

TD10 : les symbioses racinaires

Parmi les besoins nutritifs des plantes, les besoins en azote sont particulièrement critiques, expliquant le recours aux engrais chimiques dans les pratiques de culture intensive. Les inconvénients de cette pratique sur l'environnement justifient la recherche de solutions biologiques alternatives.

1- L'agriculture peut-elle utiliser moins d'engrais chimiques ?

Les végétaux puisent dans le sol les éléments minéraux indispensables à leur croissance (azote, potassium, phosphore, calcium...). Ces éléments doivent pouvoir être restitués pour que les sols conservent leur fertilité. Dans le système d'agriculture intensive que nous connaissons, l'apport d'éléments minéraux se fait surtout sous la forme d'engrais chimiques, parfois appliqués avec excès.

Or cette pratique est la source de nuisances pour la santé humaine et l'environnement :

- pollution des eaux de surface et des nappes phréatiques par lessivage des sols,
- forte consommation d'énergie et émission de gaz à effet de serre pour la production des engrais azotés (la production et l'épandage d'une tonne d'engrais azotés nécessitent deux tonnes de fuel).
- déséquilibre croissant de la structure et de la composition des sols.

Solutions pour que l'agriculture moderne évolue vers des pratiques dites « durables » :

- Réduction des intrants (engrais et consommation d'énergie)
- Recours à d'autres sources d'engrais (les engrais d'origine organique, la pratique de rotation de cultures faisant appel aux plantes « engrais verts »)
- Recours accru aux symbioses racinaires.

Deux types de symbiose (association à bénéfices réciproques entre deux espèces vivantes) peuvent se développer sur les racines des plantes, leur permettant de bien pousser sur des sols peu fertiles. (Fig.1)

1) la symbiose mycorhizienne avec des champignons du sol, chez la plupart des plantes cultivées. Les champignons mycorhiziens, par leur capacité à développer un mycélium très ramifié, permettent une meilleure exploitation du sol. Cette symbiose améliore la nutrition minérale (en particulier phosphatée), l'alimentation en eau, la qualité du sol, la résistance aux maladies.

2) la symbiose fixatrice d'azote avec des bactéries du sol, chez les légumineuses. Cette symbiose assure une bonne alimentation en azote même si le sol est très pauvre, par leur capacité à fixer l'azote atmosphérique.

2. Le cycle de l'azote

(Figs 2-4)

Il existe dans l'atmosphère terrestre un gigantesque réservoir d'azote moléculaire N_2 (80% de l'atmosphère). Cependant, la molécule d'azote N_2 est très stable et aucun organisme supérieur n'est capable de réduire cet azote moléculaire en ammoniac pour le rendre assimilable. L'entrée de l'azote dans le cycle se fait donc grâce à des bactéries fixatrices d'azote sans lesquelles la vie n'aurait pas pu se développer sur terre. L'azote est utilisé par les organismes vivants pour produire des molécules organiques complexes (acides aminés, protéines, acide nucléiques). Les autres sources majeures d'azote proviennent de la décomposition de la matière organique (sols, océans). Malgré son abondance, l'azote est un facteur nutritif limitant pour la croissance des plantes. Celles-ci ne peuvent utiliser l'azote que sous deux formes : NH_4^+ et surtout NO_3^- .

2.1 La fixation (naturelle) de l'azote

C'est-à-dire la transformation de N_2 en azote assimilable par les plantes) se fait par trois processus naturels différents :

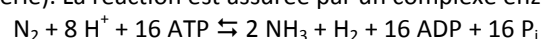
- les orages. Au voisinage des éclairs, les hautes T° et pressions engendrées permettent la formation d'oxydes d'azote qui retombent au sol avec la pluie - les bactéries « libres » du sol (ex azotobacter, certaines cyanobactéries, certains clostridium, ...) fixatrices d'azote, qui transforment N_2 en NH_3 . Ce dernier est rapidement converti en nitrates par des bactéries.

- Les associations symbiotiques entre bactéries fixatrices d'azote et plantes permettant un couplage entre photosynthèse et fixation. Ce sont les systèmes les plus efficaces. On peut citer trois exemples de symbioses fixatrices importantes :

Ex 1 : L'association entre fougères aquatiques du genre Azolla et cyanobactéries (Anabaena) est très utilisée pour la fertilisation des rizières en Asie du Sud.

