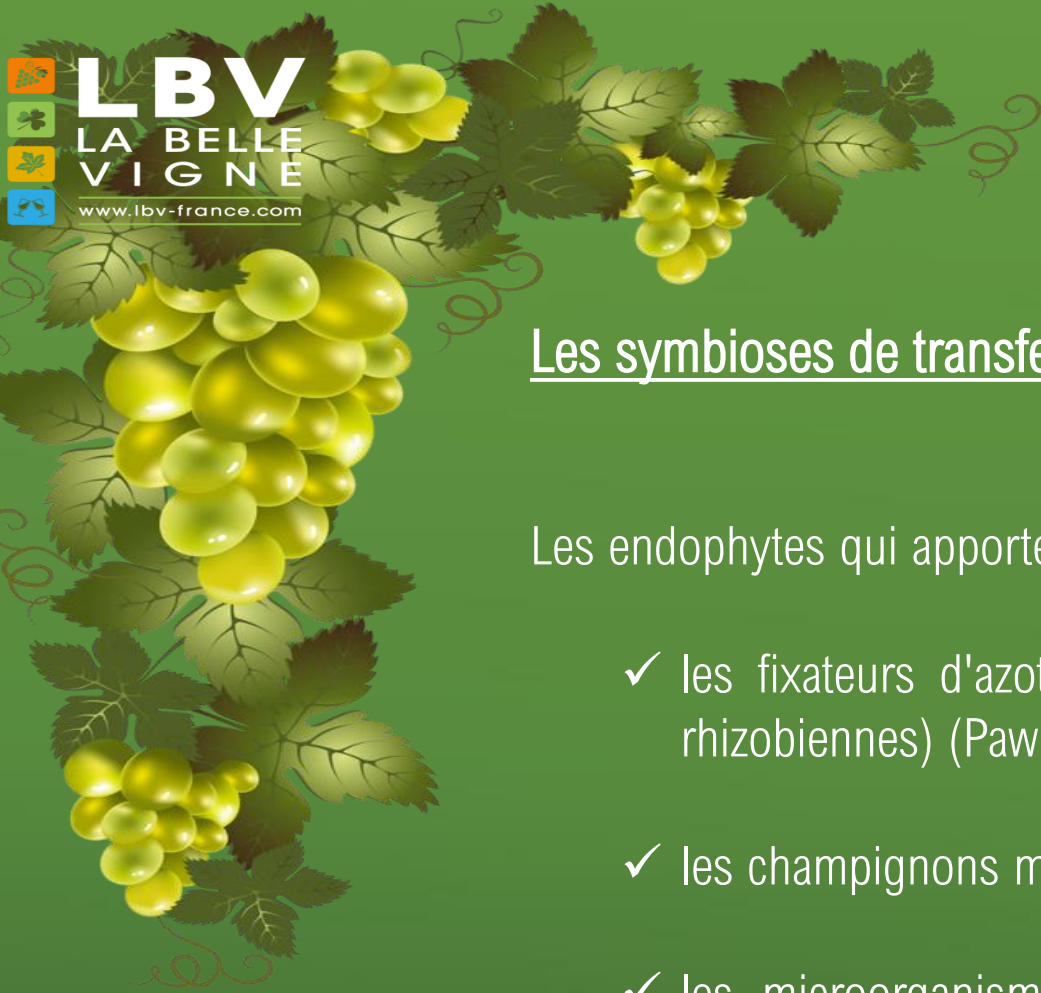


Partie II :

Rôles des microorganismes endophytes dans la nutrition des plantes





I) Les fonctions nutritionnelles des endophytes

Les symbioses de transfert de nutriments

Les endophytes qui apportent des nutriments aux plantes comprennent principalement :

- ✓ les fixateurs d'azote atmosphérique dans les tissus végétaux (symbioses actinorhiziennes et rhizobiennes) (Pawlowski et Demchenko, 2012; Coba de la Peña et *al.*, 2017)
- ✓ les champignons mycorhiziens (symbioses mycorhiziennes)
- ✓ les microorganismes symbiotiques qui consomment les insectes en décomposition et qui restituent ces nutriments à la plante hôte



Les symbioses actinorhiziennes et rhizobiennes

- *La symbiose actinorhizienne*

La symbiose actinorhizienne est une symbiose entre une plante angiosperme et une bactérie actinomycète du genre *Frankia* (figure 1 et 2).

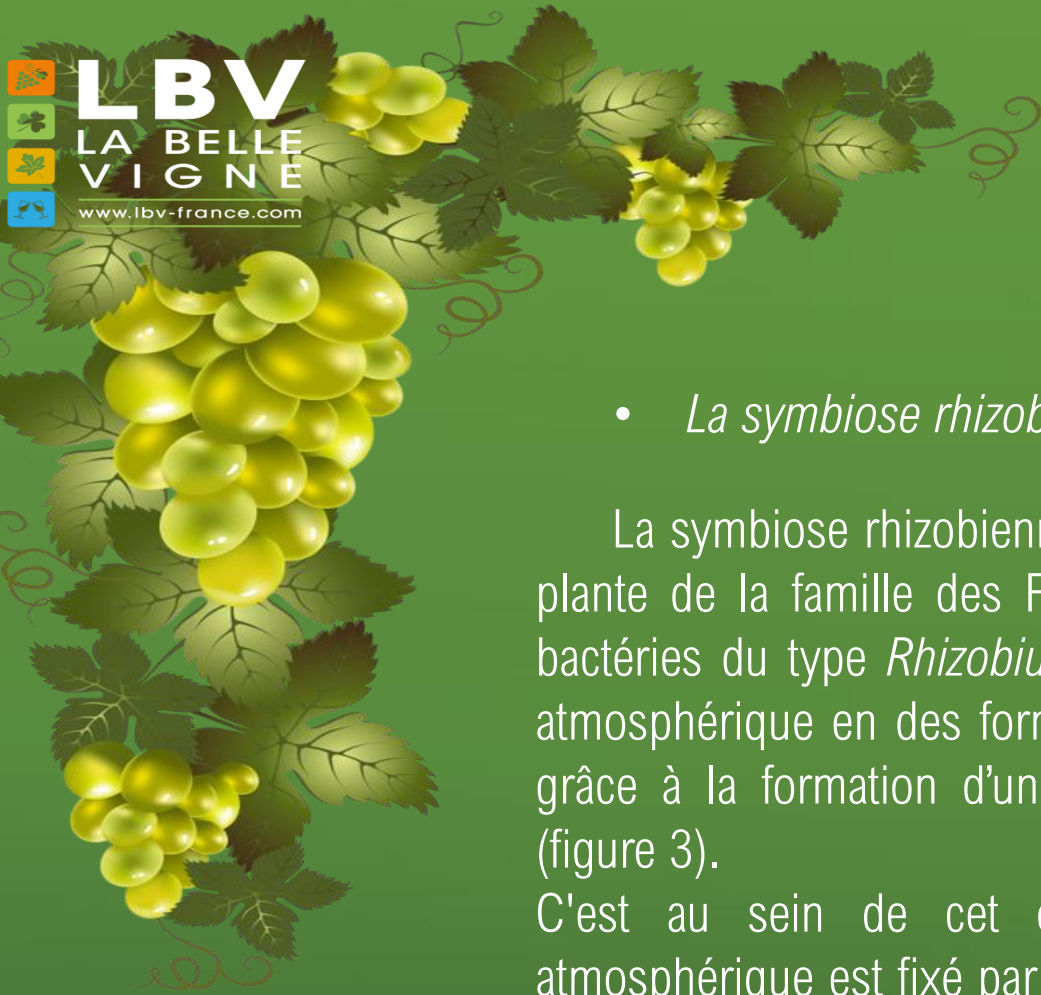
Ces plantes, principalement des arbres ou arbustes comme l'aulne et l'argousier, s'associent avec ce genre de bactérie pour former des nodosités fixatrices d'azote qu'on trouve au niveau des racines des plantes angiospermes dites actinorhiziennes.



