

## **2. Microflore du sol, rhizosphère et symbiose racinaire,**

### **2.1. La microflore du sol**

La microflore du sol est constituée par l'ensemble des communautés de Bactéries d'Actinomycètes de Champignons et d'Algues. Certains auteurs incluent également dans la microflore du sol les Protozoaires et les Virus. La microflore du sol renferme un pourcentage souvent très élevé d'organismes auxotrophes - c'est-à-dire d'organismes à exigences nutritives complexes - en ce qui concerne notamment la présence de facteurs de croissance.

La microflore des sols présente une très grande variété qui permet de trouver des microorganismes dans des milieux eux aussi variés. Plusieurs facteurs physiques, chimiques et biologiques ont une action sur le développement et l'activité des microorganismes. Quatre sont particulièrement importants : la teneur en eau, l'aération, la température et le pH.

### **2.2. Rhizosphère**

Le terme rhizosphère (éthymologiquement rhiza=racine, sphair= ce qui entoure) a été proposé la première fois en 1904 par Hiltner pour décrire la zone qui entoure la racine et qui est directement ou indirectement influencée par la racine. La rhizosphère peut être qualifiée de la moitié cachée du système racinaire qui est lui-même cryptique. Au sein de la rhizosphère on distingue la rhizoplan, qui correspond à l'interface sol/racine, et le sol adhérent au système racinaire, qui est le sol restant attaché aux racines après agitation vigoureuse.

### **3.3. Symbiose**

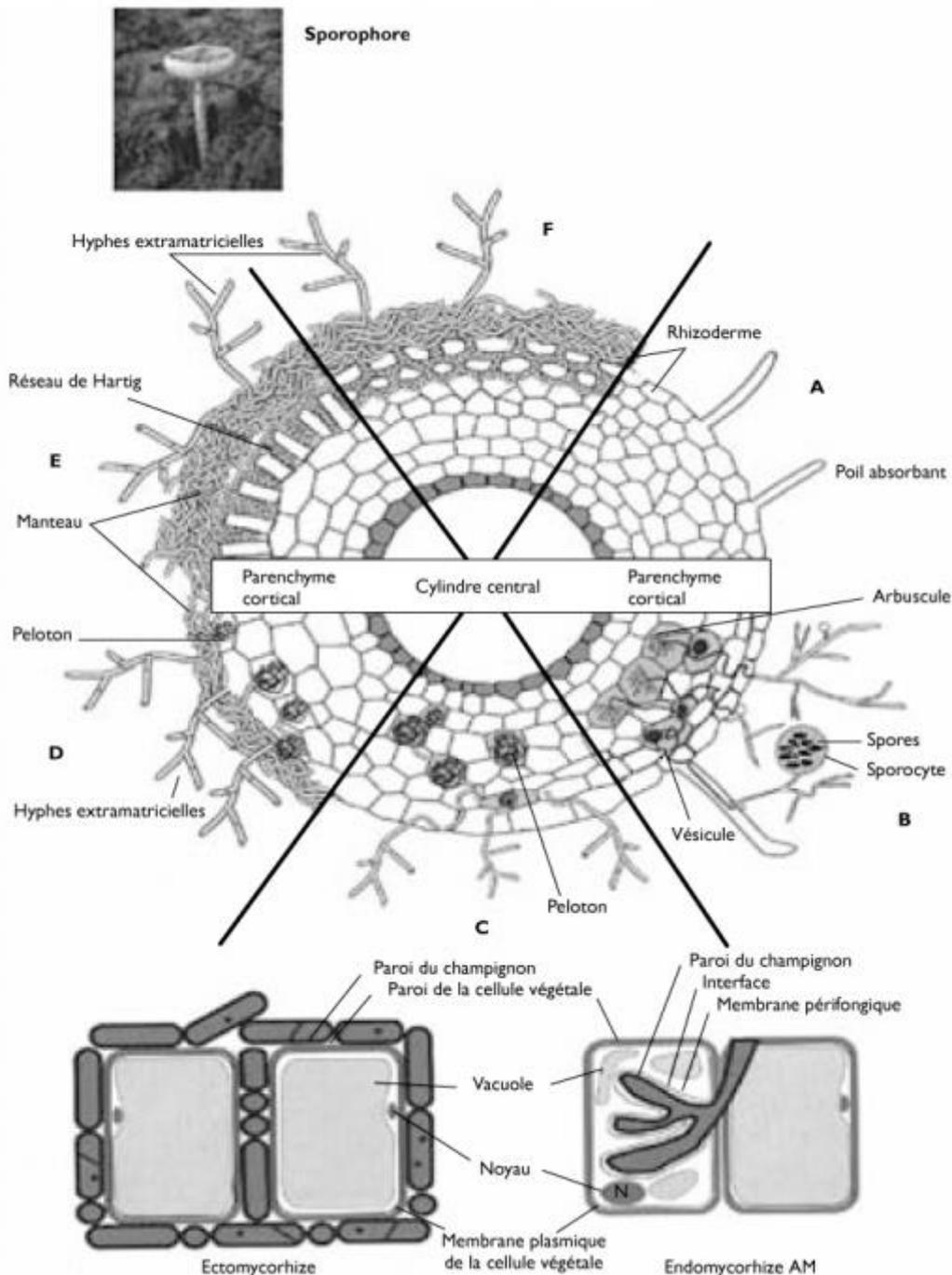
Symbiose est un terme signifiant « vivre ensemble » il décrit une relation écologique entre deux organismes d'espèces différentes qui sont en contact direct l'un avec l'autre. Chacun des organismes est appelé symbionte ou symbiote. Il s'agit d'une association intime (c'est-à-dire avec pénétration des tissus de l'un des deux organismes dans ceux de l'autre, ou à l'intérieur même des cellules, durable (c'est-à-dire jusqu'à ce que l'un des deux organismes meure), et mutualiste (c'est-à-dire à bénéfice réciproque par l'échange de ressources complémentaires).

