

Université de M'sila
Faculté des Sciences
Département de Biochimie et Microbiologie
1^{ière} année Master Microbiologie
Module d' Interaction Microbienne
Responsable du module
Boubekeur.H

Chapitre III

Les interactions entre les microorganismes du sol et la plante

Généralités

Les microorganismes satisfont leurs besoins énergétiques par la dégradation de produits carbonés provenant de la photosynthèse. La végétation exerce donc une influence importante sur le développement et l'activité des populations microbiennes et elle bénéficie à son tour des substances excrétées par les microorganismes. Il s'établit donc entre les plantes et les microorganismes un ensemble d'interactions assez complexe. Dans les conditions naturelles, l'alimentation des végétaux ne dépend pas uniquement des possibilités d'absorption par les racines. Il faut encore que ces dernières trouvent à leur disposition une quantité suffisante d'éléments minéraux et d'eau pour assurer les besoins de la plante.

Les transformations réalisées par les microorganismes dans le sol sont extrêmement nombreuses, particulièrement dans les sols cultivés, les biologistes pensent que le niveau de la biomasse microbienne et son activité représentent des composantes majeures de la notion de fertilité.

1. Le site des interactions biologiques : La rhizosphère

La rhizosphère est définie comme un ensemble de microsites d'interactions fréquemment mutualistes entre les racines vivantes et les microorganismes (microflore et microfaune). Ils se situent dans la racine (endorhizosphère) à l'interface racine-sol (rhizoplan) et dans le volume de sol proche de la racine (exorhizosphère).

La racine durant sa croissance, libère dans le sol des composés organiques relativement diversifiés par leur nature et leurs propriétés physico-chimiques. La variété de ces composés est expliquée par la diversité de leurs origines et des sites de la racine où ils sont produits.

Différentes zones de production de matériel peuvent être distinguées :

- La coiffe racinaire : le siège de la production de mucilages composés de sécrétions polysaccharidiques, ce matériel est initialement peu colonisé par les microorganismes.
- La zone d'élongation racinaire : secrète du mucilage fortement colonisée par des bactéries ;
- Le passage vers la zone des poils absorbants est accompagné d'une production de sucres et d'acides aminés (d'où une forte colonisation bactérienne).
- Le matériel organique exsudé et exfolié est essentiellement constitué de sucres simples, de polysaccharides, d'acides aminés, de protéines, d'acides organiques, d'enzymes, d'hormones et d'autres composés capables de stimuler, d'attirer ou d'inhiber la microflore et la microfaune.

2. Les microorganismes de la rhizosphère

La libération de substrats par la racine est à l'origine d'une différenciation quantitative et qualitative de la population microbienne du sol.

L'examen microscopique ou les techniques de comptage ont montré que de l'ordre de 10%, de la surface des racines actives était occupé par les colonies bactériennes et de l'ordre de 4% par des champignons.

Les bactéries se situent préférentiellement à la jonction des cellules épidermiques ; ceci pourrait indiquer que ces sites constituent des passages privilégiés des exsudats.

Le succès de la colonisation est donc fonction des mécanismes d'adhésion de la bactérie sur la paroi racinaire et de l'affinité du substrat. Les racines vivantes fournissent donc à leur environnement des substances en quantités non négligeables constituées essentiellement de composés énergétiques facilement assimilables stimulant l'activité de la microflore rhizosphérique.

Au cours de sa croissance, la surface externe de l'épiderme de la jeune racine se recouvre par une couche de mucilage qui est constituée en majeure partie de polysaccharides avec lipides et peptides, milieu particulièrement favorable au développement des populations des microorganismes. Certaines bactéries du sol (le rhizobium) sont capables de s'associer avec des plantes appartenant à la famille des légumineuses, cette association ou symbiose se traduit par la formation, sur le

système racinaire des plantes hôtes, de nodosités qui sont des structures nouvelles à l'intérieur desquelles l'azote moléculaire est réduit en ammonium

3. Micro-organismes formant des nodules racinaires

3. 1. Symbiose positive

En plus des micro-organismes se développant sur la surface d'une plante, de nombreux microorganismes intéressants et importants se développent à l'intérieur des plantes. Ces associations sont dépendants des signaux chimiques complexes, ce qui indique que ces relations sont très anciennes. Il est important de souligner que les mécanismes par lesquels un grand nombre de ces interactions plantes-microorganismes se produisent sont également présents dans les interactions micro-plantes .