Figure 1: Symbiose actinorhizienne: poil racinaire d'aulne ramifié avec des hyphes de *Frankia* (UMR Ecologie Microbienne Lyon)



Figure 2: Symbiose actinorhizienne: nodule racinaire d'un aulne.
(Lebrac, CC BY-SA 3.0)



- *La symbiose rhizobienne*

La symbiose rhizobienne est une association entre une plante de la famille des Fabaceae (légumineuses) et des bactéries du type *Rhizobium* permettant de réduire l'azote atmosphérique en des formes assimilables par les plantes grâce à la formation d'un nodule au niveau des racines (figure 3).

C'est au sein de cet organe protecteur que l'azote atmosphérique est fixé par les bactéries (Duhoux et Nicole, 2004).



Figure 3: nodosités sur des racines de haricot (symbiose rhizobienne) où prolifèrent les bactéries *Rhizobium* fixatrices de N_2 atmosphérique (D. Blancard, INRA).



La symbiose mycorhizienne

La symbiose mycorhizienne est le résultat de l'association symbiotique, appelée mycorhization, entre des champignons et les racines des plantes (figure 4).

Ces champignons mycorhiziens établissent ce genre de symbiose avec de nombreuses familles de plantes. Les hyphes de ces champignons poussent de façon endophyte dans les racines, et les mycéliums acquièrent des nutriments et les remobilisent pour les plantes en s'étendant dans le sol (Marschner et Dell, 1994).



Figure 4: Le champignon recouvre l'extrémité des radicelles de l'arbre d'un épais manteau (Simon Egli, WSL)

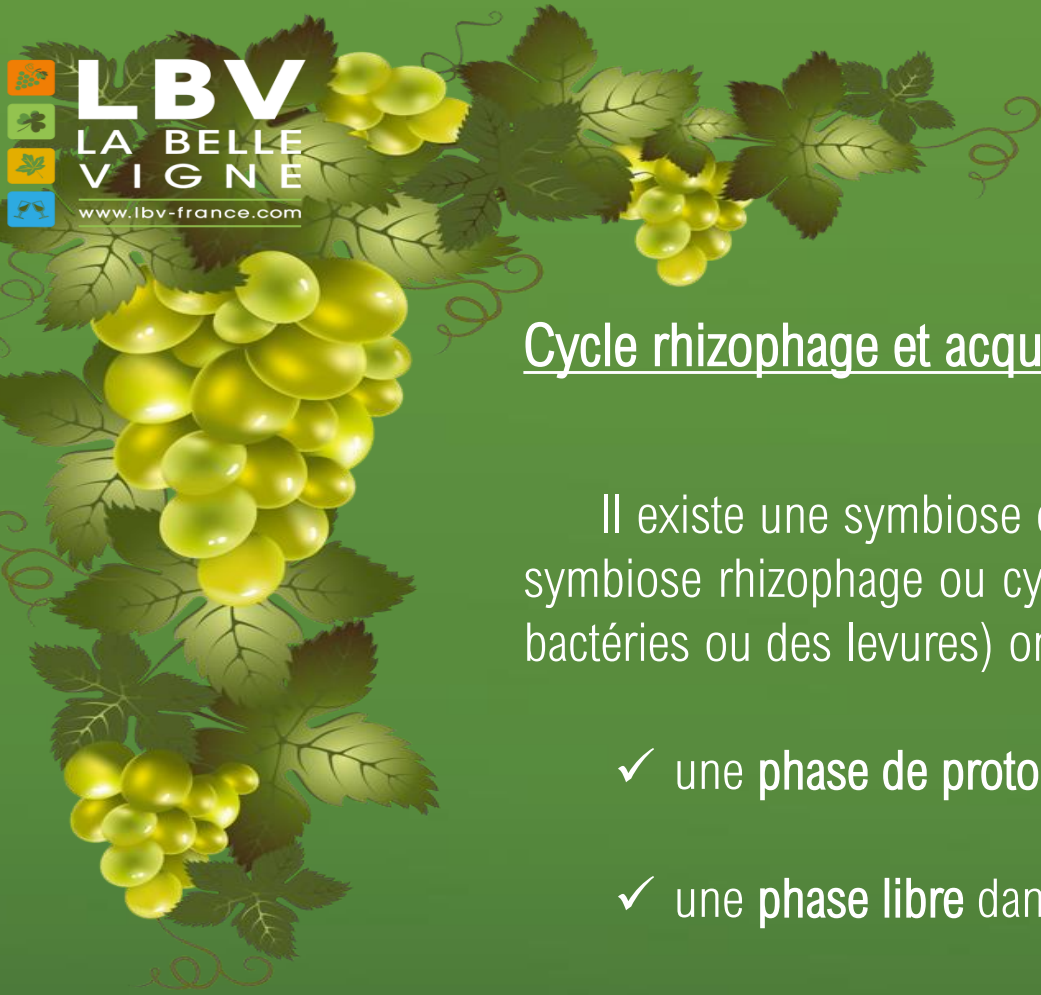


Les microorganismes symbiotiques qui consomment les insectes en décomposition

Les microorganismes s'étendent ou réalisent un cycle entre les plantes et les insectes en décomposition (Behie et Bidochaka, 2013).

Dans ce processus, les insectes consomment les plantes et accumulent de l'azote et d'autres nutriments dans leur corps.

La dégradation des insectes par les microorganismes, qui sont également en symbiose avec les plantes, entraîne le transfert de nutriments aux plantes (Behie et Bidochaka, 2013).



Cycle rhizophage et acquisition de nutriments

Il existe une symbiose différente des symbioses actinorhiziennes, rhizobiennes et mycorhiziennes : la symbiose rhizophage ou cycle rhizophage. Dans ce type de symbiose les microorganismes (souvent des bactéries ou des levures) ont un cycle alternant entre deux phases :

- ✓ une **phase de protoplaste** intracellulaire dans les cellules de la racine
- ✓ une **phase libre** dans le sol avec une paroi (White et *al.*, 2018^b)

Les microorganismes acquièrent les nutriments durant la phase libre dans le sol et ces nutriments sont extraits des microorganismes par oxydation durant la phase de protoplaste intracellulaire (White et *al.*, 2018^b).

Contrairement aux symbioses formant des nodules, le cycle rhizophage semble se produire dans la plupart des plantes vasculaires et représente probablement un mécanisme important pour l'acquisition de nutriments par les plantes (White et *al.*, 2018^a).



Le cycle rhizophage se déroule en 8 étapes.

✓ 1^{er} étape :

La plante fournit aux microorganismes des nutriments autour de l'extrémité du méristème de la racine (figure 5) via les exsudats racinaires (glucides, protéines, vitamines, acides organiques) (White et *al.*, 2018^b).