### a. Symbiose mycorrhizienne.

Le symbiote fongique s'associe de diverses manières avec les racines de la plante-hôte, ce qui conduit à la réalisation de structures mycorrhiziennes différentes qui ont été décrites comme des **ectomycorhizes**, des **endomycorhizes** et des **ectendomycorhizes**.

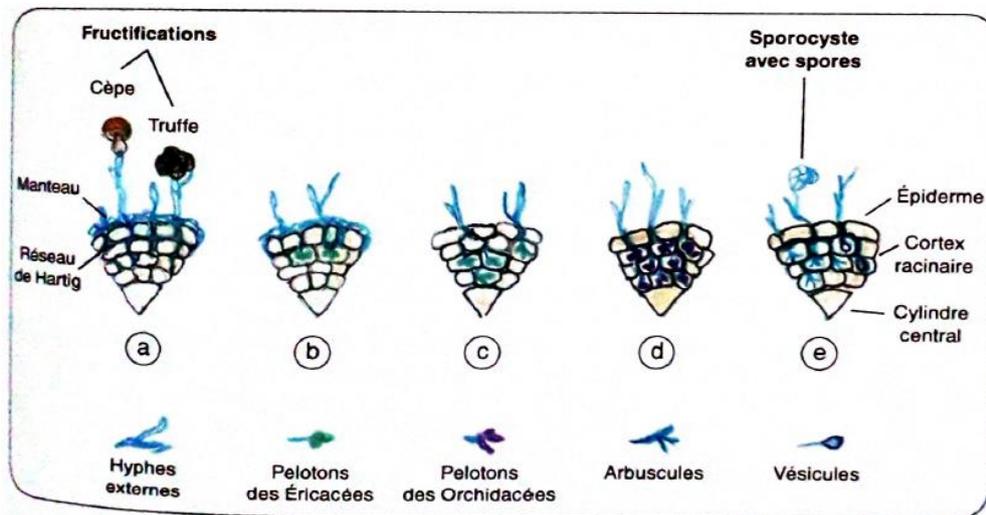
#### LES DIVERS TYPES DE MYCORHIZES ET LEUR ORGANISATION

Quel que soit le type mycorrhizien, le champignon reste confiné dans le cortex racinaire et ne franchit jamais la barrière endodermique.



