place à ce stade.

La pénétration de l'hyphe dans la plante se fait généralement à travers la cellule épidermique sous-jacente à l'appressorium. Des études microscopiques ont permis de mettre en évidence la formation, dans la cellule végétale en contact avec l'appressorium, d'une structure spécifique permettant le passage du champignon à travers la cellule.

Cette structure, appelée « **appareil de pré-pénétration** » (**PPA**, « **PrePenetration Apparatus** »), est transitoire, tubulaire et traverse la cellule de l'extérieur vers l'intérieur de la racine (Fig.25).

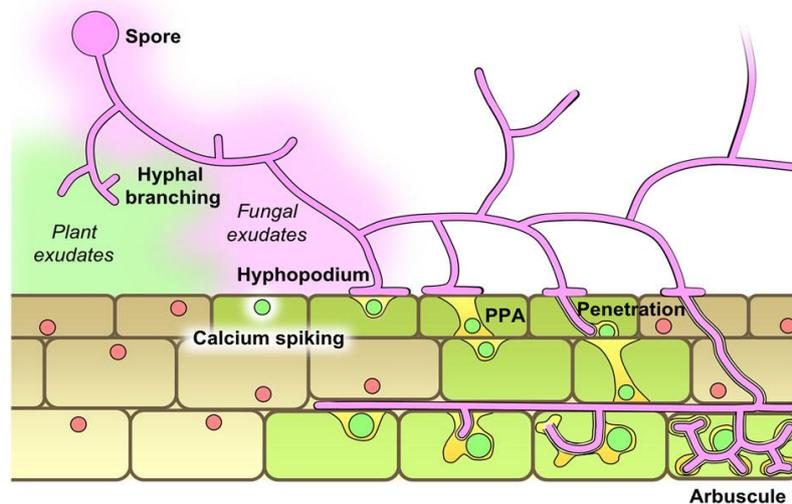


Figure 25. Schéma montrant le mécanisme de pénétration du champignon Mycorhizien

II.6. Impact écologique de la symbiose mycorhizienne

La symbiose mycorhizienne joue un rôle crucial dans la nutrition minérale des plantes. Par exemple, le phosphate inorganique PO_4^- présent dans le sol est souvent chélaté à des cations métalliques tels que le fer ou l'aluminium, ce qui le rend très peu mobile. Il se forme ainsi une zone très pauvre en phosphate autour des racines et des poils absorbants des plantes.

L'interaction avec un champignon mycorhizien permet d'augmenter le volume de sol accessible à la plante (Fig.26). Il en va de même pour les autres composés minéraux transportés par le champignon, y compris l'eau, permettant une meilleure résistance des plantes mycorhizées au stress hydrique. Cependant, l'interaction avec le champignon a un coût puisque la plante lui fournit des sucres issus de la photosynthèse.

La symbiose mycorhizienne a un effet bioprotecteur via une réduction de l'effet pathogène de certains agents phytoparasites et une meilleure tolérance des plantes mycorhizées aux stress induits par les éléments traces métalliques ou par les hydrocarbures aromatiques polycycliques.

Nb : le caractère bénéfique de la symbiose mycorhizienne pour la plante dépend de cet équilibre entre profits de nutrition minérale et coûts en photosynthétats.

