

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université A.MIRA-BEJAIA**



**Faculté des Sciences de la nature et de la vie.**  
**Département de Microbiologie**

# **Mémoire**

**Pour l'obtention du diplôme de Master**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Option : Biotechnologie Microbienne**

**Thème :**

**Rôle des phytohormones dans la régulation de la symbiose**  
**Légumineuse-Rhizobia**

**Présenté par : AFROUN Mohand Arezki**

**Soutenu le : 14 juillet 2022. Devant le Jury composé de :**

<b>Mme ADJEROUD N.</b>	<b>Univ. de Béjaia</b>	<b>Présidente</b>
<b>Mme SALMI A.</b>	<b>Univ. de Béjaia</b>	<b>Encadreuse</b>
<b>Mme BOUREBABA Y.</b>	<b>Univ. de Béjaia</b>	<b>Examinatrice</b>

**Année Universitaire : 2021 / 2022**

## **Remerciements**

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Je tiens tous d'abord à remercier la directrice de ce mémoire, Madame SALMI ADOUDA, pour tout le temps qu'elle m'a consacré tout au long de la réalisation de ce mémoire, je tiens également à remercier très respectueusement les membres du jury d'avoir évalué ce travail.

Un remerciement spécial pour ma famille, particulièrement pour mes sœurs qui n'ont pas cessé de me soutenir et de m'encourager pour atteindre mes objectifs durant toute ma scolarité et plus particulièrement lors de la réalisation de ce mémoire.

Je ne saurais terminer sans remercier tous les amis qui m'ont soutenu durant la réalisation de ce mémoire, je m'abstiens de les nommer tellement la liste est longue.

## Table des matières

<b>Introduction .....</b>	<b>1</b>
---------------------------	----------

### **Chapitre I : Généralités sur les partenaires symbiotiques**

I. la symbiose fixatrice de l'azote.....	3
II. Légumineuses .....	4
II. 1. Taxonomie.....	4
II. 2. Intérêt des légumineuses .....	5
III. Partenaire bactérien.....	6
III.1. Caractéristiques.....	7

### **Chapitre II : Interaction légumineuse-rhizobium**

I. Dialogue moléculaire et signalisation symbiotique .....	8
I .1. Flavonoïdes.....	9
II. Spécificité de la symbiose .....	9
III. Processus de nodulation des légumineuses .....	10
III. 1.Types de nodules .....	14
III. 2. Génétique de nodulation .....	16
III. 2. 1. Facteur <i>Nod</i> .....	16
III. 2. 2. Gènes <i>Nod</i> .....	17
IV. Fixation biologique de l'azote .....	17
IV. 1. Généralités .....	17
IV.2. Nitrogénase .....	18
IV .2 .1. Dinitrogénase (protéine MoFe) .....	18
IV .2 .2. Dinitrogénase réductase.....	19
IV. 3. Génétique de la réduction de l'azote .....	19
IV. 4. Protection de la nitrogénase.....	20
IV. 5. Mécanisme moléculaire de la fixation biologique de l'azote .....	21

### **Chapitre III: Phytohormones et régulation de la symbiose legumineuse-rhizobia**

I. Système hormonal des plantes .....	24
---------------------------------------	----

I. 1. Définition.....	24
I. 2. Importance du système hormonal chez les plantes.....	25
I. 3. Perception des phytohormones.....	25
I. 4. Phytohormones et leurs biosynthèses.....	27
I. 4.1. Auxines.....	27
I. 4.2. Cytokinines.....	28
I. 4.3. Ethylène.....	29
I. 4.4. Gibbérellines.....	30
I. 4.5. Strigolactones.....	30
I. 4.6. Acide abscissique.....	30
I. 4.7. Acide salicylique.....	31
I. 4.8. Acide jasmonique.....	32
I. 4.9. Brassinostéroïdes.....	33
II. Régulation des interactions légumineuses-Rhizobia.....	33
II. 1. Auxines.....	34
II. 2. Cytokinines.....	35
II.2. 1. Interaction entre l'auxine et les cytokinines.....	36
II. 3. Gibbérellines.....	37
II. 4. Brassinostéroïdes.....	38
II. 5. Ethylène.....	38
II. 6. Acide abscissique.....	39
<b>Conclusion.....</b>	<b>41</b>