**Figure1.** Schéma d'une coupe transversale montrant les principaux types d'associations symbiotiques entre des champignons du sol et des racines de végétaux ; (A) racine sans mycorhize, (B)

endomycorhizes à vésicules et à arbuscules, (C) endomycorhizes à pelotons, (D) ectendomycorhizes, (E) ectomycorhizes chez les angiospermes, (F) ectomycorhizes chez les Gymnospermes. (DUHOUX et NICOLE, 2004)



**Figure 2** Différents types de mycorhizes. a) Ectomycorhizes. b) Ectendomycorhizes. c) Endomycorhizes à pelotons des Ericacées. d) Endomycorhizes à pelotons des Orchidacées. e) Endomycorhizes à arbuscules (AM).

### Les ectomycorhizes

Elles sont ainsi nommées parce que le champignon ne pénètre pas dans les cellules de l'hôte. Leur structure est complexe et comprend plusieurs zones.

Le champignon forme un manchon dense autour de la racine, c'est le **manteau**. Puis les hyphes du champignon s'insinuent entre les cellules du cortex racinaire et édifient une sorte de réseau entre les cellules, c'est le **réseau de Hartig**. Ce réseau peut, suivant les partenaires en présence, être très développé et s'étendre jusqu'au cylindre central, ou au contraire rester limité aux premières assises cellulaires. En général, la racine qui héberge le champignon est profondément transformée. Son allongement est réduit et elle présente la morphologie d'une racine courte. Dans beaucoup de mycorhizes, les cellules corticales superficielles modifient leur morphogenèse et s'allongent dans le sens radial en prenant une disposition caractéristique en "arêtes de poisson".

Ces mycorhizes sont essentiellement formées par des Ascomycètes ou des Basidiomycètes et sont surtout observées chez les végétaux ligneux. La plupart des arbres de nos forêts, aussi bien feuillus que conifères, sont ectomycorhizés. Les ectomycorhizes se rencontrent aussi sur le système racinaire de nombreuses espèces d'arbres tropicaux.

Dans la plupart des ectomycorhizes, les cellules corticales de l'hôte dégénèrent rapidement ou se transforment en cellules à tanins alors que le réseau de Hartig contient encore des hyphes vivantes.

### Les endomycorhizes

Elles sont ainsi nommées parce que le champignon pénètre dans les cellules de l'hôte. Dans ces cellules, il différencie une structure dont la morphologie permet de distinguer plusieurs types d'endomycorhizes : mycorhizes à vésicules et arbuscules ou mycorhizes vésiculo-arbusculaires (mycorhizes VA, VAM,...), mycorhizes à pelotons.

#### • Les mycorhizes à vésicules et arbuscules

C'est le type mycorhizien le plus largement répandu. Les plantes endomycorhizées peuvent être des végétaux herbacés (par exemple la plupart de nos plantes cultivées : tabac, tomate, blé, maïs,...) ou ligneux (Erables, Merisier, Frênes, If,...). Ces mycorhizes se trouvent aussi chez des Ptéridophytes y compris leurs prothalles (Lycopode) ou même chez certaines Hépatiques. Dans ce cas, comme le

végétal n'a pas de vraies racines et que la structure symbiotique est formée à l'intérieur du thalle, on parle de **mycothalle**.

Bien que très répandues, ces mycorhizes sont formées par des champignons appartenant à la seule famille des Endogonacées. Les représentants de cette famille ont des hyphes qui ne possèdent pas de cloisons et nous mentionnerons particulièrement les genres *Glomus*, *Gigaspora*, *Acaulospora*.

L'organisation de la mycorhize est bien différente de celle d'une ectomycorhize. Le champignon ne forme pas de manchon équivalent d'un manteau et des hyphes isolées pénètrent dans la racine en s'insinuant entre les cellules corticales. Ces hyphes intercellulaires progressent au niveau de la lamelle moyenne et, surtout, dans les méats où la résistance est moindre. Elles édifient un réseau lâche d'hyphes qui est bien moins structuré qu'un réseau de Hartig.

