Interactions à bénéfice mutuel entre le monde bactérien et les plantes vasculaires

Autor(en): **Aragno, Michel**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Botanica Helvetica**

Band (Jahr): **94 (1984)**

Heft 2

PDF erstellt am: **23.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-65874

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Botanica Helvetica 94/2, 1984

0253-1453/84/020235-14 $ 1.50 + 0.20/0
© 1984 Birkhäuser Verlag, Basel

Interactions à bénéfice mutuel entre le monde bactérien et les plantes vasculaires

Michel Aragno

Laboratoire de Microbiologie, Institut de Botanique de l'Université de Neuchâtel, Chantemerle 22, CH-2000 Neuchâtel

Manuscrit reçu le 8 juillet 1983

Abstract

Aragno, M. 1984. Mutualistic interactions between the bacterial world and vascular plants. Bot. Helv. 94: 235–248.

Interactions between bacteria and vascular plants are considered at different levels of intimacy: biospheric, phytospheric (rhizosphere, phyllosphere and spermosphere), histospheric and cytospheric. Whereas distant interactions imply most of the biogeochemical capabilities of microorganisms, closer interactions manifest more specific properties, e.g., growth regulation and dinitrogen fixation. Finally, the chloroplast itself, considered as an endosymbiont, shows the deepest level of intimacy between a procaryote and its eucaryotic host.

Introduction

Les phanérogames, sauf quelques rares exceptions, sont des organismes *autotrophes* et *prototrophes:* ils sont à même de synthétiser la totalité de leur matière carbonée à partir du CO_2, sans requérir dans leur milieu la présence de structures organiques préformées, ou facteurs de croissance. L'énergie et le pouvoir réducteur nécessaires à ce type de métabolisme sont engendrés par le phénomène de la phototrophie, tandis que les autres éléments chimiques sont prélevés dans le milieu sous forme de sels minéraux et d'eau. Comme la lumière est pratiquement la seule source d'énergie externe à notre planète utilisable par les systèmes biologiques, les organismes *phototrophes,* dont les principaux représentants en milieu terrestre sont les plantes vasculaires, sont à l'origine de toutes les chaînes alimentaires dont dépendent les autres organismes: animaux, champignons et la plupart des bactéries. En revanche, les végétaux présentent un certain nombre de «points faibles» qui les rendent dépendants d'autres formes de vie pour assurer leur nutrition: ils ne sont pas à même de minéraliser toute la matière organique; seuls certains composés inorganiques de l'azote, du soufre et du phosphore peuvent être assimilés; ils sont en particulier incapables d'utiliser l'azote élémentaire. En outre, le milieu (sol) doit assurer à leurs racines un support à la fois physique et nourri-

---

Travail dédié au professeur Cl. Favarger, à l'occasion de son 70e anniversaire.

cier, sous forme d'un complexe absorbant structuré et (le plus souvent) aéré. Enfin, les racines ont un pouvoir d'absorption relativement faible, et les plantes ont une capacité limitée d'accumulation des sels minéraux.

La plupart des bactéries sont hétérotrophes. Elles dépendent le plus souvent, directement ou indirectement, de la production végétale, au même titre que les animaux et les champignons. En revance, elles sont seules à remplir efficacement certaines fonctions, comme l'oxydation des formes réduites de l'azote et du soufre, et surtout la fixation de l'azote atmosphérique. Avec les champignons, elles sont responsables de la minéralisation de la matière organique et de sa transformation en substances humiques. La capacité des microorganismes d'absorber et d'accumuler les sels minéraux est en général élevée. Enfin, certains peuvent produire des substances organiques à effet phytohormonal.

Plantes et microorganismes semblent donc «faits pour s'entendre». Parfois, l'avantage est unilatéral et l'organisme, suivant qu'il porte préjudice ou non à son partenaire, sera un parasite, un prédateur ou un commensal. Nous envisagerons ici uniquement les relations à bénéfice mutuel, qu'elles soient de nature trophique, hormonale ou physique. Notre but n'est pas d'en donner un aperçu exhaustif; d'excellents articles de revue et compte-rendus de symposiums y pourvoient largement, en traitant à fond de tel ou tel aspect de la question (voir par exemple Dommergues et Krupa 1978). Par le présent essai, nous souhaitons évoquer, de manière très générale et au travers de quelques exemples, l'imbrication des sphères d'échange entre végétaux et microorganismes procaryotes.

On peut considérer plusieurs niveaux d'intimité entre les microbes et les plantes:

- la *biosphère,* où se déroulent les échanges n'impliquant pas la proximité étroite des partenaires
- la *phytosphère,* zone située au voisinage immédiat des organes vivants du végétal et sous l'influence biochimique directe de ceux-ci. On distinguera la *rhizosphère,* la *phyllosphère,* la *spermosphère,* etc. Dans cette définition, nous incluons le phytoplan (*rhizoplan, phylloplan,* etc.) c'est-à-dire la surface même de l'organe considéré
- l'*histosphère,* représentée par l'habitat particulier formé par des espaces intratissulaires intercellulaires hébergeant des microorganismes
- la *cytosphère,* soit l'intérieur même des cellules végétales vivantes.

Interactions à l'échelle de la biosphère

Telle que nous la comprenons, la biosphère est le cadre d'échanges à des distances très différentes: le recyclage de l'azote et du carbone, sous forme des gaz N_2 et CO_2, se fait par l'atmosphère à l'échelle circumterrestre. Les cours d'eau transportent des éléments minéraux sur de longues distances. A l'opposé, la matière végétale morte ne parvient au sol qu'à quelques mètres en général de l'endroit où elle a été produite, tandis que la percolation ou la diffusion d'un soluté dans un sol peut n'impliquer qu'un déplacement de quelques millimètres entre l'endroit de sa libération et celui de son absorption par une racine. On peut distinguer des échanges au niveau de l'*atmosphère,* de l'*hydrosphère* et de la *pédosphère.*

L'apport des végétaux aux microorganismes de la biosphère se fera de deux façons: par la litière, qui au sens large comprend les feuilles, les déchets de la floraison, les brindilles, les branches et les débris divers tombant des parties aériennes, ainsi que les racines mortes; et par les pluviolessivats, apportant principalement des substances so-

lubles, mais aussi une fraction particulaire fine, entraînées par percolation de l'eau de pluie à travers la phyllosphère. La production végétale sur l'ensemble de la planète est considérable. Les forêts du globe produisent près de 60×10^9 t/an de matière organique, soit le triple de la production des océans, pour une surface dix fois moindre. La production totale des terres émergées représente près de 100×10^9 t/an (d'après Duvignaud 1980). La litière comprend principalement de la cellulose, des hémicelluloses et de la lignine. Elle fournit également des éléments biogènes (N, P, K, Ca, Mg, Fe . . .). La teneur en azote est relativement faible (rapport C/N compris entre 30 et 100), mais elle s'élèvera au fur et à mesure de la dégradation. Parmi les substrats hydrosolubles, mentionnons des sucres, des acides carboxyliques et aminés, des dérivés phénoliques . . .