Un mutualisme plante-bactérie d'une grande importance pour l'homme est celui des légumineuses/ bactéries fixatrices d'azote. Les partenaires de la symbiose sont appelés symbiotes. Les bactéries symbiotiques fixatrices d'azote jouent un rôle encore plus important dans la croissance des plantes pour la production agricole, peuvent se développer librement dans le sol ou infecter les plantes portant un nom générique « Rhizobia » et appartiennent à plusieurs genres. Les genres Rhizobium, Bradyrhizobium, et d'autres infectent les racines de légumineuses telles que : le soja, les haricots, les pois, les arachides, la luzerne, le trèfle..... (Dont la plupart sont des plantes buissonnantes ou de petits arbres trouvés dans des sols pauvres dans de nombreuses parties du monde).

Les Rhizobiums sont spécialement adaptés pour certaines espèces de légumineuses, sur lequel ils forment des nodules racinaires. L'azote est ensuite fixé par un procédé symbiotique de la plante et des bactéries. La plante fournit des conditions anaérobies et des nutriments de croissance pour les bactéries, les bactéries fixent l'azote qui peut être incorporé dans des protéines végétales. Rhizobium infecte et nodule spécifiquement les légumineuses. La bactérie possède un grand plasmide qui est vital pour l'infection et la nodulation de la plante hôte. Le processus d'infection par Rhizobium est contrôlé par le gène bacA qui est nécessaire pour établir le nodule. Le développement symbiotique des légumineuses est contrôlé par une protéine régulatrice de la plante qui différencie les cellules corticales profondes et redémarre

la division cellulaire pour établir des nodules dits primaires dans la racine envahie. Ces nodules primaires sont envahis par *Rhizobium* utilisant des canaux d'infection créés par la plante hôte. La mise en place des nodules implique un autre gène végétal appelé *nin*

3. 1.1. Régulation de l'oxygène dans les nodules :

En l'absence de son symbiote bactérien, une légumineuse ne peut pas fixer N_2 . Par contre *Rhizobium*, peut fixer le N_2 lorsqu'il est cultivé en culture pure dans des conditions de microaérophilie (un environnement pauvre en oxygène est nécessaire parce que les nitrogénases sont inactivées par une forte concentrations de O_2). Dans le nodule les niveaux d' O_2 sont contrôlés par la protéine leghémoglobine. La production de cette protéine contenant du fer est induite par l'interaction de la plante et les partenaires bactériens. La leghémoglobine fonctionne comme un " tampon d'oxygène " entre la forme oxydée (Fe^{3+}) et la forme réduite (Fe^{2+}) de fer non lié pour garder un niveau bas d' O_2 dans le nodule. Il y a une spécificité marquée entre les espèces de légumineuses et les rhizobiums qui peuvent établir une symbiose. Une espèce de rhizobium particulière est capable d'infecter certaines espèces de légumineuses, mais pas les autres. Si les légumineuses sont inoculées avec la souche spécifique de rhizobium, ceci implique une abondance en leghémoglobine, alors des nodules fixateurs d'azote se développent sur les racines

3. 1.2. Étapes de Formation des nodules

- a.** Une reconnaissance du partenaire correct à la fois par la plante et par la bactérie et l'attachement de la bactérie aux poils de la racine.
- b.** La sécrétion de molécules de signalisation d'oligosaccharides (facteurs nod) par la bactérie.
- c.** L'invasion bactérienne des poils de la racine.
- d.** Mouvement des bactéries à la racine principale par l'intermédiaire du canal d'infection.
- e.** Formation de cellules bactériennes modifiées (bactéroïdes) dans les cellules et le développement de l'état de fixation d'azote par les plantes.

f. La division cellulaire bactérienne et celle de la plante continue et on observe la formation du nodule mature.

Un autre mécanisme de formation de nodules qui ne nécessite pas de facteurs nod est utilisé par certaines espèces de rhizobia phototrophes. Ce mécanisme n'a pas encore été élucidé, mais semble nécessiter la production bactérienne de cytokinines. Les cytokinines sont des hormones végétales, des dérivés d'adénine ou phénylurée, nécessaires pour la croissance et la différenciation cellulaires

3. 1.3. L'attachement et l'infection

Les racines des légumineuses sécrètent des composés organiques qui stimulent la croissance d'une communauté microbienne diversifiée de la rhizosphère. Si les rhizobiums inoculés sont spécifiques, ils forment de grandes populations et finalement s'attachent aux poils de la racine. Une protéine d'adhésion appelée **rhicadhésine** est présente sur les surfaces des cellules de rhizobium. D'autres substances, telles que les **lectines** et des récepteurs spécifiques dans la membrane cytoplasmique des plantes, jouent également un rôle dans l'attachement plante - bactérie. Après l'attachement, une cellule rhizobienne pénètre dans les poils de la racine qui se courbe en réponse à des substances excrétées par la bactérie. La bactérie provoque ensuite la formation par la plante d'un tube cellulosique, appelé canal d'infection, qui s'étend vers le bas des poils de la racine. Les cellules adjacentes sont ensuite infectées par les rhizobiums, et des cellules végétales se divisent. La division cellulaire de la plante continue constitue le nodule