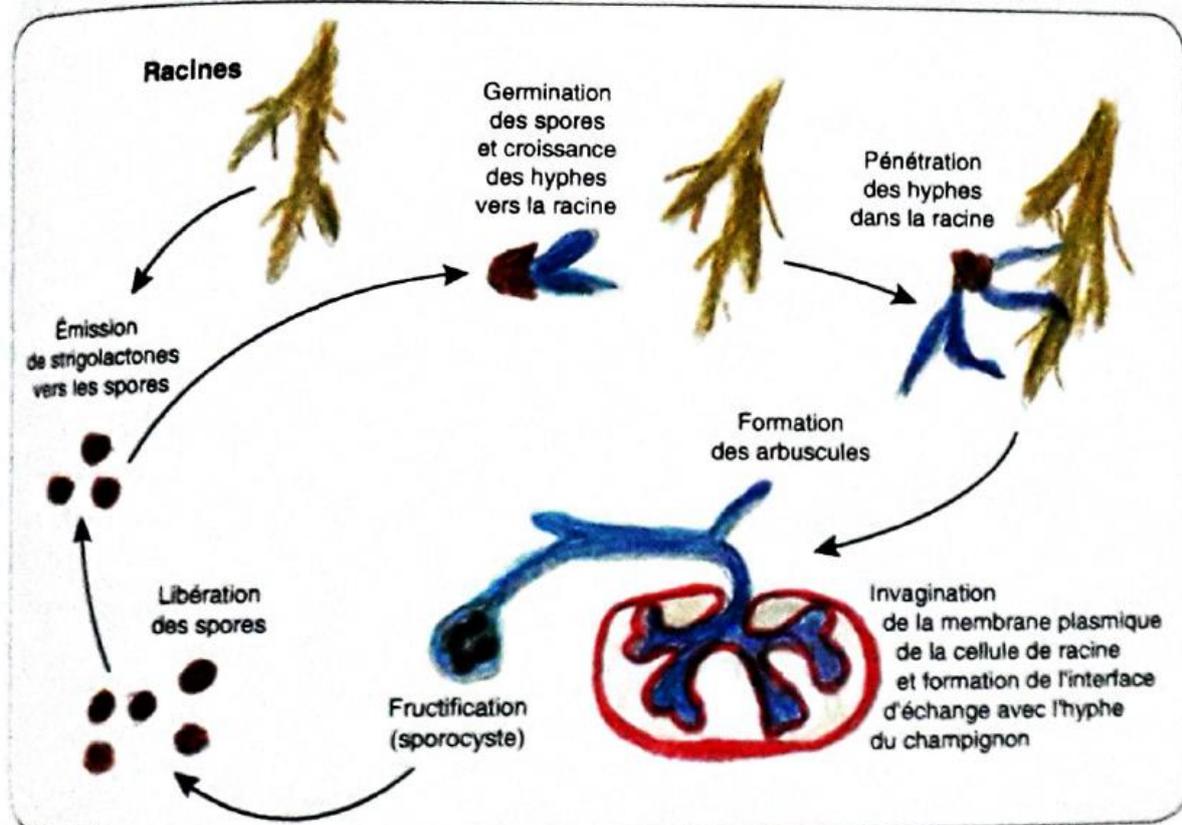
À partir de ces hyphes, des ramifications perforent la paroi cellulaire et pénètrent à l'intérieur de la cellule. L'hyphe de pénétration se ramifie un grand nombre de fois pour réaliser une structure rappelant un petit arbre avec un tronc, des grosses branches et des ramifications de plus en plus fines. C'est l'**arbuscule**, structure caractéristique de ce type de mycorhize.

Enfin, certaines hyphes se dilatent à leur extrémité pour former d'énormes ampoules inter- ou intracellulaires. Ce sont les **vésicules**.

Dans certaines mycorhizes à vésicules et arbuscules et notamment les mycorhizes des végétaux ligneux, les arbuscules sont observés dans les cellules corticales profondes à proximité du cylindre central. Dans les cellules corticales périphériques envahies par le champignon, l'hyphe ne se ramifie pas et s'enroule sur elle-même, formant un **peloton**. Il a été montré que cette structure est différenciée dans des cellules dégénérantes et qu'elle n'est probablement pas fonctionnelle.