Les pluviolessivats entraînent une plus grande proportion de substances organiques solubles, en particulier des sucres. L'apport azoté est important (10–20 kg/ha.an sous une hêtraie), la moitié se trouvant sous forme de nitrate et d'ammonium. L'entraînement des cations est lui aussi important, supérieur même parfois à l'apport de la litière (Mangenot et Toutain 1980).

La réponse de la microflore se fera ici de plusieurs manières: minéralisation de la matière organique, oxydation des composés azotés et sulfurés, biosynthèse de polymères bactériens à stabilité élevée et transformation de biopolymères végétaux (lignine principalement) en composés humiques. Vu le rapport C/N élevé, la minéralisation de la litière se traduira tout d'abord par une immobilisation de l'azote et d'autres éléments au niveau de la biomasse microbienne. Dans la suite du processus, par l'activité respiratoire des microorganismes, la teneur en carbone va s'abaisser (dégagement du CO_2); dès que le carbone devient le facteur limitant de la croissance microbienne, l'excès de l'azote et des autres éléments va être libéré (ammonification, etc.). Ainsi, la microflore exerce un effet régulateur sur la mise à disposition des végétaux de dérivés azotés et autres. Dans les régions tempérées, c'est en automne, lors de la chute des feuilles, que se fait l'apport de litière le plus important alors que la montée de la sève est fortement ralentie. La biomasse microbienne (bactéries et champignons) fonctionne alors comme un réservoir, et la libération des sels minéraux sera différée au bénéfice des végétaux.

La production de CO_2 par les microorganismes représente la part la plus importante de l'activité catabolique totale dans la biosphère; elle joue ainsi un rôle prépondérant dans le renouvellement du «pool» océano-atmosphérique du CO_2.

En général, l'azote et le soufre sont minéralisés par les microorganismes sous forme de dérivés réduits: NH_4^+ et H_2S, tandis que les végétaux les absorbent préférentiellement sous leur forme la plus oxydée: NO_3^- et SO_4^{--}. Des bactéries spécialisées vont oxyder ces dérivés.

La *nitrification* résulte pour la plus grande part de l'activité de deux groupes de bactéries chimiolitho-autotrophes. Les unes (bactéries nitreuses) tirent l'énergie et le pouvoir réducteur nécessaires à leur métabolisme de l'oxydation de l'ammoniaque en nitrite (ou plus exactement de l'hydroxylamine en nitrite, la première phase, l'oxydation de l'ammoniaque, étant une réaction endergonique catalysée par une mono-oxygénase); les autres (bactéries nitriques) accomplissent de même l'oxydation des nitrites en nitrate. Des organismes hétérotrophes (bactéries et champignons) sont également à même d'oxyder des composés azotés en nitrate; dans les milieux naturels, ce processus est toutefois beaucoup plus lent que la nitrification autotrophe (Schlegel 1981): son importance serait plus grande dans les sols acides, où les autotrophes sont inhibés. La nitrification doit être maintenue dans certaines limites. La transformation d'un cation en un anion se traduit par une forte acidification qui entraîne la solubilisation des autres

minéraux (K, Mg, Ca et P en particulier). Le nitrate est en outre beaucoup plus rapidement lessivé que l'ammonium.

La sulfo-oxydation fait également intervenir des bactéries chimiolitho-autotrophes, tirant énergie et pouvoir réducteur de l'oxydation séquentielle de l'hydrogène sulfuré ou du soufre élémentaire en acide sulfurique. On peut faire à leur sujet les mêmes remarques que ci-dessus concernant l'acidification qu'elles provoquent; toutefois, les quantités libérées sont plus faibles, et le sulfate est considérablement plus stable que le nitrate dans les sols. Un procédé bien connu exploite ce phénomène: l'addition de fleur de soufre à un sol trop alcalin.

En conditions anaérobies, les bactéries dénitrifiantes réduisent le nitrate en azote moléculaire. Elles apparaissent comme des antagonistes de la végétation. Ce peut être le cas dons un sol hydromorphe par exemple; à l'échelle atmosphérique, en revanche, la dénitrification permet le renouvellement du «pool» de l'azote élémentaire, assurant le recyclage de cet élément par l'intermédiaire des organismes fixateurs.

La fixation de l'azote atmosphérique par des organismes libres chimiotrophes (*Azotobacter, Clostridium* butyriques, *Xanthobacter,* etc.) ou phototrophes (Rhodospirillales, Cyanobactéries) a dans l'ensemble moins d'importance que la fixation symbiotique que nous évoquerons plus loin. Dans certains milieux cependant, les rizières en particulier, la fixation par les cyanobactéries semble jouer un rôle prépondérant.

La solubilisation des minéraux et des roches est, elle aussi, une contribution importante des microorganismes à la mise à disposition des végétaux des éléments dont ils ont besoin. Cette solubilisation est la conséquence, soit de l'acidification du milieu par les acides organiques ou inorganiques excrétés par les bactéries, soit de la production de métabolites à effet chélateur.

La plupart des polysaccharides sécrétés par les bactéries sont très résistants à la dégradation. Ils persistent longtemps dans les sols et forment une part importante de la fraction hydrolysable de l'humus. La dégradation de la lignine par des exoenzymes bactériens et fongiques donne des précurseurs des acides fulviques et humiques. Les activités microbiennes sont donc indispensables à la formation des complexes argilo-humiques dont la texture et les propriétés absorbantes permettent aux sols d'assumer les fonctions de maintien physique, d'apport d'eau et de nutrition minérale, et d'assurer les échanges gazeux du système racinaire.