## **Références bibliographiques**

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I:</b> Caractéristiques des nodosités déterminées et indéterminées .....	15
<b>Tableau II:</b> Gènes <i>nif</i> et <i>fix</i> identifiés chez <i>S. meliloti</i> , et leur fonction.....	20
<b>Tableau III:</b> Phytohormones et leurs rôles chez la plante.....	26

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Photographies des racines des plantes portant des nodules. ....	4
<b>Figure 2.</b> Phylogénie des trois grande sous familles Légumineuses .....	5
<b>Figure 3.</b> Photographies illustrant la diversité des sous familles de légumineuses.....	6
<b>Figure 4.</b> Arbre phylogénétique simplifié de l'ADNr 16S d' $\alpha$ et $\beta$ <i>protéobactéries</i> .....	7
<b>Figure 5.</b> Dialogue moléculaire rhizobium-légumineuse. ....	8
<b>Figure 6.</b> Comparaison des phylogénies moléculaires bactériennes et des légumineuses .....	10
<b>Figure 7.</b> Photographies de bactéroïdes ( <i>Bradyrhizobium sp.</i> ORS285).....	12
<b>Figure 8.</b> Infection bactérienne et formation du primordium nodositaire .....	13
<b>Figure 9.</b> Types de nodules chez les Légumineuses.....	15
<b>Figure 10.</b> Voie de signalisation par facteur <i>Nod</i> .....	16
<b>Figure 11.</b> Structure de la nitrogénase .....	18
<b>Figure 12.</b> Représentation schématique du cycle d'activation de la nitrogénase.....	22
<b>Figure 13.</b> Schéma simplifié du métabolisme symbiotique au sein des cellules de la nodosité fixatrice.....	23
<b>Figure 14.</b> Structures chimiques générales des neuf familles d'hormones végétales .....	24
<b>Figure 15.</b> Voie de Biosynthèse de l'auxine .....	27
<b>Figure 16.</b> Intervention du complexe protéique HMGR1-NORK dans la synthèse de CK.....	28
<b>Figure 17.</b> Synthèse d'Ethylène .....	29
<b>Figure 18.</b> Biosynthèse de Acide abscissique .....	31
<b>Figure 19.</b> Biosynthèse de Acide salicylique.....	31
<b>Figure 20.</b> Biosynthèse d'acide jasmonique .....	32
<b>Figure 21.</b> Biosynthèse de Brassinostéroïde .....	33
<b>Figure 22.</b> Voies de signalisation de l'auxine. ....	35
<b>Figure 23.</b> Rôle des cytokinines dans le processus d'infection et de nodulation.....	36
<b>Figure 24.</b> Rôles des auxines et des cytokinines lors des interactions symbiotiques.....	37
<b>Figure 25.</b> Rôle de l'éthylène dans l'inhibition locale de la nodulation.....	39
<b>Figure 26.</b> Modèle du développement du primordium nodolaire et de l'intervention des facteurs <i>Nod</i> et des phytohormones .....	40