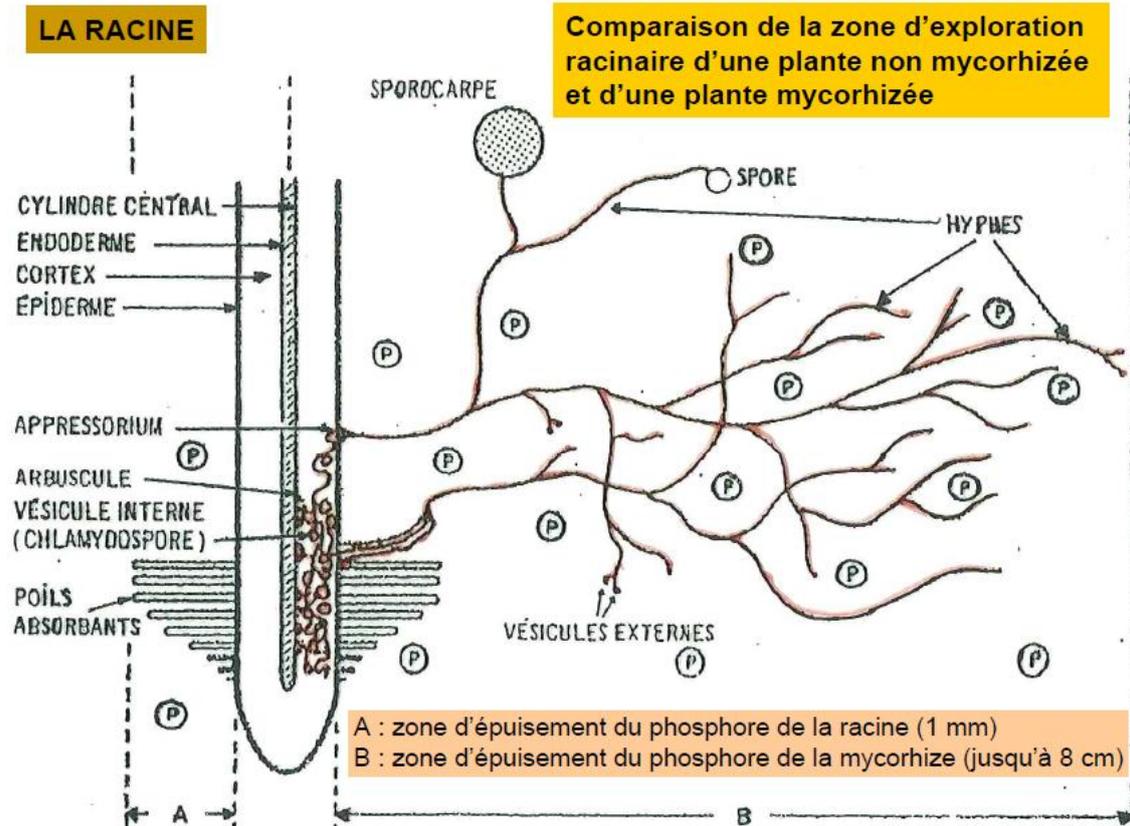


Figure 26. Comparaison de la zone d'exploitation racinaire d'une plante non mycorhizée et d'une plante mycorhizée

II.7. Intérêts socioéconomiques

Que peut-on attendre d'un apport de champignons bénéfiques?

Les associations mycorhiziennes jouent un rôle clef dans le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres,

- Produit des végétaux plus vigoureux et en santé ;
- Augmente l'établissement des plantes et leur survie lors du semis ou de la transplantation ;
- Accroît le rendement et la qualité des récoltes ;
- Améliore la tolérance à la sécheresse, permettant la réduction des arrosages ;
- Améliore la floraison et la fructification ;
- Optimise l'utilisation des fertilisants, spécialement du phosphore ;
- Accroît la tolérance à la salinité du sol ;
- Réduit l'apparition de maladies ;
- Contribue au maintien de la qualité du sol et du cycle des éléments nutritifs ;
- Contribue au contrôle de l'érosion du sol.

Chapitre III

Interaction Plantes /Bactéries Endophytes

Chap.III. Interaction Plantes -Bactéries Endophytes

III. 1. Systèmes diazotrophiques endophytes associatives

Ces systèmes englobent toutes les bactéries diazotrophes vivant en étroite association avec la plante hôte et fixant directement l'azote dans les espaces intercellulaires sans être transformées en bactéroïdes. Ils sont également qualifiés de fixateurs non symbiotiques. Cette interaction étroite entre micro et macro symbiotes a modifié le concept «associative» a introduit le concept «Endophyte» pour définir ces diazotrophes associées avec les plantes non légumineuses, sans pour autant causer de dommage apparent chez la plante hôte. Ces bactéries sont communément nommées **PGPR**= *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* ou sont des bactéries de la rhizosphère bénéfiques à la croissance et à la santé des plantes.