Interactions à l'échelle de la phytosphère

La phytosphère comprend l'ensemble des habitats sous l'influence directe de l'activité du végétal vivant. Nous y incluons le phytoplan, c'est-à-dire la surface même du végétal, directement en contact avec le milieu extérieur. A l'exception de certains fixateurs d'azote, il existe peu d'exemples de relations à bénéfice mutuel entre les organismes habitant la surface des parties aériennes des plantes (les épiphytes) et ces dernières. Ils manifestent le plus souvent les propriétés de phorésie (la plante fonctionne comme un support physique) et/ou de commensalisme (l'épiphyte se nourrit d'exsudats de la plante). Si l'organisme épiphyte stimule à son avantage, directement ou indirectement, l'exsudation de métabolites par le tissu végétal sous-jacent, il est alors à la limite du parasitisme.

C'est surtout au niveau des racines et à leur voisinage (rhizoplan et rhizosphère) que vont se situer les relations plante-microorganismes. La rhizosphère n'est pas une zone homogène, et il faut se la représenter comme un gradient entre le rhizoplan et le

sol distant. Un autre gradient, longitudinal, s'y superpose: l'exsudation est en effet maximale à proximité de la pointe racinaire.

Le premier pas de l'interaction appartient ici à la plante, qui va modifier de plusieurs manières l'environnement racinaire: par les prélèvements d'eau et de sels minéraux qu'elle y effectue d'une part, et par l'excrétion dans l'environnement immédiat de la racine de substances organiques diverses. Ces exsudats contiennent principalement des sucres, des acides aminés, des vitamines, des tannins et des alcaloïdes, tandis que l'exfoliation des cellules rhizodermiques et corticales constitue un apport non négligeable de polymères pariétaux (cellulose, pectine et autres). Certaines de ces substances représentent pour les microorganismes des substrats facilement métabolisables, ou des facteurs de croissance; d'autres auront un effet inhibiteur sélectif. Enfin, certaines parties de la racine, en particulier la coiffe, sécrètent une gaine mucilagineuse (mucigel) qui joue à la fois le rôle d'échangeur de cations, de protection contre la dessication et d'élément structural de l'environnement rhizosphérique. Elle sera lentement dégradée par les microorganismes, qui vont à leur tour sécréter des polysaccharides qui en prendront le relais. La rhizosphère présente donc la structure d'un gel très lâche, favorisant la formation de microcolonies bactériennes.

La population microbienne rhizosphérique est généralement plus importante que celle du sol environnant; elle présente en outre des différenciations qualitatives (composition de la microflore) dues à plusieurs facteurs. Des inhibiteurs sélectifs vont

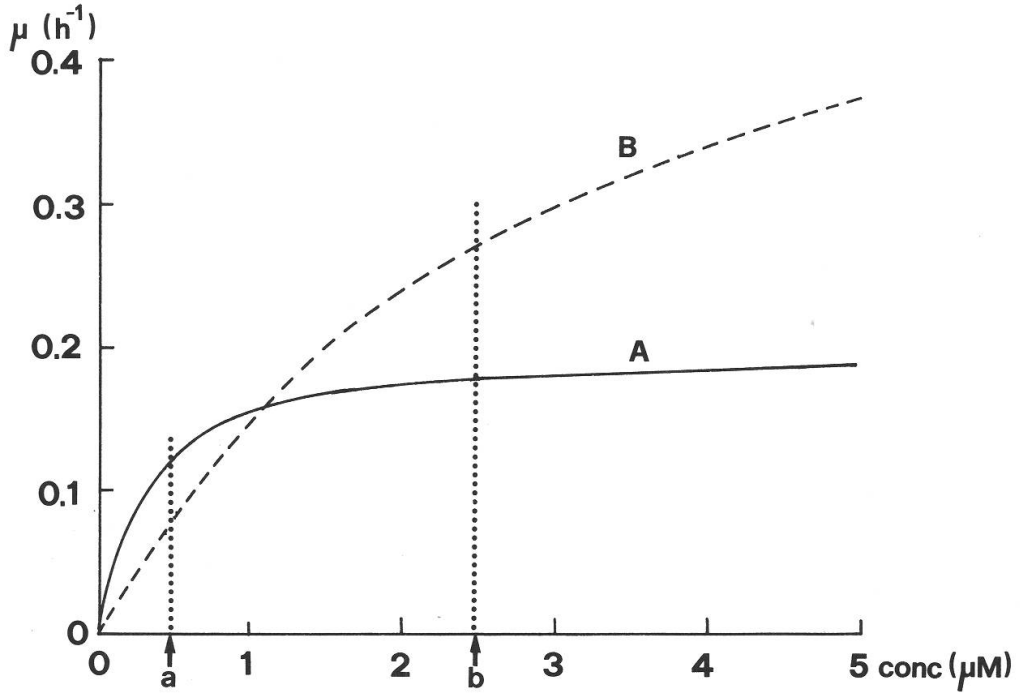

Fig. 1. Relation (selon le modèle de J. Monod) entre le taux de croissance et la concentration du substrat limitant. Simulation pour les paramètres suivants:

	K_s	μ_{max}
Organisme A	0,3 μM	0,2 h^{-1}
Organisme B	3 μM	0,6 h^{-1}

Pour une faible concentration (a), la croissance de A est plus rapide que celle de B. C'est l'inverse pour une concentration plus élevée (b). A est «autochtone», B est «zymogène».

entraîner la dominance de certains groupes bactériens résistants; l'apport de facteurs de croissance favorisera les organismes auxotrophes, tandis que l'apport de substances facilement métabolisables permettra de donner à certains microorganismes un avantage concurrentiel sur les autres. Le premier, S. Winogradski (1949) a relevé l'existence de deux types de comportements trophiques chez les organismes telluriques. Les uns, qu'il a appelés *autochtones,* sont présents en populations relativement stables dans les milieux à faible apport nutritif. Leur taux de croissance maximum est faible, mais leur affinité envers les nutriments est élevée. Les autres, qualifiés de *zymogènes,* sont présents en quantités relativement faibles dans les environnements pauvres en substrats nutritifs. Suite à un apport abondant de matières organiques aisément dégradables, elles vont en revanche se multiplier activement et dominer largement les «autochtones». Leur taux de croissance maximum est élevé, tandis que leur affinité pour les substrats est relativement faible. Selon le modèle de Monod (1949) de la relation entre la vitesse de croissance et la concentration du substrat limitant, la dominance de l'un ou l'autre groupe s'explique aisément en fonction de l'apport nutritif (fig. 1). Au voisinage des racines, la population des «zymogènes» est donc plus importante que dans le sol environnant. Les notions de «zymogène» et d'«autochtone» recoupent assez bien, dans leur essence, celles d'opportunistes, resp. d'oligocarbophiles, ou celles de stratégistes «r» et «K» introduites tout d'abord par McArthur et Wilson (1967) en Ecologie animale.