✓ 2^{ème} étape :

Les microorganismes sont assimilés dans les cellules racinaires méristématiques qui n'ont pas de parois cellulaires entièrement formées, juste sous la zone d'exsudation (White et *al.*, 2018^b).

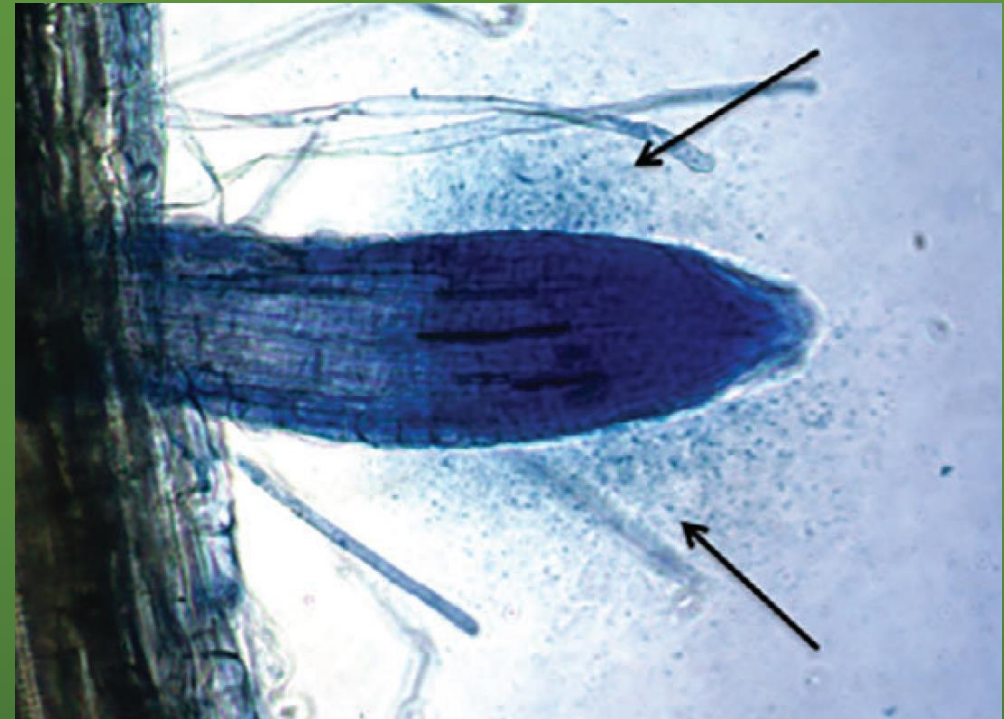


Figure 5 : Nuage de bactéries (flèches) autour de l'extrémité du méristème des racines de *Phragmites australis* (White et *al.*, 2019^b).



Figure 6 : Poil absorbant de racine de gazon *Cynodon dactylon* inoculé avec la bactérie *Pseudomonas* sp. montrant des protoplastes bactériens (flèches) dans l'espace périplasmique du poil absorbant (barre = 15 μ m) (White et al., 2019^b).

✓ 3^{ème} étape :

Une fois qu'ils sont assimilés, les microorganismes se trouvent dans l'espace périplasmique qui se situe entre la paroi et la membrane cytoplasmique des cellules racinaires (figure 6).

Les cellules racinaires sécrètent alors un superoxyde* sur les microorganismes. Ce superoxyde est produit par la NADPH oxydase qui est liée à la membrane plasmique des cellules racinaires (White et al., 2018^b ; White et al., 2014^b).

✓ 4^{ème} étape :

L'exposition des microorganismes intracellulaires au superoxyde déclenche la perte de leur paroi cellulaire.

Les bactéries forment alors des protoplastes appelées « formes L », tandis que les champignons forment des protoplastes appelées « mycosomes » (Atsatt et Whiteside, 2014).

* Ce superoxyde O_2^- est produit par la membrane cytoplasmique des cellules racinaires grâce à l'oxydation du NADPH par O_2 . Cette réaction est catalysée par la NADPH oxydase et aboutit aussi à la formation d'un proton H^+ et de $NADP^+$ ($NADPH + O_2 \rightarrow H^+ + O_2^- + NADP^+$).



Figure 7 : Cellule de parenchyme racinaire de *P. australis* montrant des protoplastes de bactéries se répliquant (flèches) dans l'espace périplasmique de la cellule (barre = 15 μ m) (White et *al.*, 2019^b).

✓ 5^{ème} étape :

Les protoplastes des microorganismes se reproduisent dans les cellules racinaires grâce à la cyclose* des protoplastes.

Elle entraîne une réplication accrue des protoplastes microbiens et de nombreux petits protoplastes sont ainsi formés à partir des cellules microbiennes intracellulaires originelles (White et *al.*, 2019^b).

✓ 6^{ème} étape :

L'exposition des protoplastes bactériens intracellulaires au superoxyde entraîne une fuite d'électrolytes des protoplastes bactériens.

Ces nutriments sont alors absorbés à travers la membrane plasmique par les cellules racinaires des plantes (White et *al.*, 2018^b).

* La cyclose désigne le mouvement du cytoplasme d'une cellule.



Figure 8 : Poils absorbants de trèfle (*Trifolium repens*) inoculés avec une levure endophyte (*Rhodotorula* sp.) montrant la levure expulsée à l'extrémité des poils absorbants de la racine (flèches noires) et les protoplastes de levure dans les poils absorbants de la racine (flèche blanche) (barre= 15 μ m) (White et al., 2019^b).

✓ 7^{ème} étape :

Les microorganismes intracellulaires survivants s'accumulent à l'extrémité des poils absorbants de la racine. Ils déclenchent ainsi l'élongation des poils absorbants de la racine (White et al., 2019^b).