Les **PGPR** colonisent les racines, et peuvent envahir les cellules par voie inter et / ou intracellulaire et peuvent pénétrer dans les tissus central via la sécrétion d'enzymes hydrolytiques de la paroi cellulaire (Les endoglucanase, cellulases et pectinases. Ces enzymes sont produites par de nombreuses bactéries endophytes tels que : *Azoarcus sp.* , *Azospirillum irakense* , et *Pseudomonas fluorescens*.

Nb : les endophytes bactériens pourraient être trouvés dans différentes parties végétatives de plantes, comme les racines, tubercules, mais aussi à l'intérieur des tiges et / ou feuilles.

III.2. Importance des bactéries endophytes associatives

Autre fois les bactéries endophytes ont été considérées comme bactéries pathogènes latents qui ne provoquent ni dommage ni apport bénéfique pour les plantes. Durant ces dernières années, de nombreux travaux ont démontré l'implication de ces endophytes dans l'amélioration de la croissance des plantes, la résistance aux agents pathogènes et de la production agricole.

III.2.1 Capacité métabolique des endophytes associatives

La technique GFP (Green Fluorescent Protein) a été utilisée aussi bien pour marquer la cellule bactérienne, que pour repérer l'expression des gènes *nif* et *fix* des bactéries endophytes abritées par les plante. Aussi, des expériences basées sur l'utilisation des gènes GUS (gène de la β -glucuronidase) ont révélé l'existence d'une haute expression ou activité de la nitrogénase (*nifH::gusA*) au niveau des sites d'émergence des racines latérales, et de la zone d'élongation des racines latérales.

III.2.2.Solubilisation des phosphates

Le phosphore joue un rôle essentiel dans le transfert de l'énergie nécessaire à la croissance et à l'amélioration de la productivité des plantes. C'est un élément indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes. Sa concentration dans les sols, varie de 200 à 5000 ppm soit 0,02 à 0,5%. L'enrichissement du sol en P, suite à des applications de fertilisants, dépend des caractéristiques physicochimiques de ce sol. Dans les sols acides, les oxydes libres et les hydroxydes d'aluminium et de fer fixent le phosphate, tandis que dans les sols alcalins, il est fixé par le calcium, ce qui rend le fertilisant peu efficace.

Dans les sols agricoles, la solubilisation des phosphates inorganiques est profondément liée à l'activité des micro-organismes du sol. Plusieurs rhizobactéries promotrices de la croissance telles que les Rhizobia, les *Pseudomonas* et les *Bacillus*, ont été décrites comme étant des bactéries solubilisatrices du phosphate (PSB) (Fig.28). L'apport bénéfique des espèces de *Bacillus*, *Escherichia*, *Arthrobacter* et *Pseudomonas*, aux cultures, est estimé de 30 à 35KgP₂O₂/ha.