## LISTE DES ABREVIATIONS

**ABA** : Acide Abscissique

**ABI1** :ABA Insensitive 1

**ABI3** :ABA Insensitive 3

**Ac** : Acetyl.

**AcMeFuc** : Fucosyl méthylé et acétylé.

**ADN** : Acide DésoxyriboNucléique.

**ADP** : Adénosine Diphosphate.

**AG** : Acide Gibbérellique.

**AHPs** : Aspartate-Histidine Phospho- transfer proteins.

**ANR** : Anthocyanidine Réductase.

**Ara** : Arabinosyl.

**ATP** : Adénosine Triphosphate.

**BNL** : Bactéries Nodulant les Légumineuses.

**BRs** : Brassinostéroïdes.

**Cb** : Carbamoyl.

**CHS** : Chalcone Synthase.

**CHR** : Chalcone Réductase.

**CHI** : Chalcone Isomérase.

**Cks** : Cytokinines.

**CRE** : Cytokinin Receptor.

**DFR** : DihydroFlavonol Réductase.

**DMAPP** :Diméthylallylpyrophosphate .

**Enod** : Early nodulin genes.

**ERN1** :Ethylene Responsive Element-binding Factor (ERF) Required for Nodulation 1

**ET** : Éthylène.

**F3H** : Flavanone 3 Hydroxylase.

**F3'H** : Flavonoïde 3' Hydroxylase.

**F3',5'H** : Flavonoïde 3',5'Hydroxylase.

**FLS** : Flavonol Synthase.

**FNS I** : Flavanone Synthase I.

**FNS II** : Flavanone Synthase II.

**Fuc** : Fucosyl.

**GAs** : Gibbérellines.

**GID1** : Gibberellin Insensitive.

**ha** : Hectare.

**IAA** : Indole-3-Acetic Acid.

**IFR** : Isoflavone Réductase.

**IFS** : Isoflavone Synthase.

**Kd** : Kilodalton.

**LAR** : Leucoanthocyanidine Réductase.

**LDOX** : Leucoanthocyanidine Dioxygénase.

**LCOs** : Lipo-chitooligosaccharides.

**LegHb** : Leghémoglobine.

**LPS** : Lipopolysaccharides.

**LPWG** : The Legume Phylogeny Working Group.

**LRR-RLK** : Leucine-Rich Repeat Receptor-Like protein Kinase.

**Me** : Methyl.

**MeFuc** : Fucosyl méthylé.

**Mo** : Molybdène.

**M. truncatula** : Medicago truncatula.

**N<sub>2</sub>O** : Protoxyde d'azote.

**NF** : Nodule Facteurs.

**NIN** : Nodule Inception.

**NPA** : N-(1-naphtyl) Phtalamique.

**NXR** : Nitrite oxidoreductase.

**PAMPs** : Pathogen Associated Molecular Patterns.

**Pb** : Paire de bases.

**PH** : Potentiel Hydrogène.

**Pi** : Phosphate inorganique.

**PYRs** : Pyrobactines.

**SMeFuc** : Fucosyl Méthylé et Sulfaté.

**Spp** : Espèces non identifiées.

# **Introduction**

La croissance des plantes dépend de la disponibilité des éléments minéraux dans le sol et notamment de la quantité d'azote sous forme assimilable. L'azote est l'un des éléments les plus abondants, constituant près de 80 % de l'atmosphère où il est présent sous forme de diazote gazeux ( $N_2$ ), chimiquement très stable et inutilisable par la plupart des organismes vivants. Les formes utilisables d'azote sont assez rares dans la biosphère, notamment dans les systèmes agricoles (**Maathuis, 2009**).

Certaines plantes, en particulier celles appartenant à la famille des légumineuses, ont tiré bénéfice de la fixation biologique de l'azote atmosphérique, en mettant en place des interactions symbiotiques avec des bactéries diazotrophes appartenant aux  $\alpha$ - et  $\beta$ -*protéobactéries*, collectivement appelées rhizobia (**Sprent *et al.*, 2013**).

L'interaction symbiotique conduit au développement d'un nouvel organe généralement au niveau des racines, « le nodule », au sein duquel les bactéries se différencient en bactéroïdes capables de fixer l'azote atmosphérique, grâce à leur activité nitrogénase, et le transférer à la plante sous une forme combinée assimilable. En contrepartie, la plante fournit les éléments nutritifs assurant le développement de la bactérie. Grâce à leur capacité à établir des symbioses avec des bactéries fixatrices d'azote, les légumineuses participent à la revégétalisation des écosystèmes pauvres en azote, en s'établissant comme flore pionnière. Elles constituent par ailleurs une source d'alimentation extrêmement importante aussi bien pour l'homme que pour l'animal (**Azani *et al.*, 2017**).