Les différences quantitatives entre les populations rhizosphériques et telluriques s'expriment par le rapport R/S (nombre de germes dans le sol rhizosphérique/nombre de germes dans le sol distant). Ce rapport est toutefois fortement influencé par le mode de numération des germes. Le comptage des colonies formées sur un bouillon gélosé inoculé par une suspension-dilution de sol est le plus pratiqué. Les rapports R/S obtenus par cette méthode sont généralement élevés (entre 10 et 100). Mais les bactéries les plus aptes à former des colonies («colony-forming units») sont précisément des «zymogènes», tandis que la plupart des «autochtones» ne forment pas de colonies visibles. L'indice R/S ainsi obtenu est donc plutôt une mesure de l'abondance des zymogènes. D'autres approches, en particulier le dosage de l'ATP (Maire 1983) donnent un rapport R/S plus faible. La quantité d'ATP étant avant tout une mesure de la biomasse vivante «actuelle» (Maire 1983), le rapport ainsi obtenu nous semble donc beaucoup plus proche de la réalité.

Les apports de la microflore rhizosphérique aux végétaux sont divers. La plupart des fonctions que nous avons évoquées pour l'ensemble de la microflore tellurique se manifestent aussi au niveau de la rhizosphère. Il s'y ajoute des fonctions spécifiques à l'environnement immédiat de la racine.

Certaines fonctions telluriques sont considérablement stimulées dans l'environnement rhizosphérique. C'est le cas souvent de la fixation d'azote par des organismes chimiotrophes. L'activation de N_2 exige une quantité considérable d'énergie, sous forme d'ATP et de pouvoir réducteur; ceci implique une consommation importante du substrat énergétique: le milieu rhizosphérique est donc *a priori* particulièrement favorable. Certaines bactéries fixatrices sont spécifiquement liées à la rhizosphère de certaines plantes. Ainsi, *Azotobacter (=Azorhizophilus) paspali* est lié à la rhizosphère de quelques graminées du genre *Paspalum,* en particulier de *P. notatum,* une espèce tropicale pouvant servir de fourrage (Döbereiner et Day 1975). De même, *Azospirillum lipoferum* est associé à la rhizosphère de certaines graminées, en particulier du Maïs et de *Digitaria (=Panicum) decumbens,* espèce néotropicale.

Bactéries et champignons de la rhizosphère vont modifier la croissance végétale par la synthèse de phytohormones (auxines, gibberellines, cytokinines, etc.) dont l'effet

morphogène dépend de la concentration et de l'espèce végétale concernée. Il est aussi possible que l'environnement rhizosphérique d'une plante défavorise une autre espèce végétale par la production de phytohormones à une concentration défavorable à cette dernière.

Certains organismes de la phytosphère ont un effet antagoniste vis-à-vis des parasites. Ainsi, la résistance à certaines attaques peut-elle dépendre de l'environnement rhizosphérique. On cherche actuellement à réprimer certaines parasitoses en ajoutant au sol des amendements spécifiques favorisant cet antagonisme.

Interactions au niveau de l'histosphère

L'environnement tissulaire intercellulaire (que nous avons appelé histosphère) abrite souvent les cellules ou le mycélium végétatif des phytoparasites. C'est aussi à ce niveau que s'établissent les échanges entre partenaires des mycorrhizes ectotrophes, par l'intermédiaire du réseau de Hartig. Ici, les relations à bénéfice mutuel entre plantes et bactéries concernent surtout la fixation d'azote moléculaire. Les symbiontes extracellulaires sont en général des cyanobactéries, organismes *phototrophes:* quel bénéfice le procaryote tire-t-il alors de cette association?

Les fougères aquatiques tropicales du genre *Azolla* présentent, à la face inférieure de leurs frondes, des cavités renfermant des filaments d'*Anabaena azollae.* Dans ces conditions, la fixation d'azote est très active, plus même que celle que l'on observe dans les cultures axéniques de la même cyanobactérie. Ces fougères jouent un rôle important dans le cycle de l'azote des rizières tropicales.

Azolla étant une plante flottante, ses symbiontes sont exposés à la lumière. Il est cependant difficile de les isoler et les cultures obtenues (Newton et Herman 1979) semblent être plutôt des mutants capables de développement autonome. La symbiose serait alors obligatoire pour le procaryote, mais la cause de cette dépendance n'est pas élucidée.

De nombreuses espèces tropicales ou subtropicales de Myrsinacées et de Rubiacées, appartenant en particulier aux genres *Ardisia, Pavetta* et *Psychotria* présentent à la surface de leurs feuilles des nodules renfermant des bactéries. Celles-ci sont localisées dans les espaces intercellulaires du mésophylle. La nature symbiotique de ces associations est attestée par le fait que les plantes non-nodulées, obtenues soit artificiellement, soit spontanément, manifestent un nanisme prononcé et dégénèrent après quelques années sans avoir fleuri. Il était tentant de supposer qu'ici aussi, la fixation de l'azote élémentaire était à la base de cette symbiose; en effet, le présumé symbionte (*Chromobacterium lividum*) montre une activité fixatrice en culture pure. En revanche, toutes les tentatives de mesurer une activité de la nitrogénase dans les nodules excisés ou en place (incorporation de ^{15}N et réduction de l'acétylène) ont donné des résultats négatifs. Le nanisme des plantes non nodulées n'est pas contrebalancé par un apport d'engrais azoté; la teneur en azote des tissus des plantes non nodulées est identique à celle des plantes nodulées, tandis que ces dernières montrent des signes de carence azotée lorsqu'elles sont cultivées dans un milieu dépourvu d'azote (Fletcher 1976, Becking 1976). En revanche, on a constaté que l'adjonction d'acide gibberellique pouvait compenser en partie le nanisme provoqué par l'absence de nodules; en outre, ceux-ci présentent une teneur élevée en cytokinines. La participation bactérienne à ce type de symbiose est donc peut-être un apport hormonal, direct ou indirect.