La durée de vie d'un arbuscule est relativement brève, puisqu'elle est évaluée à quelques dizaines d'heures. Après ce temps, les structures cytoplasmiques du champignon dégèrent et il ne persiste plus que des débris de parois dans la cellule-hôte vivante.

Compte tenu du nombre considérable d'espèces endomycorhizées VA, il est évident que cette structure classique présente des variantes. Ainsi, le réseau intercellulaire peut ne pas se former et le champignon se propage d'une cellule à l'autre en perforant les parois ou bien l'arbuscule peut naître à partir d'un peloton (mycorhizes de certaines Liliacées).



**Figure** étapes menant à la formation d'une symbiose endomycorhizienne à arbuscules.

#### • **Les mycorhizes à pelotons**

Dans ce type d'endomycorhize, le champignon pénètre dans les cellules de la racine mais ne forme que très rarement un réseau intercellulaire. L'infection se propage directement d'une cellule à l'autre. Lorsqu'une hyphes pénètre dans une cellule du cortex racinaire, elle s'enroule sur elle-même pour former un peloton comme dans certaines cellules des mycorhizes VA. Toutefois, contrairement au type mycorhizien précédent, c'est le seul type de formation intracellulaire et elles sont établies dans des cellules actives.

Ces mycorhizes à pelotons sont essentiellement formées par des Ascomycètes ou des Basidiomycètes. Ce sont par exemple les mycorhizes des Orchidées ou les mycorhizes de divers genres d'éricacées (*Calluna*, *Erica*, *Gaultheria*, *Vaccinium*). Dans cette famille, elles sont qualifiées de **mycorhizes éricoïdes**. Le partenaire fongique est un Ascomycète : *Hymenoscyphus ericae*. Chez les Orchidées, le partenaire est souvent un Basidiomycète appartenant au genre *Rhizoctonia*.

Dans les mycorhizes éricoïdes, les cellules corticales dégénèrent rapidement ; au contraire, dans les mycorhizes d'Orchidées, ces cellules restent vivantes et c'est le peloton d'hyphes qui dégénère et qui est digéré par la cellule.

#### **Les ectendomycorhizes**

Ce sont des mycorhizes présentant à la fois des structures d'ectomycorhizes et des structures d'endomycorhizes. C'est ainsi que chez l'éricacée *Arbutus unedo*, le champignon forme un manteau, un réseau de Hartig et des pelotons intracellulaires. Chez

Les éricacées, ce type de mycorhizes est qualifié de **mycorhizes arbutoïdes**. Parfois, les ectendomycorhizes montrent des organisations beaucoup plus insolites. C'est le cas des **mycorhizes monotropoïdes** (*Monotropa hypopitys*). Le champignon forme un manteau, un réseau de Hartig. • partir des hyphes de la base du manteau ou des hyphes du réseau de Hartig, une ramification en forme de coin très aigu perfore la paroi cellulaire et représente la formation endomycorhizienne. Cette formation intracellulaire si particulière est qualifiée par les Anglo-Saxons de "cheville" (peg). L'hyphes ne se ramifie pas, mais la surface de contact avec l'hôte est accrue par le développement très important de digitations pariétales.