L'interaction symbiotique entre ces deux partenaires ne se fait pas au hasard mais elle repose sur un réseau complexe de boucle de régulation. En effet la symbiose est caractérisée par un système de régulation, harmonieux et reproductible, rendu possible grâce à des signaux chimiques interne qu'on appelle hormones végétales ou phytohormones (**Foo *et al.*, 2019**). Les chapitres du présent manuscrit ont pour objectif de comprendre les mécanismes permettant à des micro-organismes fixateurs d'azote d'interférer avec des programmes développementaux endogènes de la plante chez les légumineuses, et de comprendre la mise en place de ce système de régulation permettant la fixation biologique de l'azote. Une attention particulière a été portée à la description de ce système symbiotique.

Le travail est divisé en trois chapitres : Le premier chapitre comprend une présentation des connaissances générales sur les deux partenaires. Dans le second chapitre on a décrit les interactions symbiotiques entre ces deux partenaires, l'organogenèse des nodosités et le mécanisme enzymatique de la fixation biologique de l'azote. Finalement, dans le troisième chapitre, nous avons porté une attention particulière sur le rôle des phytohormones dans la régulation de la symbiose légumineuse-rhizobia.

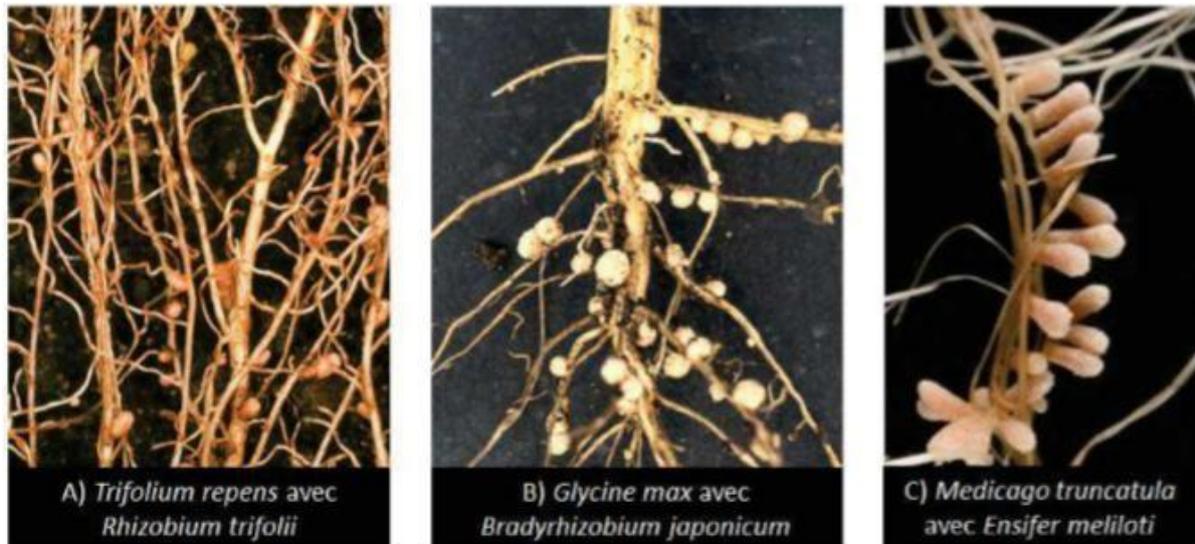
**Chapitre I :**  
**Généralités sur les partenaires  
symbiotiques**