De nombreuses espèces de Cycadales présentent des nodules racinaires contenant

des cyanobactéries extracellulaires (Akkermans 1978). Ces nodules sont formés à partir de certaines régions de la racine, de forme coralloïde. On ne sait si ce dimorphisme des racines résulte d'une interaction avec des microorganismes, ou s'il s'agit d'une propriété inhérente à la plante seule. Les éléments coralloïdes apparaissent toutefois également en l'absence du symbionte. Les cellules de la coiffe forment un cortex secondaire, tandis que les cellules rhizodermiques croissent radialement en délimitant des lacunes intercellulaires qui peuvent être colonisées par les symbiontes. En l'absence de ceux-ci, les partie coralloïdes restent peu développées et dégénèrent après une année, tandis que les cyanobactéries symbiotiques (*Nostoc* ou *Anabaena*) induisent la formation de glomérules importants. En conditions aérobies, les nodules fixent l'azote aussi bien à l'obscurité qu'à la lumière, tandis qu'en conditions anaérobies, la lumière est indispensable. Les pigments et l'appareil photosynthétique sont formés aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité. Dans de nombreux cas, on est parvenu à cultiver les symbiontes en conditions axéniques. Ils sont autotrophes facultatifs et peuvent être cultivés à l'obscurité en conditions hétérotrophes. La croissance est alors considérablement plus lente qu'à la lumière.

Le bénéfice d'une telle association, évident pour la plante, l'est beaucoup moins pour les cyanobactéries. A l'état libre, au contraire de ce qu'elles font en symbiose, elles excrètent peu de substances azotées, ce qui leur permet d'économiser de l'énergie; en revanche, l'apport de nutriments organiques par le milieu est très faible, et leur mode de vie doit être principalement photo-autotrophe. L'habitat endophytique leur permettrait alors surtout de vivre en absence de lumière, et ainsi d'occuper un territoire d'où sont normalement exclus les organismes photosynthétiques. L'existence d'autres formes de dépendance (p. ex. auxotrophie) a été postulée mais n'a, à notre connaissance, jamais été démontrée chez ces cyanobactéries.

Interactions au niveau de la cytosphère

L'environnement intracellulaire, ou cytosphère, représente la sphère la plus intime des relations entre plantes et microorganismes. Dans la plupart des cas, c'est la fixation de l'azote moléculaire qui constitue l'apport bactérien à ce type de symbiose. Nous envisagerons ici trois exemples de symbiontes endocellulaires: les bâtonnets à Gram négatif du genre *Rhizobium* associés aux racines des légumineuses et de quelques familles apparentées; les bactéries filamenteuses du genre *Frankia,* associées aux racines des aulnes et d'autres genres; enfin, la symbiose entre les cyanobactéries du genre *Nostoc* et les espèces de *Gunnera,* plantes herbacées tropicales voisines des Halorrhagidacées.

La fixation de l'azote moléculaire par les nodosités des racines de légumineuses représente probablement la majeure partie de l'azote combiné dans la biosphère. Ces nodosités sont la manifestation d'une association avec des bactéries du genre *Rhizobium.* Cette symbiose est probablement la mieux étudiée actuellement; plusieurs revues récentes lui ont été consacrées (p. ex. Nutman 1976, Schmidt 1978, Bergesen 1978, Bauer 1981), et nous nous contenterons ici d'en retracer les grandes lignes.

Les *Rhizobium* sont également des habitants normaux du sol distant, où ils sont en général peu abondants. A l'état libre, ils ne montrent pas d'activité fixatrice d'azote. Ils présentent une spécificité élevée vis-à-vis de l'hôte végétal, et on peut noter aussi une certaine spécificité écologique, au niveau de leurs réponses aux facteurs physicochimiques du milieu (pH, température, etc.). L'établissement de la symbiose se manifeste par un «dialogue» biochimique et physiologique entre les deux futurs partenaires:

Plante:

Sécrétion non spécifique d'exsudats au niveau de la rhizosphère, en particulier de tryptophane.

L'AIA provoque une croissance incurvée («curling») des poils absorbants des racines, qui «englobent» les cellules bactériennes.

Le polysaccharide induit chez la plante la synthèse d'une poly-galacturosidase qui va ramollir les tissus et ainsi favoriser la pénétration du symbionte. La plante forme des lectines spécifiques des sites carbohydratés de la membrane externe des *Rhizobium* (lipopolysaccharides).

La plante sécrète autour des *Rhizobium* un tube cellulosique qui les sépare du cyto plasme.

Des cellules tétraploïdes (4n) sont présentes au voisinage du protoxylème.

Sous l'effet des bactéries, les cellules tétraploïdes prolifèrent pour former la partie centrale, bactérifère, de la nodosité; elles engendrent alors un composé unique chez les végétaux, la leghémoglobine. Ce pigment a une double fonction: transport de l'oxygène sous une forme combinée vers les cellules bactériennes, et protection de celles-ci contre les effets de l'oxygène libre. Les cellules diploïdes périphériques non bactérisées forment la zone superficielle de la nodosité et la relient au système vasculaire.

Rhizobium:

Les *Rhizobium* se multiplient dans la rhizosphère à partir de ces exsudats. Le tryptophane est converti en acide indolyl-acétique (AIA)

Les *Rhizobium* sécrètent un polysaccharide.

Les *Rhizobium* pénètrent par une invagination du poil absorbant.

Du fait de leur multiplication par scissiparité, les *Rhizobium* se disposent en file dans le tube et pénètrent ainsi dans les tissus corticaux, toujours entourés par le tube cellulosique.

Les *Rhizobium* s'installent dans les cellules tétraploïdes.

Les *Rhizobium* se modifient: leur forme devient irrégulière (bactéroïdes), leur chaîne respiratoire est modifiée, leur matériel nucléaire dégénère. Ils perdent la faculté de mener une vie indépendante. Grâce à la protection contre l'oxygène libre assurée par la nodosité, ils forment un complexe enzymatique fixateur d'azote: la «nitrogénase».