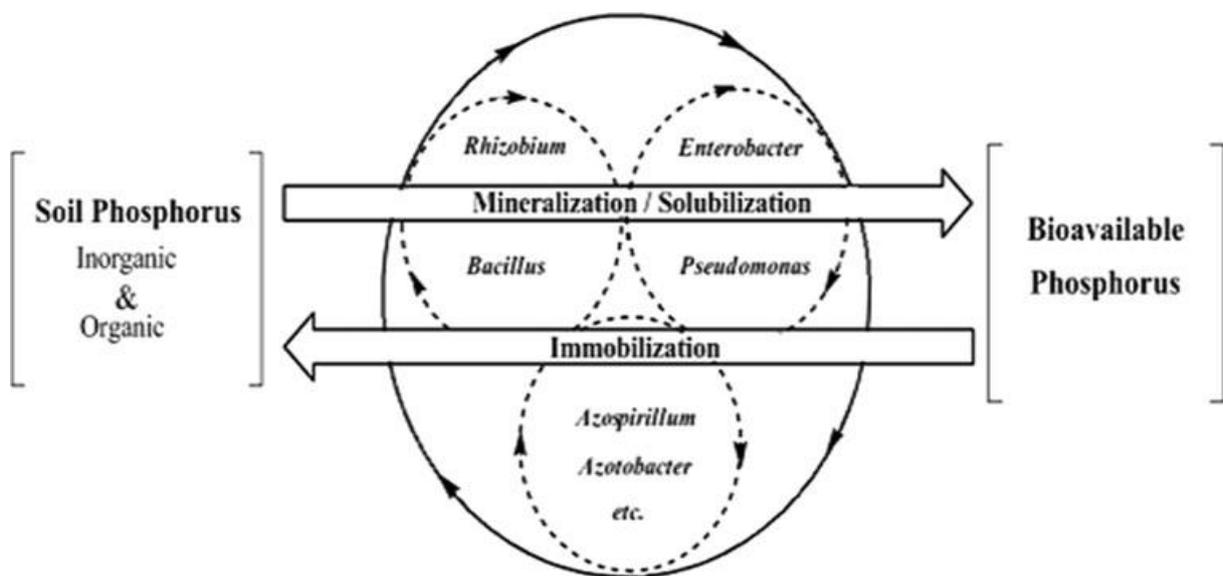


Figure 28. Représentation Schématique de la solubilisation du phosphore dans sol par les rhizobactéries