#### b. Mise en place des symbioses mycorrhizienne dans les écosystèmes.

La symbiose mycorrhizienne favorise le prélèvement et le transport vers la plante des éléments minéraux nutritifs très peu mobiles dans le sol comme le phosphore. En fonction du pH du sol, cet élément se retrouve en grande partie immobilisé par le fer, l'aluminium ou le calcium sous des formes difficilement accessibles par les plantes. L'exploration du volume du sol par le mycélium extramatriciel et sa capacité à mobiliser des éléments nutritifs à partir des minéraux primaires favorisent la nutrition phosphatée des plantes. Cette amélioration de la nutrition minérale des plantes concerne également d'autres macroéléments et oligoéléments. Ces associations mycorrhiziennes jouent également un rôle significatif dans la décomposition et la minéralisation de la matière organique tellurique et mobilisent les nutriments au bénéfice de la plante hôte. L'amélioration de la nutrition hydrique des plantes grâce à la symbiose mycorrhizienne a également été déterminée et cet effet « mycorhize » est attribué à une meilleure utilisation de l'eau par la plante en raison du volume de sol exploré par les hyphes mycéliens. De nombreux résultats de recherche attribuent à la symbiose mycorrhizienne 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. Parallèlement, une nette amélioration de la structure du sol a souvent été observée en présence des mycorhizes. Le vaste réseau d'hyphes extramatriciels et leur capacité à produire des molécules agrégeantes comme la glycoprotéine nommée glomaline, dans le cas de la symbiose mycorrhizienne à arbuscules, permet une meilleure stabilisation du sol par la formation d'agrégats beaucoup plus stables. Les associations mycorrhiziennes jouent un rôle clef dans le fonctionnement et la stabilité des écosystèmes terrestres en intervenant fortement dans les mécanismes régissant l'évolution spatio-temporelle des écosystèmes.

En effet, la présence de plantes supportant déjà des structures mycorhiziennes a été décrite comme un moyen très efficace pour assurer la régénération de l'espèce végétale en facilitant notamment l'infection des jeunes plants et en conséquence leur survie, dans des conditions du milieu souvent hostiles. Les champignons mycorhiziens favorisent la coexistence entre plusieurs espèces végétales, améliorant ainsi la productivité et la biodiversité végétales dans ces écosystèmes. Certains auteurs ont montré qu'il existait un transfert de métabolites *via* des ponts mycéliens créé par le réseau d'hyphes connectant plusieurs plantes de la même et/ou d'espèces différentes. Par ailleurs, les associations mycorhiziennes sont fortement impliquées dans la dynamique des successions végétales. En début de succession, marquées par une pauvreté du sol en propagules mycorhiziennes, ce sont les espèces végétales qui dépendent peu de cette symbiose qui s'installeront. Par la suite, avec l'enrichissement du sol en structures mycorhiziennes et son appauvrissement en éléments nutritifs, les espèces présentant une mycotrophie plus importante leur succéderont avec une forte corrélation positive entre les biodiversités fongique et végétale.

c. Facteurs écologiques et génétiques contribuant au maintien mycorrhizienne.

d. Symbiose fixatrice d'azote (rhizobienne)

### **Les Fabacées**

Les Fabacées constituent une des familles les plus importantes du règne végétal avec environ 750 genres et 20 000 espèces. Ce sont des Angiospermes dicotylédones dont les fruits sont des gousses.

Elles sont représentées par trois sous-familles:

- les Mimosacées: Acacia, Mimosa, Leucaena, Albizia ...
- les Cesalpinacées : Tamarinier, Arbre de Judée, Caroubier ...
- les Papilionacées: Genêt, Trèfle, Arachide, Haricot, Pois, Soja ...

Ainsi, la famille des légumineuses comprenant arbres, arbustes et plantes herbacées, est très diversifiée.

Comme toutes les autres plantes, les légumineuses assimilent l'azote du sol en transformant, grâce à la nitrate réductase et à la nitrite réductase,

le  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{NH}_4^+$

De plus, elles fixent fréquemment, mais non obligatoirement l'azote atmosphérique par symbiose avec les rhizobiums. Ces deux mécanismes sont complémentaires.

### **LES RHIZOBIUMS.**

Le partenaire de la légumineuse est le rhizobium, bactérie aérobie, gram négative, en forme de bâtonnet et présentant un flagelle polaire ou sub-polaire ou des flagelles péritriches qui lui confèrent sa mobilité.

Ces microorganismes peuvent provoquer la formation de nodosités fixatrices d'azote sur les racines, et plus rarement les tiges (par exemple de *Sesbania*), des plantes appartenant à la famille des légumineuses.

Les rhizobiums sont généralement spécifiques de l'hôte qu'ils infectent, bien qu'une même Fabacée puisse être inoculée par plusieurs souches bactériennes différentes. Ces microorganismes sont sensibles à certains facteurs du milieu tels que la température, la salinité et l'acidité du sol ainsi que sa teneur en matière organique qui favorise la vie bactérienne.