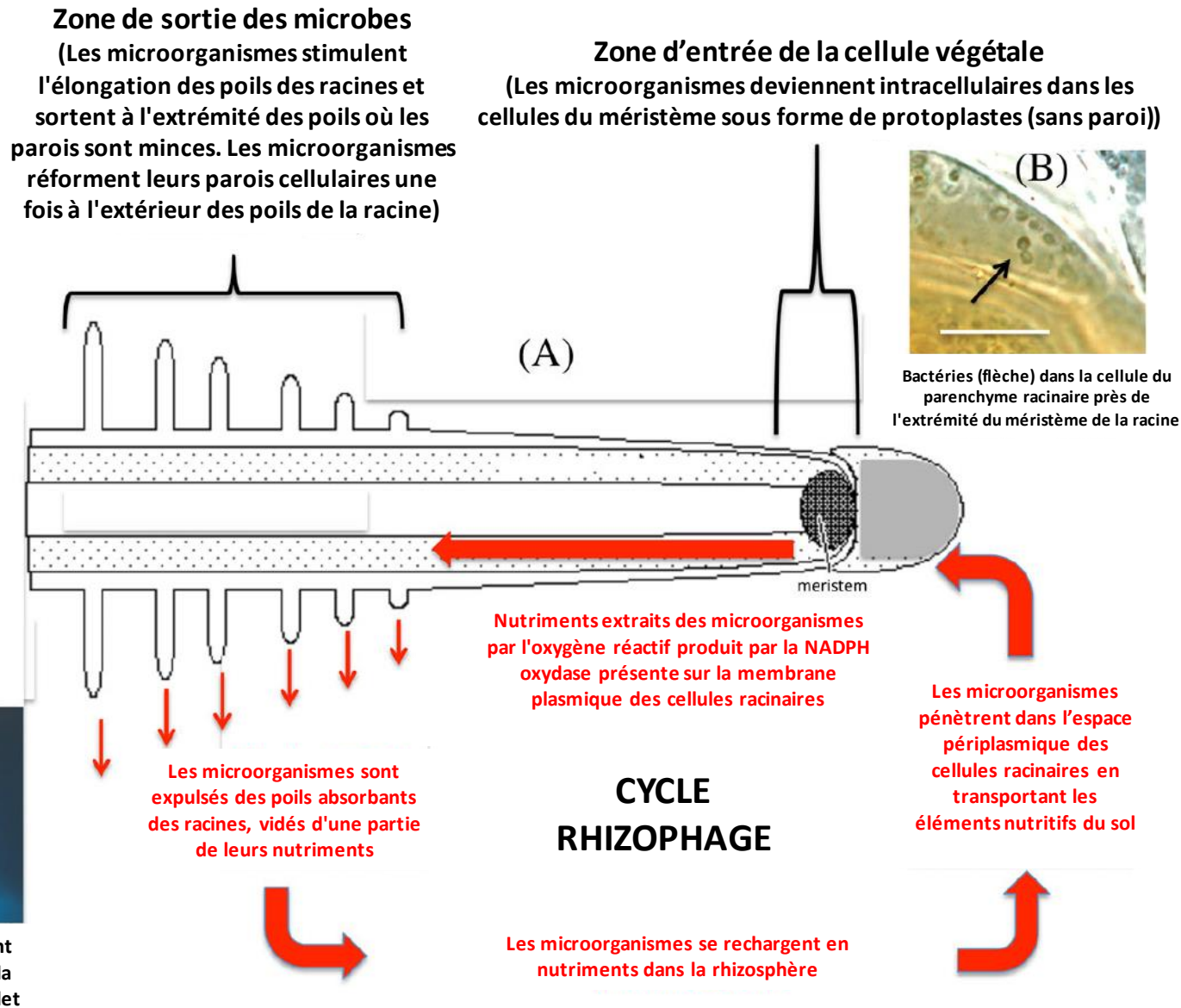
✓ 8^{ème} étape :

Les protoplastes microbiens sont périodiquement éjectés* par les pores qui se forment à l'extrémité des poils absorbants de la racine (figure 8).

Les microorganismes ainsi expulsés des cellules racinaires reforment leur paroi cellulaire lorsqu'ils rentrent dans la rhizosphère et ils se rechargent en nutriment. (White et al., 2018^b).

* Le stimulus qui pousse les poils absorbants de la racine à éjecter périodiquement les protoplastes microbiens est inconnu. Cependant, le mécanisme probable d'éjection peut être dû à un gonflement de la vacuole du poil absorbant (augmentation de la concentration en potassium dans la vacuole) qui se propage de la base du poil jusqu'à son extrémité, expulsant ainsi de force les protoplastes microbiens du poil absorbant de la racine.

Schéma reprenant les étapes principales du cycle rhizophage (figure 9).

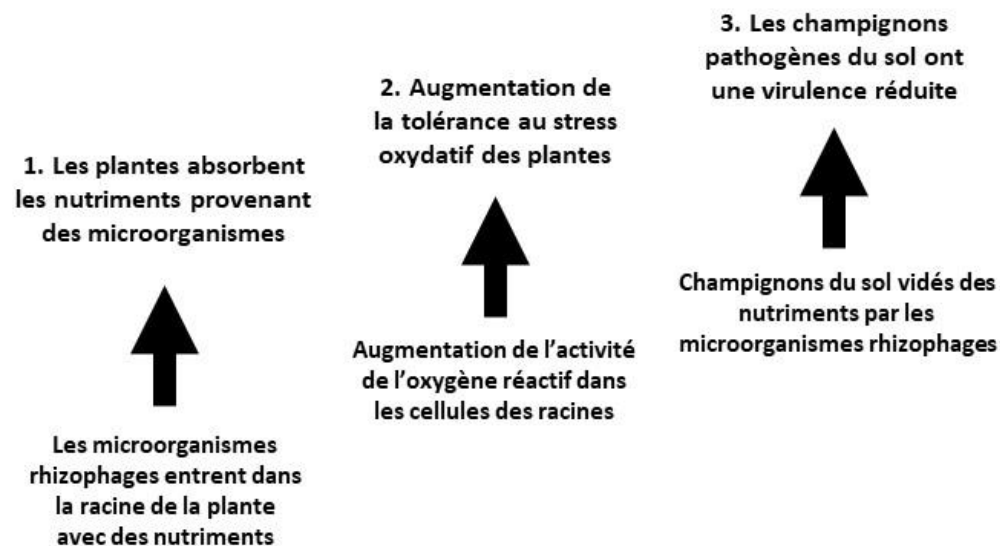


- Dans le cycle rhizophage, les plantes cultivent des microorganismes qui fonctionnent comme des porteurs de nutriments et soutiennent la croissance des plantes.
- 30 % environ de l'azote absorbé par les plantes herbacées proviennent du cycle rhizophage (Hill et *al.*, 2013 ; Paungfoo-Lonhienne et *al.*, 2013 ; White et *al.*, 2015).
- Contrairement aux symbioses formant des nodules, le cycle rhizophage semble se produire dans la plupart des plantes vasculaires et représente probablement un mécanisme important pour l'acquisition de nutriments par les plantes (White et *al.*, 2018^a).

Figure 9 : Représentation schématique reprenant les principales étapes du cycle rhizophage : (A) Diagramme du cycle rhizophage montrant les microorganismes entrant dans les cellules racinaires au niveau de l'extrémité du méristème de la racine et sortant des cellules racinaires à l'extrémité des poils absorbants allongés de la racine. Les microorganismes du cycle rhizophage alternent entre une phase de protoplaste intracellulaire et une phase libre dans le sol. Les nutriments du sol sont acquis dans la phase libre du sol et extraits de manière oxydative dans la phase de protoplaste intracellulaire. (B) Montre les bactéries (flèche) dans l'espace périplasmique de la cellule du parenchyme racinaire près de l'extrémité de la racine d'une plantule d'Agave sp. (barre = 20 µm). (C) Bactéries (flèche) émergeant de l'extrémité des poils absorbants de la racine d'une plantule de gazon (barre = 20 µm). Figure provenant de *Microorganisms* 6 (3) : 95 (2018).

Bénéfices du cycle rhizophage et flux de nutriments (figure 10 et 11).