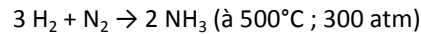
Ex 2 : Plantes ligneuses à actinorhizes formant des nodosités avec des bactéries filamenteuses (ex : Frankia-casuarina) qui jouent un rôle dans la colonisation de sols pauvres ou dégradés.

Ex 3 : L'association la plus importante d'un point de vue écologique et agronomique est la symbiose Rhizobium-légumineuses, responsable d'une production d'ammoniac supérieure à la production industrielle. (La réduction de N_2 en ammoniac est coûteuse en énergie. Il faut environ 16 molécules d'ATP pour réduire une molécule d'azote (c'est la plante qui fournit, sous forme de nourriture, l'énergie à la bactérie). La réaction est assurée par un complexe enzymatique appelé nitrogénase.



2.2 La fixation industrielle de l'azote.

Depuis quelques décennies, l'industrie chimique produit également de l'ammoniac à partir N_2 de l'air par la réaction de Haber-Bosch :



L'ammoniac produit peut être utilisé directement ou converti en nitrates. Il faut l'équivalent de 2 tonnes de pétrole pour produire une tonne d'engrais azoté. On produit environ 40 millions de tonnes d'ammoniac par an. C'est environ 1/5 de ce qui est produit par les bactéries fixatrices d'azote sur toute la planète.

L'azote se déplace sans cesse entre sa forme minérale et sa forme organique : (Fig. 5)

1 - La famille des Légumineuses

Elle constitue la famille de plantes à graine la plus répandue sur la planète. L'une des raisons de cette importance ? Leur capacité à fixer l'azote nécessaire à leur croissance grâce à une symbiose avec les rhizobiums, bactéries qui induisent des nodules sur leurs tiges ou racines.

- Une famille nombreuse : plus de 15 000 espèces.
- Une grande diversité morphologique : plantes herbacées, arbustes, arbres de grande taille.
- Une grande diversité écologique : régions circumboréales, tempérées, arides, intertropicales.
- Un rôle essentiel comme source de protéines : soja, arachide, pois, haricot, luzerne, trèfle,

2 - Les Rhizobium

Il y a une grande diversité phylogénétique des Rhizobium. Ils ne forment pas un phylum unique. Un arbre phylogénétique des rhizobium fondé sur l'analyse des séquences d'un marqueur moléculaire très employé, l'ARN ribosomique 16S, permet de voir que les divers Rhizobium sont mélangés avec des bactéries non-symbiotiques.

3 - La symbiose

Les associations Rhizobium-Légumineuses sont spécifiques et un Rhizobium donné ne peut former des nodosités fixatrices que sur certaines Légumineuses-hôtes. Une caractéristique de tous les rhizobiums, par définition, c'est qu'ils sont capables d'induire une organogenèse végétale, la formation des nodosités. Les nodosités ne sont pas de simples tumeurs. Ce sont des organes différenciés. Les Rhizobium sont donc capables d'induire un programme complexe d'organogenèse chez des plantes.

(1) Ces nodosités sont de véritables organes spécialisés, avec des traces vasculaires qui permettent des échanges métaboliques efficaces entre la nodosité fixatrice et les parties aériennes de la plante siège de la photosynthèse.

(2) Les bactéries sont intracellulaires ce qui favorise les échanges métaboliques avec l'hôte. Les nodosités constituent une niche protectrice dans laquelle les rhizobium sont à l'abri de la compétition avec d'autres microorganismes de la rhizosphère. Ces nodosités produisent davantage d'ammoniac chaque année que l'ensemble de l'industrie chimique des engrais azotés. Il est donc important de comprendre les mécanismes génétiques et moléculaires responsables de la formation de ces nodosités.

- Un dialogue moléculaire entre partenaires symbiotiques : gènes et signaux

Pour cimenter une bonne relation, rien ne vaut une bonne dose de communication ! Au cours des dix dernières années, les recherches ont révélé l'existence d'un dialogue moléculaire entre les partenaires de la symbiose Rhizobium-légumineuses.