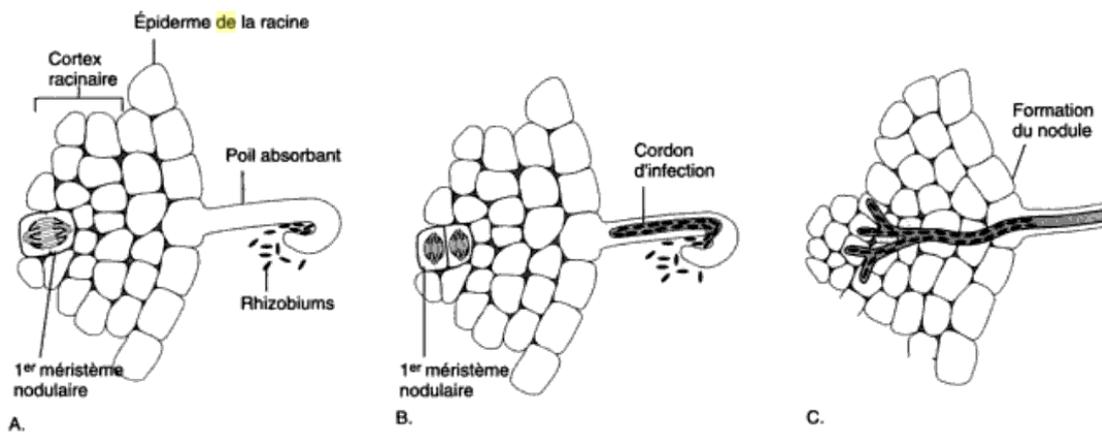
La classification des Rhizobium a d'abord été basée sur les groupes de Fabacées avec lesquels la bactérie pouvait entrer en symbiose, puis par leur vitesse de croissance mais actuellement de nouvelles modifications peuvent apparaître dans cette classification en fonction des découvertes sur les caractéristiques de la symbiose.

### **Infection et développement du nodule**

La séquence des événements qui débutent par l'infection bactérienne et qui se terminent par la formation d'un nodule différencié fixant l'azote, a été très étudiée chez les légumineuses, d'abord sous l'angle morphologique, puis plus récemment sous un angle biochimique et de génétique moléculaire. Globalement, le processus met en jeu des interactions multiples entre la bactérie et les racines hôtes.

En effet, les rhizobiums et les racines du futur hôte nouent un dialogue sous la forme de messages chimiques entre les deux partenaires. A partir d'études effectuées initialement sur le soja, le trèfle et le pois, neuf à dix stades différents de développement ont été identifiés. Afin de simplifier la discussion, nous examinerons ces événements en les regroupant en quatre stades principaux.

1. Multiplication des Rhizobiums, colonisation de la rhizosphère et fixation aux cellules épidermiques et aux poils absorbants.
2. La courbure caractéristique des poils absorbants, l'invasion par les bactéries et la formation d'un cordon d'infection.
3. L'initiation du nodule et son développement dans le cortex de la racine. Stade généralement nommé stade 1.
4. Déversement des bactéries du cordon d'infection et différenciation de cellules spécialisées dans la fixation de l'azote.



**Schéma** du mécanisme d'infection qui provoque la formation d'un nodule. A) en réponse des signaux émis par la racine de la hôte, les rhizobiums colonisent le sol à proximité de la racine. A leur tour, les rhizobiums stimulent l'enroulement de l'extrémité d'un poil absorbant et émettent simultanément des signaux mitogènes qui stimulent des divisions cellulaires dans le cortex de la racine. B) les rhizobiums envahissent la racine en digérant la paroi du poil absorbant et en formant un cordon infectieux. Les rhizobiums continuent de se multiplier pendant la progression du cordon infectieux vers le cortex de la racine. C) le cordon infectieux se ramifie de façon) pénétrer dans de nombreuses cellules corticales, alors qu'un nodule se forme et devient visible sur la racine. Le stade final (non représenté) est le déversement des rhizobiums dans les cellules hôte et l'activation de la machinerie fixatrice d'azote.