Figure 10 : Trois résultats bénéfiques de la symbiose rhizophage (White et *al.*, 2019^b)



Les résultats bénéfiques comprennent :

- 1) les plantes obtiennent des éléments nutritifs de microorganismes intériorisés
- 2) la production accrue d'oxygène réactif dans les racines entraîne une tolérance accrue au stress oxydatif chez les plantes
- 3) le pillage des éléments nutritifs des champignons du sol par les microorganismes rhizophage entraîne une réduction de la virulence des pathogènes potentiels dans la communauté microbienne du sol

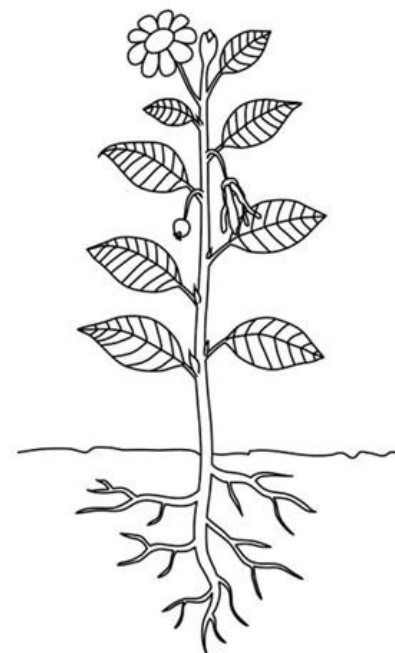
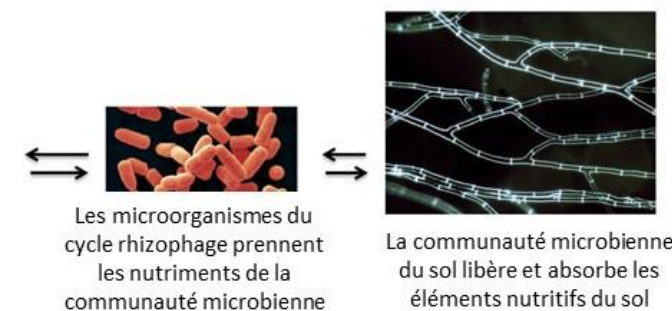
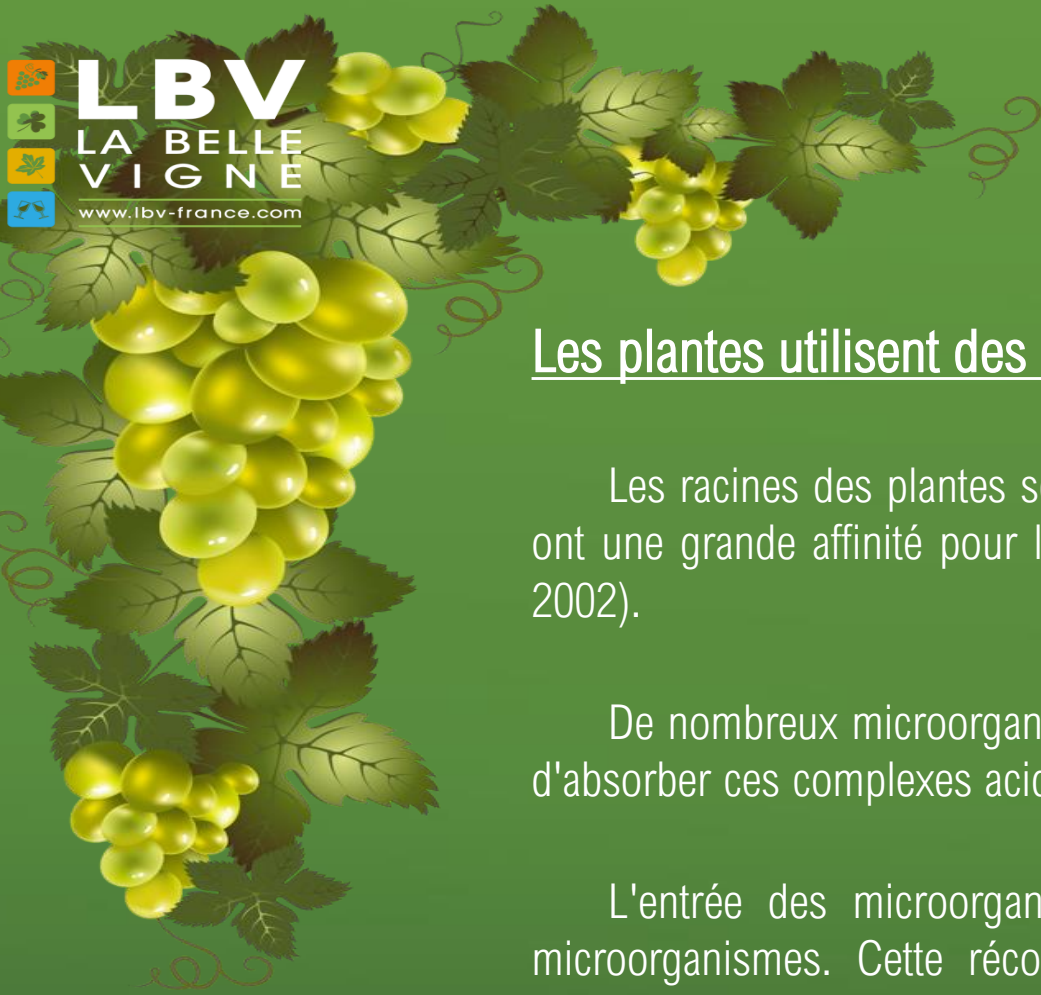


Figure 11 : Flux de nutriments (White et *al.*, 2019^b)



En terme de flux de nutriments, les microorganismes rhizophages servent de médiateurs entre la plante et la communauté microbienne du sol; les microorganismes rhizophages transportent les éléments nutritifs de la communauté microbienne du sol vers la plante.



Les plantes utilisent des microorganismes pour extraire les métaux du sol

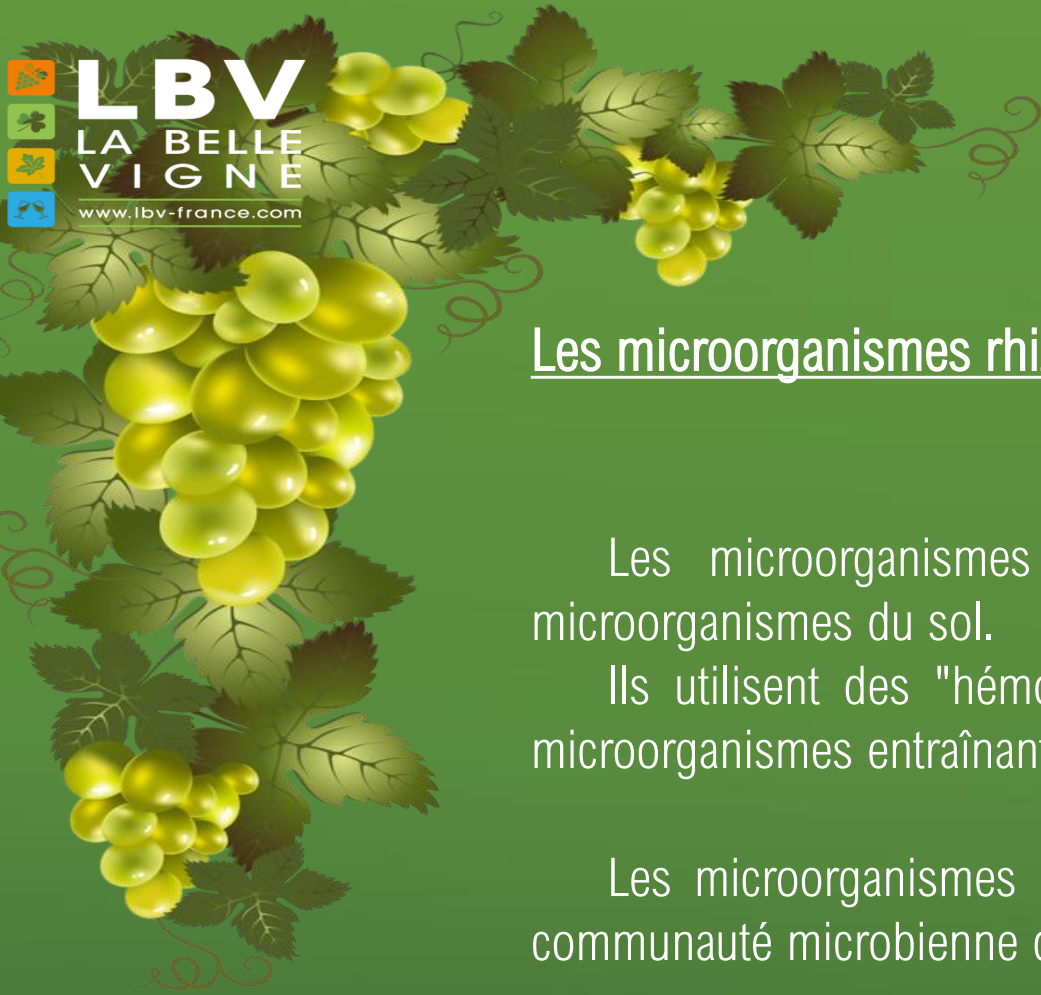
Les racines des plantes sécrètent des acides organiques (l'acide acétique, l'acide citrique et l'acide malique) qui ont une grande affinité pour les métaux, notamment le fer, le zinc, le cuivre et le magnésium (Warner et Lolkema, 2002).