Les étapes de la nodulation

Cette reconnaissance est effectuée par l'intermédiaire de signaux chimiques. Des composés émis par la racine de la plante (flavonoïdes) vont exercer une attraction de la bactérie rhizobium et induire les gènes nod, contrôlant la synthèse des facteurs Nod. Ces facteurs Nod sont des lipo-chito-oligosaccharides diffusibles. Produits par la bactérie, ils sont responsables de la spécificité de la reconnaissance entre les symbiotes et du déclenchement de l'organogenèse nodulaire. Ils exercent une action hormonale sur la racine et provoquent l'incurvation de l'extrémité des poils absorbants, ainsi que la formation de pré-nodules par stimulation de la mitose des cellules corticales. (Figs.7-8)

4 - Les gènes nod de Rhizobium

L'analyse génétique de diverses espèces de Rhizobium a permis d'identifier des gènes nod contrôlant la reconnaissance spécifique, l'infection et la nodulation. Une certaine unité (malgré la diversité phylogénétique) : tous les rhizobium possèdent des gènes nod communs, nodABC qui jouent un rôle absolument essentiel dans l'établissement de la symbiose. Une mutation dans l'un de ces gènes rend la bactérie incapable d'établir une relation symbiotique. Il existe chez les divers rhizobium des combinaisons variées de gènes nod spécifiques qui

contrôlent la spécificité d'hôte. L'étude de l'expression de ces gènes a permis de distinguer des gènes régulateurs qui modulent l'expression des gènes structuraux.

Les gènes nodD codent pour des protéines régulatrices qui en présence de signaux de la plante sécrétés dans la rhizosphère activent la transcription des gènes nod structuraux. Les protéines NodD jouent donc le rôle de récepteurs de signaux symbiotiques de la plante. Il s'agit d'un premier niveau de contrôle de la spécificité d'hôte. La protéine NodD nécessite pour être activée un certain type de signaux de la plante.

Les gènes nod déterminent la synthèse et la structure de facteurs Nod (Fig.9, Fig. 11). Les facteurs Nod sont des oligomères de chitine substitués qui jouent un rôle essentiel dans la reconnaissance spécifique de la plante-hôte, dans l'infection symbiotique et dans l'induction du programme de formation des nodosités de la plante. Les gènes nodABC, présents chez tous les Rhizobium sont responsables de la synthèse du squelette des facteurs Nod: un oligomère de chitine acylé par une chaîne d'acides gras (en

rouge sur la figure 9). Les gènes nod spécifiques déterminent les substitutions qui sont essentielles pour la reconnaissance de l'hôte. Par exemple chez le Rhizobium de la luzerne les gènes nodH, nodL et nodFE contrôlent le transfert des trois substitutions.

Importance des substitutions pour l'activité des facteurs Nod

Les substitutions des facteurs Nod jouent un rôle dans la spécificité d'hôte. Les Rhizobium ont adopté différentes stratégies pour "décorer" les facteurs Nod. Par exemple, les Rhizobium de soja, comme beaucoup de Rhizobium tropicaux produisent des Facteurs Nod substitués en C6 sur le GlcNAc à l'extrémité réductrice, par un groupe fucosyl. Les rhizobium de pois produisent eux des facteurs Nod qui ne sont pas fucosylés. Si on introduit chez le rhizobium de pois le gène nodZ responsable de la fucosylation, cette bactérie devient capable de noduler le soja.

Les facteurs Nod sont actifs à des concentrations picomolaires ce qui suggère qu'ils sont perçus par des récepteurs spécifiques à haute affinité (toujours pas identifiés à ce jour).

3- Conclusion

Les facteurs Nod présentent une très forte activité biologique. Ils induisent à des concentrations très faibles (nano à picomolaires) :

- une ré-organisation du cytosquelette,
- la transcription de gènes symbiotiques (les nodulines)
- des divisions cellulaires dans le cortex interne de la racine, et de la formation d'un primordium de nodules

La fonction de ces signaux bactériens est donc d'induire le programme symbiotique de la plante.

Perspectives : Objectifs de la recherche sur ce type de symbiose : identifier ce programme.

Plante modèle : *Medicago truncatula* (luzerne annuelle)

L'état des connaissances actuelles suggère l'existence d'étapes communes dans la cascade de transduction des signaux de nodulation des rhizobium et des signaux myc des champignons mycorhiziens. L'hypothèse serait que le programme génétique végétal de nodulation dériverait d'un programme plus ancien de symbiose avec les champignons mycorhiziens.

Les techniques de génomique fonctionnelle appliquées à la plante modèle devraient permettre l'identification des gènes de plante qui sont importants pour l'établissement de la symbiose.