La fixation de l'azote est donc le fruit exclusif de l'activité bactérienne, tandis que la plante crée des conditions favorables à la dérépression et à l'activité de la nitrogénase.

Les nodosités fixatrices se reconnaissent à leur couleur rouge, due à la léghémoglobine. On observe souvent, en revanche, des nodosités incolores sur les racines de légumineuses. Elles ne sont pas fixatrices, ce qui résulte probablement d'une incompatibilité au niveau de la formation de la léghémoglobine. Le *Rhizobium* se comporte alors vraisemblablement comme un parasite.

Les racines de *Parasponia* (ou *Trema,* Ulmacée tropicale du SE asiatique) forment également des nodosités fixatrices avec des bactéries du genre *Rhizobium*. Ces nodosités sont pigmentées en brun-rouge, mais ne contiennent pas de léghémoglobine (Akkermans 1978).

Un second type de nodosités fixatrices d'azote est représenté, dans nos régions, par l'association entre les racines d'*Alnus* et les bactéries filamenteuses du genre *Frankia* (Actinomycètes?). L'endosymbionte se développe dans le méristème apical, la croissance en longueur de la racine est ralentie, tandis qu'il se forme de nombreuses ramifications dichotomiques; il en résulte un aggrégat de lobes, nommé *rhizothamnion*. Ce type de symbiose est très important dans les régions de latitude élevée; on le rencontre également sur certaines espèces de *Dryas, Hippophae* et *Myrica*. On est parvenu récemment à cultiver certains Frankia en conditions axéniques.

L'association entre *Nostoc* et *Gunnera* diffère des symbioses plante-cyanobactéries évoquées plus haut par la localisation endocellulaire du symbionte et par l'organe occupé. En effet, c'est au niveau des *tiges,* à la base de chaque pétiole, que se trouvent les glandes contenant les *Nostoc*. Ceux-ci présentent de nombreux hétérocystes (jusqu'à 50% des cellules!); des mesures effectuées sur le terrain ont montré une importante activité fixatrice, pouvant assurer à la plante la totalité de ses besoins en azote (Silvester 1976, Becking 1976). Les symbiontes ont été isolés en culture axénique: ils peuvent croître en conditions hétérotrophes à l'obscurité, aux dépens de divers substrats organiques. Vu leur localisation à la base peu éclairée des pétioles, on pense que l'aspect hétérotrophe de leur métabolisme est dominant dans les conditions naturelles.

Les chloroplastes: endosymbiontes extrêmes?

L'évolution logique de la symbiose endocellulaire devrait conduire à une perte, par l'endosymbionte, de certaines des propriétés associées à l'état libre et de certaines fonctions, assurées par l'hôte dans le milieu intracellulaire. Cette évolution peut être contrecarrée par la nécessité, pour le symbionte, de vivre une partie de son cycle dans le milieu extérieur pour assurer la transmission de la symbiose. C'est le cas chez *Rhizobium,* dont l'évolution vers l'état d'endosymbionte obligatoire est ontogénique. La condition préalable à une endosymbiose obligatoire permanente est la présence du symbionte dans le cytoplasme des cellules reproductrices. Cette idée est peut-être à l'origine des hypothèses, autrefois considérées comme téméraires et farfelues, et aujourd'hui assez généralement admises, sur l'origine endosymbiotique de certains organites endocellulaires, en particulier des plastes et des mitochondries (Margulis 1970, Gray et Doolittle 1982).

Le chloroplaste présente indubitablement certains caractères d'un organisme procaryote à Gram négatif: il est entouré d'une double membrane, possède un génome «circulaire» sans aucune homologie avec l'ADN nucléaire et renferme des ribosomes de type bactérien (70s). La comparaison des séquences des ARN ribosomiques, en par-

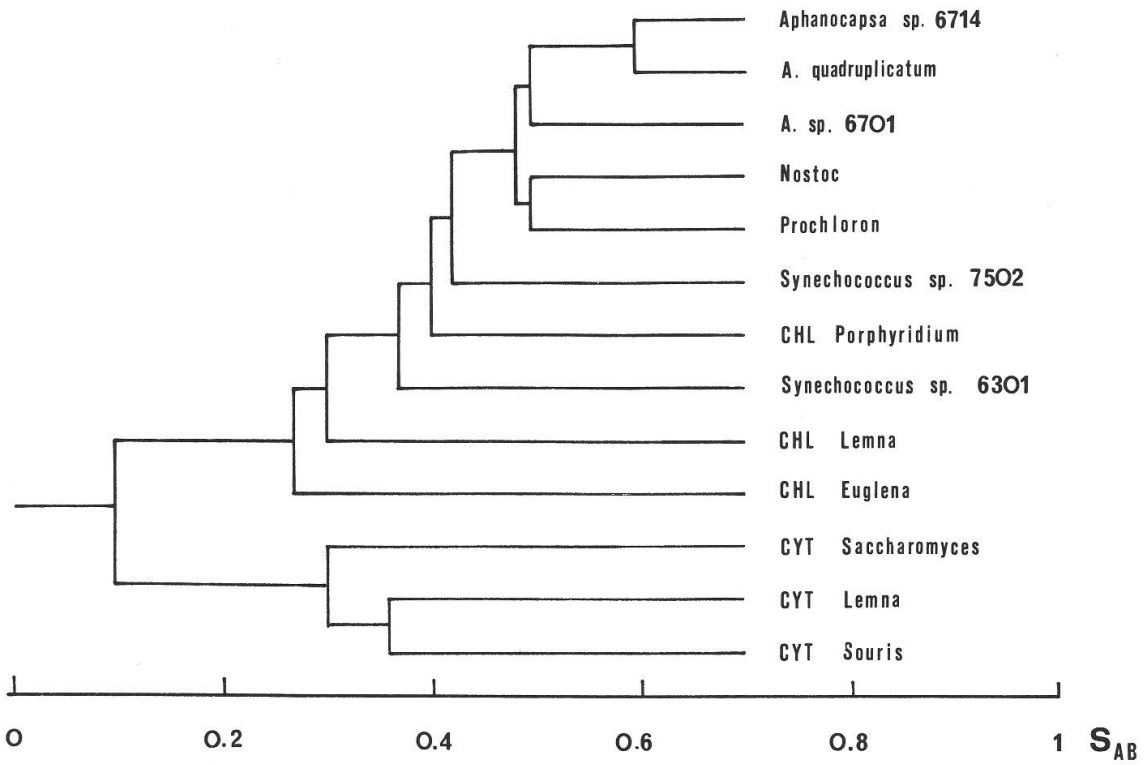

Fig. 2. Dendrogramme établi sur la base de la comparaison des ARN_r16S (18S chez les Eucaryotes). Méthode: catalogage des obligonucléotides obtenus par digestion à la ribonucléase T_1 et comparaison des catalogues (coëfficient S_{AB}, Fox et al., 1977). CHL: ARN_r chloroplastiques; CYT: ARN_r cytoplasmiques. D'après Fox et al. (1980), Kandler et Schleifer (1980), Stackebrandt et al. (1982).