## I. Symbiose fixatrice de l'azote

L'azote (N) est l'un des principaux éléments chimiques limitant la croissance des plantes. La plupart des plantes ne peuvent bénéficier de l'azote que sous forme minérale, c'est-à-dire sous forme de nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), ou d'ion ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), ce qui peut se réaliser par deux voies : la voie industrielle par le procédé Haber-Bosch, il s'agit d'un procédé chimique servant à la synthèse de l'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) par hydrogénation du diazote ( $\text{N}_2$ ) gazeux atmosphérique par le dihydrogène ( $\text{H}_2$ ) gazeux en présence d'un catalyseur (**Smil, V. 2002**), ou par la voie biologique qui présents dans le sol en quantité variable. Pourtant, la plus grande réserve d'azote est l'atmosphère, qui contient plus de 78% d'azote sous forme de  $\text{N}_2$  (**Maathuis, 2009**).

Au cours de l'évolution, certains organismes procaryotes ont acquis la faculté biologique de fixer l'azote atmosphérique. Cette capacité, appelée diazotrophie, nécessite chez le procaryote la présence d'une enzyme dite nitrogénase, qui transforme le  $\text{N}_2$  en  $\text{NH}_3$ . Ces organismes peuvent fixer l'azote à l'état libre. Lorsque des associations sont réciproquement profitables, elles sont appelées symbioses fixatrices d'azote. Ce type de symbiose semble être apparu dans un contexte de sols carencés en azote (**Sprent and James, 2007**).

Parmi ces symbioses, la plus répandue dans le règne végétal (20% des plantes sont concernées) est l'interaction symbiotique entre des plantes de la famille des légumineuses (pois, haricot, soja, arachide, trèfle, luzerne, etc.), et des bactéries fixatrices d'azote réunies sous le nom de rhizobia. Cette symbiose est apparue il y a 60 millions d'années, (**Sprent and James, 2007**). Lors de la symbiose légumineuse-rhizobium, les bactéries interagissent généralement avec les racines des plantes laissant apparaître un organe racinaire particulier : la nodosité (**Figure 1**). Cet organe, dont l'organogénèse est induite par la présence des rhizobia, est une interface d'échange entre les deux partenaires. Les bactéries pénètrent dans la nodosité, et y réalisent la fixation de l'azote, tandis que la plante les pourvoie en carbone (**Sprent et al., 2013 ; Mendes et Raaijmakers, 2015**).



**Figure 1** : Photographies des racines de plantes portant des nodules

## II. Légumineuses

### II.1 Taxonomie

Les légumineuses sont des végétaux regroupés dans la famille des Fabacées (*Fabaceae*), l'ordre des Fabales, de la classe des *Dicotyledoneae* et de la sous classe des *Rosidaeae*. Les légumineuses se classent au troisième rang dans la famille des angiospermes, après les *Asteraceae* et les *Orchidaceae* (Doyle and Luckow, 2003). Représentées par 770 genres et près de 20 000 espèces, les légumineuses se subdivisent en six sous-familles (Azani et al., 2017). Les *Papilionoideae* (Figure 2) représentent la sous famille la plus diversifiée (Figure 3), comprenant 478 genres et environ 14 000 espèces tropicales et tempérées. A l'exception du genre *Parasponia* de la famille des *Ulmaceae*, toutes les plantes aptes à établir des symbioses fixatrices d'azote avec des bactéries du sol de type rhizobium appartiennent à la superfamille des *Fabaceae*. Les espèces tropicales (*Phaseoloides*), de la tribue des *Phaseoleae*, comprennent les genres : *Cajanus* (pois cajan), *Glycine* (soja), *Phaseolus* et *Vigna* (haricot). Les espèces tempérées (Galegoides) comprennent plusieurs tribu dont (i) *Vicieae*, constitué des genres : *Lens* (lentille), *Vicia* (vesce), *Pisum* (pois) ; (ii) *Trifolieae* : *Medicago* (luzerne), *Melilotus* (mélilot), *Trifolium* (trèfle) ; (iii) *Cicereae* : Cicer (pois chiche) et (iv) *Loteae* : *Lotus* (lotier) (Young et al., 2003). Les *Papilionoideae* sont principalement des herbacées et plus rarement des arbres et des arbustes, particulièrement adaptées aux

conditions méditerranéennes. Les *Mimosoideae* (77 genres et 3 000 espèces) et les *Caesalpinioideae* (171 genres et 3 000 espèces) se composent essentiellement d'arbres et d'arbustes des régions tropicales et subtropicales (Azani *et al.*, 2017).