De nombreux microorganismes possèdent des transporteurs à grande affinité qui leur permettent de détecter et d'absorber ces complexes acides organométalliques (Warner et Lolkema, 2002).

L'entrée des microorganismes dans les cellules racinaires permet aux plantes d'extraire les métaux des microorganismes. Cette récolte de métaux donne aux plantes les éléments nutritifs du sol essentiels à leur subsistance et à leur croissance qui ne sont pas accessibles directement par leurs racines.



L'acquisition de micronutriments difficile à obtenir (fer, cuivre, zinc) est une fonction clé du cycle rhizophage. Les microorganismes possèdent des sidérophores qui séquestrent efficacement les oligo-éléments. Beaucoup de ces microorganismes sont mobiles et se déplacent dans les sols en acquérant les nutriments indisponibles pour la plante (White et *al.*, 2018^a).



Les microorganismes rhizophages prennent les nutriments d'autres microorganismes du sol

Les microorganismes rhizophages ont la capacité d'extraire les éléments nutritifs d'autres microorganismes du sol.

Ils utilisent des "hémolysines" (biosurfactants) qui forment des pores dans les membranes des microorganismes entraînant ainsi la fuite d'éléments nutritifs (Braun et Focareta, 1991).

Les microorganismes rhizophages peuvent ainsi accéder aux éléments nutritifs contenus dans la communauté microbienne du sol et les ramener à la plante.

Les microorganismes rhizophages réalisent le même processus sur les membranes des hyphes mycéliens (White et *al.*, 2014^a; Verma et White, 2018; Irizarry et White, 2018).

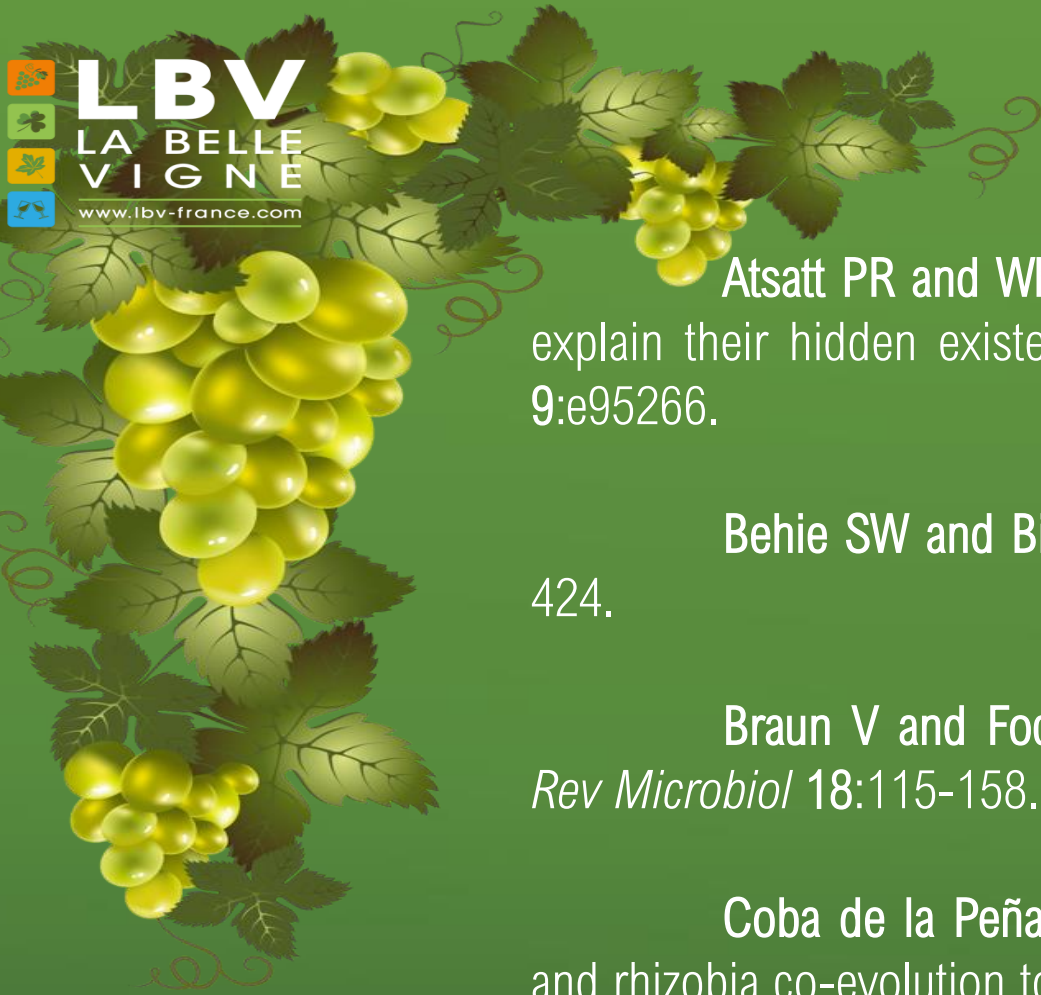


Effet inhibant du CO₂ dans le cycle rhizophage

L'augmentation du CO₂ atmosphérique aurait pour conséquence une réduction de l'efficacité du cycle rhizophage : des recherches récentes ont montré l'existence d'une relation inverse entre le niveau de CO₂ atmosphérique et l'efficacité de l'extraction des éléments nutritifs des sols (Myers et *al.*, 2014).

En effet, le superoxyde produit par la NADPH oxydase est inhibé par le CO₂ : les plantes ne peuvent donc plus extraire les nutriments présents dans les microorganismes dans le cycle rhizophage (Kogan et *al.*, 1997).

Les plantes en C₄ seraient donc plus adaptées à l'augmentation du CO₂ atmosphériques que les plantes en C₃ : les plantes en C₄ séquestrent le CO₂ dans l'oxaloacétate et il n'est donc pas disponible pour inhiber la formation du superoxyde O₂⁻.