ticulier la comparaison des «catalogues» des oligonucléotides obtenus par hydrolyse de l'ARN-16s par la ribonucléase T1 (Fox et al. 1977) permet d'obtenir une image de l'évolution divergente de ces génomes. En considérant les ribosomes des chloroplastes, des cellules eucaryotes et des bactéries phototrophes oxygéniques libres (Cyanobactéries et *Prochloron*), on obtient le dendrogramme de la fig. 2.

Ces résultats démontrent l'homologie relative des ribosomes chloroplastiques avec ceux des bactéries, en particulier des cyanobactéries. Les chloroplastes des Rhodophytes ont une origine différente de ceux des Chlorophytes (Algues et Cormophytes) et sont compris dans le phylum des Cyanobactéries, ce que confirme leur ultrastructure et la présence de pigments semblables (chlorophylle a exclusivement et phycobiliprotéines). Lewin (1976, 1977) a décrit récemment un groupe de bactéries phototrophes oxygéniques, ectosymbiontes d'ascidies tropicales: le genre *Prochloron*. Ces Procaryotes se distinguent des Cyanobactéries par l'absence de phycobilisomes et la présence de deux types de chlorophylle, a et b. On a postulé qu'ils pourraient être plus étroitement apparentés à la lignée ayant conduit aux chloroplastes des Chlorophytes. Toutefois, la comparaison des séquences des ARNr 16s tend à réfuter cette hypothèse et place les *Prochloron* parmi les Cyanobactéries (Stackebrandt et al. 1982).

Cyanophora paradoxa est un flagellé renfermant des endosymbiontes semblables à des Cyanobactéries. Ces «Cyanelles» intracellulaires possèdent une paroi typique des bactéries à Gram négatif, avec une lame de peptidoglycane. Néanmoins, la dimension

de leur génome est réduite (tableau 1), proche de celle d'un chloroplaste d' *Euglena* (Herdman et Stanier 1977). Elles représenteraient alors une forme primitive de chloroplaste, ayant conservé plus que les autres des caractères du procaryote originel.

Tab. 1. Dimensions du génome de quelques chloroplastes (en Mdal). D'après Wallace (1982) et Herdman (1981)

Acetabularia cliftonii	1500
Chlorella pyrenoidosa	210–230
Chlamydomonas reinhardii	170–200
Cyanophora paradoxa	117–121
Euglena gracilis	92–150
Plantes vasculaires	80–120

L'endosymbiose chloroplastique a dû s'établir à plusieurs reprises au cours de l'évolution. Il est vraisemblable, en outre, que la cellule-hôte originelle possédait déjà des mitochondries. Contrairement à ce que l'on admettait le plus souvent autrefois, la cellule végétale dérive donc vraisemblablement d'une cellule hétérotrophe. Le problème le plus incertain est celui du datage de ces événements évolutifs. On n'a aucune preuve que le taux de mutation des ARNr ait été constant au cours de l'évolution, ni même qu'il ait été identique dans les différentes lignées. On ne peut donc sans autre placer une échelle de temps dans des dendrogrammes tels que celui de la fig. 2. Les résultats obtenus par la comparaison de certaines séquences génomiques devraient être corroborés par d'autres arguments (étude d'autres parties du génome, présence de composés ou de structures spécifiques à une lignée). Le cas de *Prochloron,* que l'analyse génomique place parmi les Cyanobactéries, tandis que les pigments et les systèmes de membranes sont différents, nous met en garde contre les généralisations hâtives.

Considérés comme des symbiontes, les chloroplastes sont bien représentatifs de l'aboutissement évolutif d'une symbiose obligatoire. Tout d'abord, le génome s'est considérablement réduit au cours de l'évolution (tableau 1). La paroi muréique a disparu, à l'exception des cyanelles de *C. paradoxa.* Certaines enzymes chloroplastiques sont codées par le noyau. La manifestation extrême de la symbiose est atteinte avec l'enzyme responsable de la fixation du CO_2 dans le cycle de Calvin: la ribulose-1,5-biphosphate carboxylase, probablement la protéine la plus abondante dans la biosphère. Elle est formée de seize sous-unités, huit petites à fonctions régulatrices, et huit grandes portant les sites catalytiques. Les deux génomes participent à la synthèse de la protéine active: celui du chloroplaste code les grandes sous-unités, celui du noyau les petites, l'assemblage se faisant dans le chloroplaste.

Conclusion

Les interactions à bénéfice mutuel entre bactéries et végétaux vasculaires se manifestent à tous les niveaux, depuis les échanges à l'échelle circumterrestre jusqu'à l'intimité du cytoplasme. Pour clarifier l'exposé, nous avons utilisé l'image des sphères emboîtées: biosphère, phytosphère, histosphère et cytosphère. En fait, il existe un gradient d'intimité continu entre la plante et les bactéries. L'établissement d'une symbiose peut

d'ailleurs impliquer plusieurs des sphères précitées. *Rhizobium* survit dans le sol distant (biosphère), sa croissance est stimulée au niveau de la rhizosphère, des lectines permettent son adhésion spécifique aux poils absorbants (rhizoplan), tandis que sa pénétration se fait à travers un tube cellulosique sécrété par la plante, l'isolant du cytoplasme des cellules corticales (histosphère); il s'installe enfin dans le cytoplasme des cellules tétraploïdes (cytosphère).