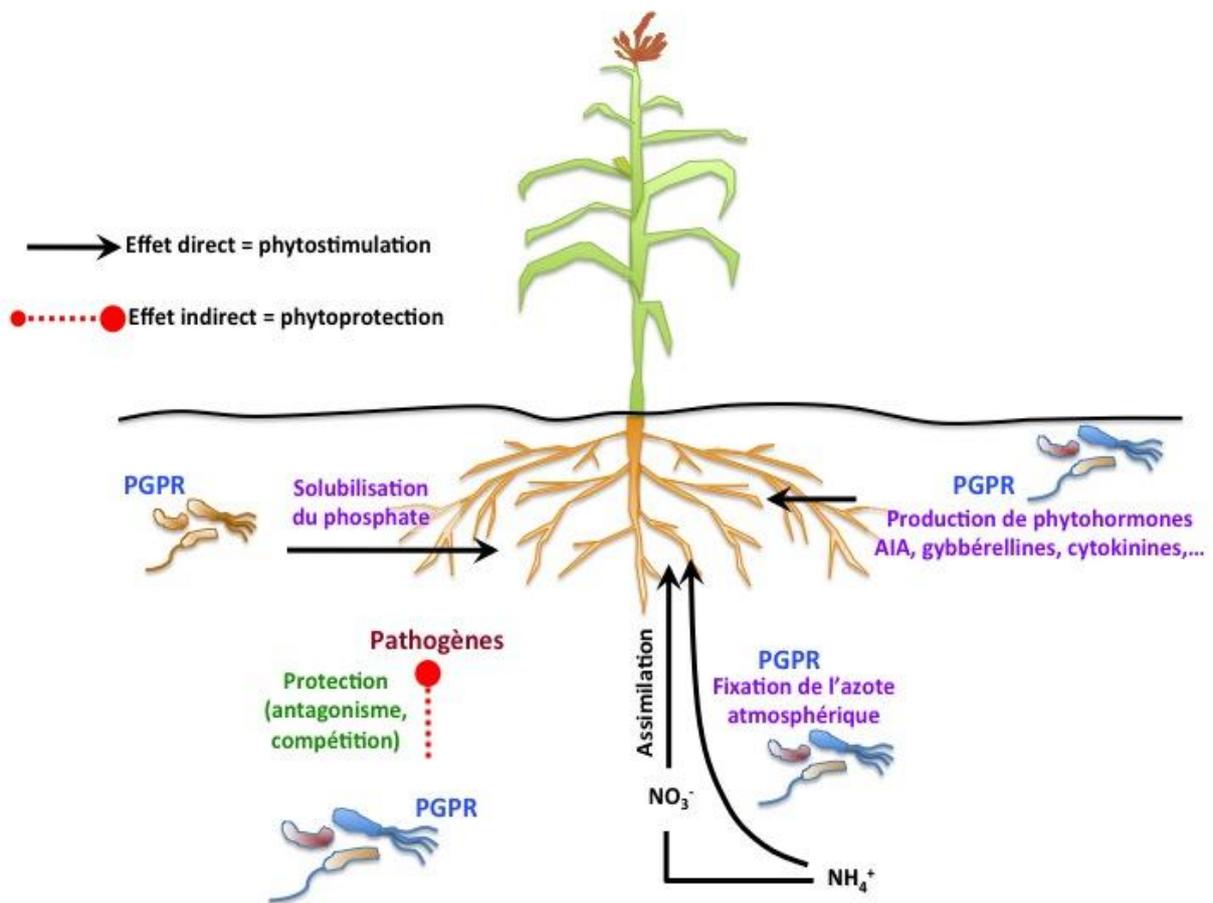


Figure 29. Schéma récapitulant les principales importances des bactéries endophytes associatives

III.2.3. Production des phytohormones par endophytes associatives

Les bactéries endophytes sont impliquées directement dans l'amélioration de la croissance et le développement des plantes par la production de diverses phytohormones (Fig. 29). En dehors de leur rôle dans la fixation biologique de l'azote.

Les espèces comme *Azospirillum* inoculées à diverses plantes, stimulent la production des auxines, des acides gibbérellines et des cytokinines.

Les espèces de *Gluconacetobacter diazotrophicus* ont aussi des effets positifs sur la production des phytohormones, activant ainsi le développement des racines initiales dont bénéficie toute la plante.

Nb : Ces endophytes induisent, non seulement, la production des phytohormones exogènes mais aussi, l'élévation du niveau d'hormone endogène chez les plantes céréalières.

III.2.4. Bio-protection des plantes par des bactéries endophytes associatives

Les bactéries endophytes ayant une association étroite avec la plante, constituent un choix intéressant comme agents de biocontrôle. Les endophytes représentent une source importante de composés actifs biologiquement, dont certains sont actifs contre les pathogènes des plantes. En plus de l'antagonisme direct contre les organismes pathogènes, ces bactéries bénéfiques peuvent induire une forme de résistance chez les plantes (Fig. 29). Cette induction est généralement due aux lipopolysaccharides (LPS) de la membrane externe des bactéries Gram négative, mais d'autres molécules comme les sidérophores et l'acide salicylique sont aussi des molécules candidates. Les bactéries endophytes peuvent être utilisées comme prétraitements des graines avant leurs cultures.

Exemple : Le traitement préalable des graines de concombre (*Cucumis sativus* L.) avec une bactérie endophyte, *Serratia phymuthica* a provoqué la suppression de l'effet du champignon, *Pythium ultimum* causateur des maladies symptomatiques chez ces plantules.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Bonfante, P., Genre, A. 2010. Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature Communications* 1: 48.

Caetano-Anolles, G., and Gresshoff, P.M. 1991. Plant genetic control of nodulation. *Annu Rev Microbiol* 45, 345-382.

Compant, S., Clement C, Sessitsch A. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol Biochem* 42, 669-678.

Chen, W.M., de Faria, S.M., Stralio, R., Pitard, R.M., Simões-Araújo, J.L., Chou, J.H., Chou, Y.J., Barrios, E., Prescott, A.R., Elliott, G.N., Sprent, J.I., Young, P.W., James, E.K. 2005. Proof that Burkholderia strains form effective symbioses with legumes: a study of novel mimosa-nodulating strains from south america. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 7461–7471.

Doyle, J.J. 1998. Phylogenetic perspectives on nodulation: evolving views of plants and symbiotic bacteria. *Trends Plant Sci* 3,473-478.

Dreyfus, B., Garcia, J.L., Gillis, M. 1988. Characterization of *Azorhizobium caulinodans* gen. nov., sp. nov., a stem nodulating nitrogen fixing bacterium isolated from *Sesbania rostrata*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 38, 89-98.

Fortas Z., 1990. Etude de trois espèces de terfez : caractères culturels et cytologie du mycélium isolé et associé à *Helianthemum guttatum*. Thèse de Doctorat d'état, Univ. d'Oran Es-sénia (Algérie), INRA de Clermont-Ferrand (France), 166 p.

Fortas Z., Chevalier G., 1992 b. Effet des conditions de culture sur la mycorrhization de l'*helianthemum guttatum* par trois espèces de terfez des genres *Terfezia* et *Tirmamia* d'Algérie. *Can. J. Bot.*, 70: 2453-2460.