Références bibliographiques

Atsatt PR and Whiteside MD. (2014). Novel symbiotic protoplasts formed by endophytic fungi explain their hidden existence, lifestyle switching, and diversity within the plant kingdom. *PLoS ONE*. 9:e95266.

Behie SW and Bidochaka MJ. (2013). Insects as a nitrogen source for plants. *Insects*. 4:413-424.

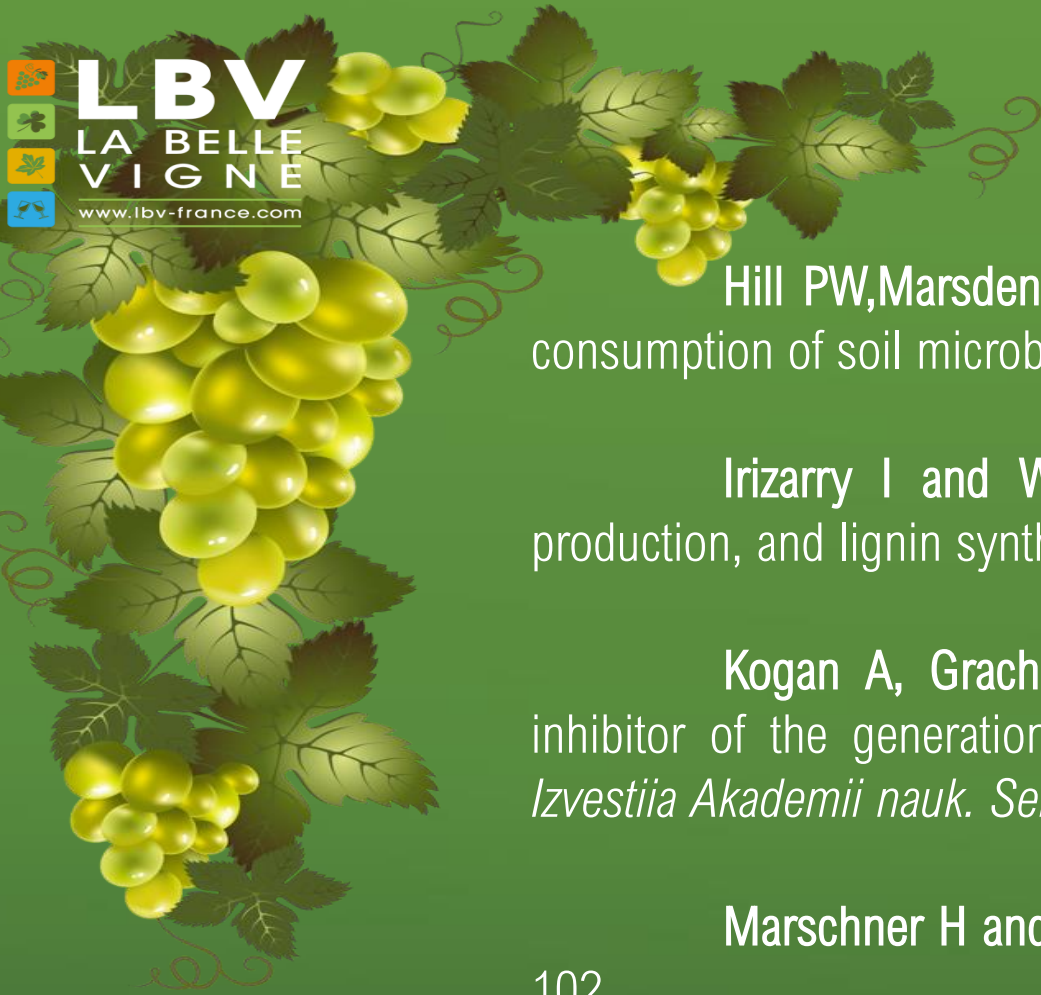
Braun V and Focareta T. (1991). Pore-forming bacterial protein hemolysins (cytolysins). *Crit Rev Microbiol* 18:115-158.

Coba de la Peña T, Fedorova E, Pueyo JJ and Lucas MM (2017). The Symbiosome: legume and rhizobia co-evolution toward a nitrogen-fixing organelle? *Front Plant Sci* 8:2229.

Duhoux E, et Nicole M. (2004). Biologie végétale. *Association et interaction chez les plantes*. Ed. dunod, 93, 18-80.

Hill PW, Marsden KA and Jones DL. (2013). How significant to plant N nutrition is the direct consumption of soil microbes by roots? *New Phytol*. 199:948-955.





Hill PW, Marsden KA and Jones DL. (2013). How significant to plant N nutrition is the direct consumption of soil microbes by roots? *New Phytol.* **199**:948-955.

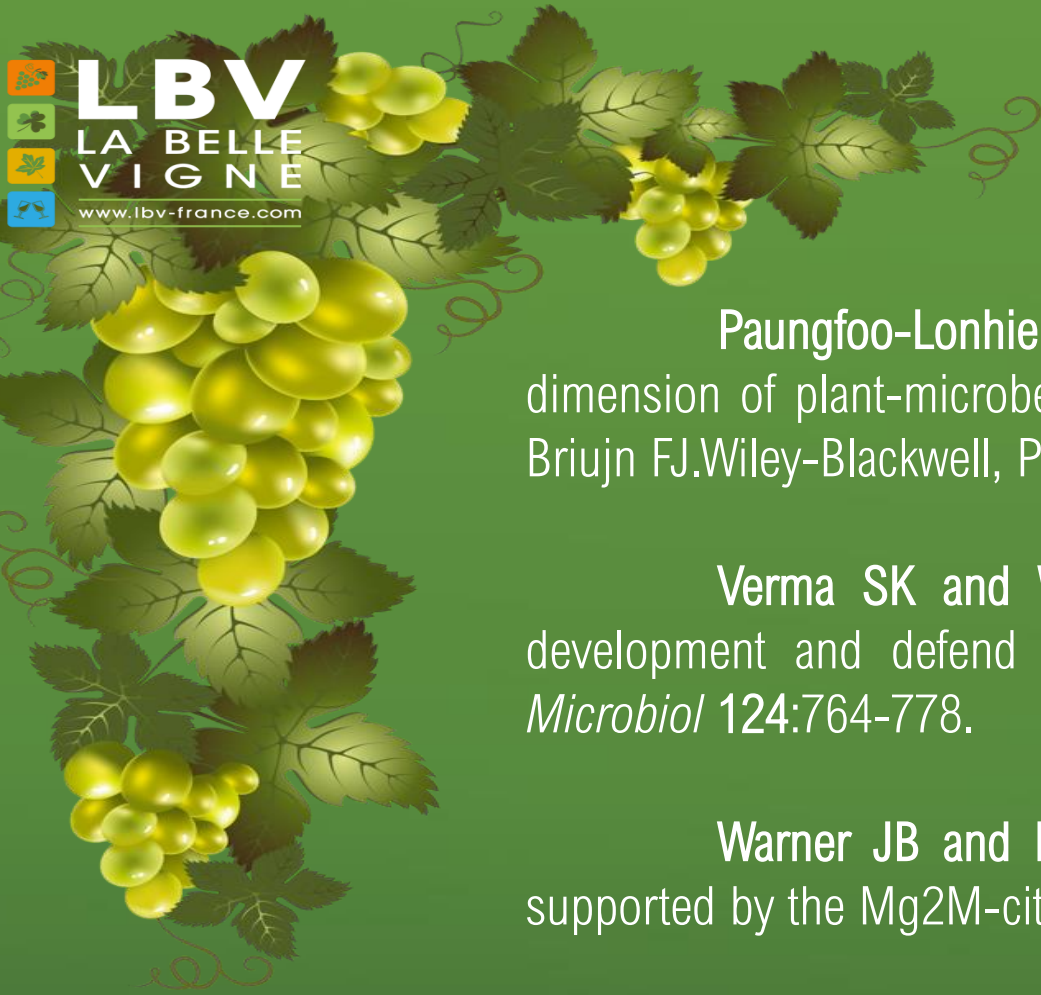
Irizarry I and White JF. (2018). *Bacillus amyloliquefaciens* alters gene expression, ROS production, and lignin synthesis in cotton seedling roots. *J Appl Microbiol.* **124**:1589-1603.