3. 1.4. Formation de nodules :

gènes nod, protéines Nod , et les facteurs nod. Les gènes de rhizobium qui gouvernent la nodulation sont appelés gènes nod , et sont situés soit sur des plasmides soit sur l'ADN chromosomique. Chez *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* nodulant le pois, dix gènes nod ont été identifiés. Les gènes nodABC codent pour des protéines qui produisent des oligosaccharides appelés facteurs nod. Ces facteurs nod sont des molécules de Nacétyl-glucosamine substitués par des radicaux qui déterminent l'espèce avec laquelle le microorganisme interagit. Ces facteurs induisent le déclenchement de la division cellulaire dans les poils de la racine, pour aboutir finalement à la formation du nodule. Outre les gènes nodABC, nodD est un gène qui

code pour la protéine régulatrice NodD, qui contrôle la transcription et est donc une protéine de régulation positive. Comme il existe aussi d'autres flavonoïdes dont la structure est étroitement liée aux produits du gène nodD, et qui inhibent la nodulation (régulation négative). Ce qui explique la spécificité observée entre la plante et la bactérie dans les symbioses Rhizobium – légumineuses

3. 1.5. Bactéroïdes et les nodules racinaires

Le rhizobium se multiplie rapidement dans les cellules végétales et se transforme en cellules gonflées, difformes, et ramifiées appelées bactéroïdes. Une microcolonie de bactéroïdes est alors entourée par des portions de la membrane cytoplasmique de la plante pour former une structure appelée le symbiosome, et c'est seulement après la formation du symbiosome que la fixation de N₂ commence.

La fixation de l'N₂ nécessite la nitrogénase. La nitrogénase des bactéroïdes présente les mêmes propriétés biochimiques que l'enzyme des bactéries fixatrices d'N₂ vivant en liberté, y compris la sensibilité à l'O₂ et la capacité de réduire l'acétylène ainsi que N₂. Les bactéroïdes dépendent de la plante pour le donneur d'électrons pour la fixation de l'N₂. Les principaux composés organiques transportés à travers la membrane du symbiosome et dans les bactéroïdes sont les intermédiaires du cycle de l'acide citrique, en particulier les acides organiques en C₄ succinate, malate, et fumarate.

Ces intermédiaires sont utilisés comme donneurs d'électrons pour la production d'ATP, convertis en pyruvate, ce dernier est alors utilisé comme source d'électrons pour la réduction de l'N₂. Le produit de la fixation de l'N₂ est l'ammoniaque (NH₃), et la plante assimile la majeure partie de cette NH₃ par formation de composés d'azote organiques. La glutamine synthétase, enzyme d'assimilation du NH₃ est présente en grande quantité dans le cytoplasme de la cellule végétale et peut convertir le glutamate et NH₃ en glutamine. Ceci est un exemple de transport de composés d'azote organique par les bactéries fixatrices d'azote dans la plante.

Lorsque la plante meurt, le nodule se détériore, libérant les bactéroïdes dans le sol. Bien que les bactéroïdes soient incapables de division, un petit nombre de cellules de rhizobium dormants sont toujours présents dans le nodule. Ces cellules prolifèrent, en utilisant certains des produits de la dégradation du nodule comme nutriments. Les

bactéries peuvent ensuite déclencher l'infection de la prochaine saison de croissance ou de maintenir une existence libre dans le sol

3. 1.6. Autre exemple de nodules :

Rhizobiums formant des nodules sur les tiges Bien que la plupart des légumineuses forment des nodules fixateurs d' N_2 - sur leurs racines, quelques espèces de légumineuses portent des nodules sur leurs tiges. Ce type de légumineuses est très répandues dans les régions tropicales où les sols ont souvent une carence en azote par lixiviation et l'activité biologique intense. Le système le mieux étudié est celui de *Sesbania* une légumineuse aquatique tropicale, qui est infectée par *Azorhizobium caulinodans*. Les nodules se forment généralement sur la partie immergée de la tige ou juste au-dessus du niveau de l'eau, avec une formation qui ressemble à celle des nodules racinaires : attachement, formation d'un canal d'infection, et la formation des bactéroïdes