Jaftha, J. B., Strijdom, B. W., and Steyn, P. L. 2002. Characterisation of pigmented Methylophilic bacteria which nodulate *Lotononis bainesii*. *Syst. Appl. Microbiol.* 25:440-449.

Graham, P.H, Vance, C.P. 2003. Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiology* 131, 872- 877.

Long, S.R. 1996. Rhizobium symbiosis: Nod factors in perspective. *Plant Cell* 8, 1885-1898.
Soltis, D.E., Soltis, P.S., Morgan, D.R., Swensen, S.M., Mullin, B.C., Dowd, J.M., and Martin, P.G. 1995. Chloroplast gene sequence data suggest a single origin of the predisposition for symbiotic nitrogen fixation in angiosperms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 2647-2651.

Moreira, F., Cruz, L., Miana de Faria, S., Marsh, T., Martínez-Romero, E., de Oliveira Pedrosa, F., Maria Pitard, R., Peter W Young, J. 2006. Azorhizobium doebereineriae sp. nov. microsymbiont of Sesbania virgata (Caz.) Pers. Systemtic and Applied Microbiology 29, 197-206.

Moulin, L., Béna, G., Boivin-Masson, C., Stepkowski, T. 2004. Phylogenetic analyses of symbiotic nodulation genes support vertical and lateral gene co-transfer within the Bradyrhizobium genus. Molecular Phylogenetics and Evolution 30, 720-732.

Oldroyd, G.E., and Downie, J.A. 2006. Nuclear calcium changes at the core of symbiosis signalling. Curr Opin Plant Biol 9,351-357.

Rivas, R., Velasquez, E., Willems, A., Vizcaino, N., Subba-Rao, N.S., Mateos, P.F., Gillis, M., Dazzo, F.B., Martinez-Molina, E. 2002. A new species of Devosia that forms a unique nitrogen-fixing root-nodule symbiosis with the aquatic legume Neptunia natans (L.f.) Druce. Applied and Environmental Microbiology 68, 5217-5222.

Selami, N., Auriac, M-C, Catrice., O, Capela, D, Kaid Harche., M., Timmers,T. 2014. Morphology and anatomy of root nodules of *Retama monosperma* (L.)Boiss. Journal of Plant Soil. 379:109-119.

Sy, A. 2001. Caractérisation de Methylobacterium nodulans : une nouvelle espèce bactérienne nodulant les crotalaires. Doctorat de l'Université Montpellier II. Formation doctorale: développement et adaptation des plantes. Ecole doctorale: Biologie intégrative.

Taylor, L.P., Grotewold, E. 2005. Flavonoids as developmental regulators. Current Opinion in Plant Biology 8, 317-323.

Timmers, A.C., Auriac, M.C., and Truchet, G. 1999. Refined analysis of early symbiotic steps of the Rhizobium-Medicago interaction in relationship with microtubular cytoskeleton rearrangements. Development 126, 3617-3628.

Trujillo, M.E., Willems, A., Abril, A., Planchuelo, A.M., Rivas, R., Luden, D., Mateos, P.F., Martinez-Molina, E., Velasquez, E. 2005. Nodulation of Lupinus albus by strains of Ochrobactrum lupini sp. nov. Applied and Environmental Microbiology 71, 1318-1327.

Valverde, A., Velázquez, E., Fernández-Santos, F., Vizcaíno, N., Rivas, R., Mateos, P.F, MartínezMolina, E., Igual, J.M., Willems, A. 2005. Phyllobacterium trifolii sp. nov., nodulating Trifolium and Lupinus in Spanish soils. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 55, 1985-1989.

Vasse, J., de Billy, F., Camut, S., Truchet, G. 1990. Correlation between ultrastructural differentiation of bacteroids and nitrogen fixation in alfalfa nodules. J Bacteriol 172: 4295-4306.

Young, N.D., Mudge, J., and Ellis, T.H. 2003. Legume genomes: more than peas in a pod. Curr Opin Plant Biol 6, 199-204.