Les fonctions bactériennes au bénéfice de la plante sont d'autant plus spécialisées que l'intimité entre les partenaires est étroite. Un des principaux apports des bactéries aux plantes est la fixation de l'azote atmosphérique. Bien que cette propriété se manifeste chez de nombreux procaryotes phototrophes, elle n'a pas «accompagné» les chloroplastes dans leur évolution vers la symbiose extrême. Cela peut se comprendre, car le chloroplaste est le siège de la production d'oxygène moléculaire, lequel est à la fois répresseur et inhibiteur de la nitrogénase. Les cyanobactéries capables de fixer l'azote en conditions aérobies le font au niveau de cellules spécialisées, les hétérocystes, dépourvues du photosystème II. Les phénomènes hormonaux constituent eux aussi un exemple de l'adaptation intime et spécifique du monde bactérien et du monde végétal. Enfin, l'essence même de la cellule végétale: le chloroplaste; la fonction qui lui est associée: l'utilisation de l'énergie lumineuse et des électrons provenant de l'eau pour accomplir la synthése totale de la matière organique cellulaire à partir du gaz carbonique; et l'enzyme même responsable de la fixation du CO_2, ne constituent-ils pas l'exemple le plus parfait d'une symbiose poussée à l'extrême?

Nous avons eu le privilège d'accomplir nos études de biologie à l'Université de Neuchâtel, et plus spécialement à l'Institut de Botanique, dirigé par le professeur Claude Favarger, auquel nous dédions ce travail. Par sa vaste culture, par la richesse de son enseignement et par la cordialité et la disponibilité dont il les a toujours gratifiés, il a su éveiller chez ses élèves un intérêt pour la Biologie bien au delà de sa spécialité. S'il rencontre, dans ce travail, l'expression d'idées qui n'ont pas toujours été les siennes, qu'il sache que c'est à son ouverture d'esprit et à sa tolérance que nous devons d'avoir suivi un chemin, différent du sien peut-être, mais tendant vers le même but.

Bibliographie

Akkermans A. D. L. 1978. Root nodule symbiose in non-leguminous N_2-fixing plants. In: Dommergues Y. R. and Krupa S. V. (éd.): Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants. Elsevier Amsterdam, pp 335–372.

Bauer F. J. 1981. Infection of legumes by Rhizobia. Ann. Rev. Plant Physiol. 32: 407–449.

Becking J. H. 1976. Nitrogen fixation in some natural ecosystems in Indonesia. In: Nutman P. S. (éd.): Symbiotic nitrogen fixation in plants. Cambridge Univ. Press Cambridge, pp 539–550.

Bergersen F. J. 1978. Physiology of legume symbiosis. In: Dommergues Y. R. and Krupa S. V. (éd.): Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants. Elsevier, Amsterdam, pp 305–334.

Döbereiner J. and Day J. M. 1975. Associative symbioses in tropical grasses: characterization of microorganisms and dinitrogen fixation sites. In: Proc. Int. Symp. N_2 Fixation, Washington State Univ. Press, pp 518–538.

Dommergues Y. R. and Krupa S. V. (éd.) 1980. Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants. Elsevier, Amsterdam, 475 pp.

Duvignaud P. 1980. La synthèse écologique. 2e éd. Doin, Paris, 380 pp.

Fletcher L. M. 1976. Bacterial symbioses in the nodules of Myrsinaceae and Rubiaceae. In: Microbiology of aerial plant surfaces, Dickinson, C. H. and Preece T. F. (éd.). Academic Press, London, pp 465–486.

Fox G. E. and Woese C. R. 1977. Comparative cataloging of 16S ribosomal ribonucleic acid: molecular approach to procaryotic systematics. Int. J. Syst. Bacteriol. 27:44–57.
Fox G. E. *et al.* 1980. The phylogeny of Procaryotes. Science 209: 457–463.
Gray M. W. and Ford Doolittle W. 1982. Has the endosymbiont hypothesis been proven? Ann. Rev. Microbiol. 46: 1–42.
Herdman M. 1981. Deoxyribonucleic acid base composition and genome size of *Prochloron*. Arch. Microbiol. 129: 314–316.
Herdman M. and Stanier R. Y. 1977. The cyanelle: chloroplast or endosymbiotic procaryote? FEMS Microbiol. Letters 1: 7–12.
Kandler O. and Schleifer K.-H. 1980. Systematics of Bacteria. Fortschritte der Botanik 42: 234–252.
Lewin R. A. 1976. Prochlorophyta as a proposed new division of algae. Nature 261: 697–698.
Lewin R. A. 1977. *Prochloron,* type genus of the Prochlorophyta. Phycologia 16: 217.
McArthur R. H. and Wilson E. O. 1967. The theory of island biogeography. Princeton Univ. Press.
Maire N. 1983. Contribution à l'étude de la biomasse microbienne des sols et de son activité, par des méthodes biologiques globales. Thèse, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne.
Mangenot F. et Toutain F. 1980. Les litières. In: Pesson, P. Actualités d'écologie forestière, Gauthier-Villars, Paris, pp 3–59.
Margulis L. 1970. Origin of eukaryotic cells. Yale Univ. Press, New Haven.
Monod J. 1949. The growth of bacterial cultures. Ann. Rev. Microbiol. 3: 371.
Newton J. W. and Herman A. I. 1979. Isolation of cyanobacteria from a aquatic fern, *Azolla*. Arch. Microbiol. 120: 161–165.
Nutman P. S. 1976. Symbiotic nitrogen fixation in plants. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 584 pp.
Schlegel H. G. 1981. Allgemeine Mikrobiologie. 5. Aufl. Thieme, Stuttgart, 559 pp.
Schmidt E. L. 1978. Ecology of the Legume Root Nodule Bacteria. In: Dommergues Y. R. and Krupa S. V. (éd.): Interactions between non-pathogenetic soil microorganisms and plants. Elsevier, Amsterdam pp 269–304.
Silvester W. B. 1976. Endophyte adaptation in *Gunnera-Nostoc* symbiosis. In: Symbiotic nitrogen fixation in plants, Nutman P. S. (éd.). Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp 521–537.
Stackebrandt E. *et al.* 1982. The relatedness of *Prochloron* sp. isolated from different didemnid ascidian hosts. Arch Microbiol. 132: 216–217.
Wallace D. C. 1982. Structure and evolution of organelle genomes. Microbiol. Rev. 46: 208–240.
Winogradski S. 1949. Microbiologie du sol. Masson, Paris.