Kogan A, Grachev SV, Eliseeva SV, and Bolevich S. (1997). Carbon dioxide--a universal inhibitor of the generation of active oxygen forms by cells (deciphering one enigma of evolution). *Izvestiia Akademii nauk. Seriya biologicheskaya*, **2**:204-217.

Marschner H and Dell B. (1994). Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil.* **159**:89-102.

Myers S, Zanolatti A, Kloog I, Huybers P, Andrew D, Leakey B et al. (2014). Increasing CO₂ threatens human nutrition. *Nature.* **510**:139-142.

Pawlowski K and Demchenko KN (2012). The diversity of actinorhizal symbiosis. *Protoplasma* **249**:967-979.



Paungfoo-Lonhienne C, Schmidt S, Webb R and Lonhienne T. (2013). Rhizophagy : a new dimension of plant-microbe interactions, in *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*, ed. by de Briujn FJ. Wiley-Blackwell, Pub John Wiley & Sons, Inc, Somerset, New Jersey.

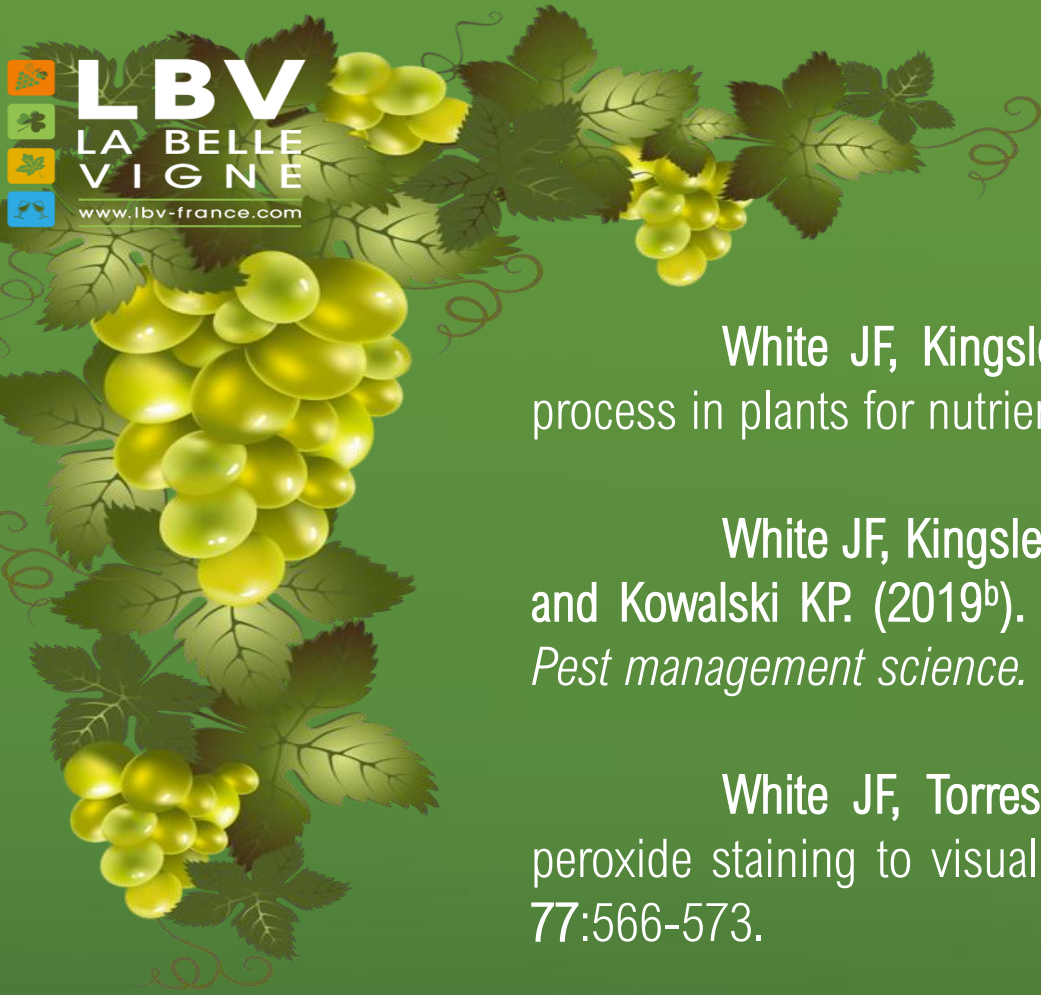
Verma SK and White JF. (2018). Indigenous endophytic seed bacteria promote seedling development and defend against fungal disease in browntop millet (*Urochloa ramosa* L.). *J Appl Microbiol* 124:764-778.

Warner JB and Lolkema JS. (2002). Growth of *Bacillus subtilis* on citrate and isocitrate is supported by the Mg²⁺-citrate transporter CitM. *Microbiology* 148:3405-3412.

White JF, Torres MS, Sullivan R, Jabbour R, Chen Q, Tadych M et al. (2014^a). Occurrence of *Bacillus amyloliquefaciens* as a systemic endophyte of vanilla orchids. *Microscopy Res Tech* 77:874-885. <https://doi.org/10.1002/jemt.22410>.

White JF, Chen Q, Torres MS, Mattera R, Irizarry I, Tadych M et al. (2015). Collaboration between grass seedlings and rhizobacteria to scavenge organic nitrogen in soils. *AoB Plants* 7:plu093.





White JF, Kingsley KL, Verma SK and Kowalski K. (2018^b). Rhizophagy cycle: an oxidative process in plants for nutrient extraction from symbiotic microbes. *Microorganisms*, 6:95.

White JF, Kingsley KL, Zhang Q, Verma R, Obi N, Dvinskikh S, Elmore MT, Verma SK, Gond SK and Kowalski KP. (2019^b). Endophytic Microbes and Their Potential Applications in Crop Management. *Pest management science*. 75(10): 2558-2565.

White JF, Torres MS, Somu MP, Johnson H, Irizarry I, Chen Q et al. (2014^b). Hydrogen peroxide staining to visualize intracellular bacterial infections of seedling root cells. *Microsc Res Tech*. 77:566-573.

White JF, Torres MS, Verma SK, Elmore MT, Kowalski KP and Kingsley KL. (2018^a). Evidence for widespread microbivory of endophytic bacteria in roots of vascular plants through oxidative degradation in root cell periplasmic spaces, in *PGPR Amelioration in Sustainable Agriculture: Food Security and Environmental Management*, ed. by Kumar A, Singh A and Singh V. Elsevier, New York, New York.