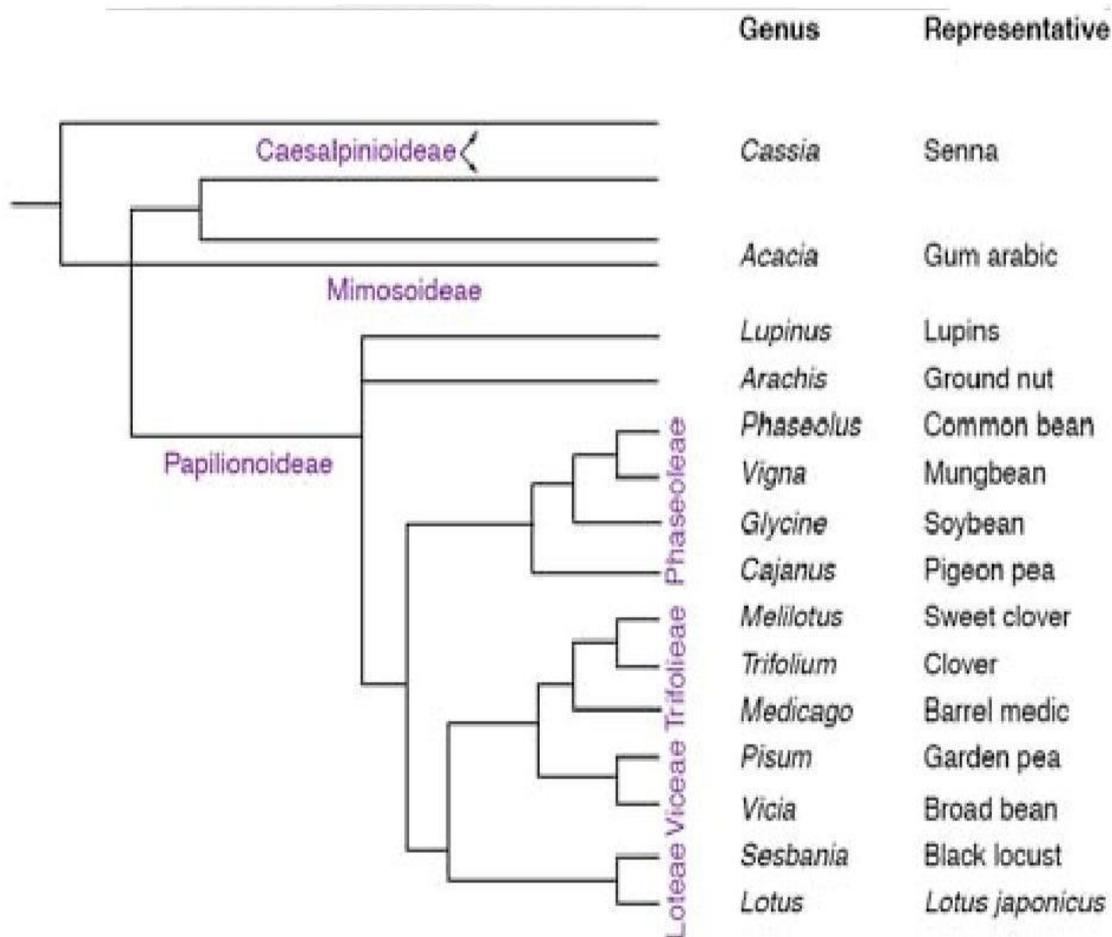
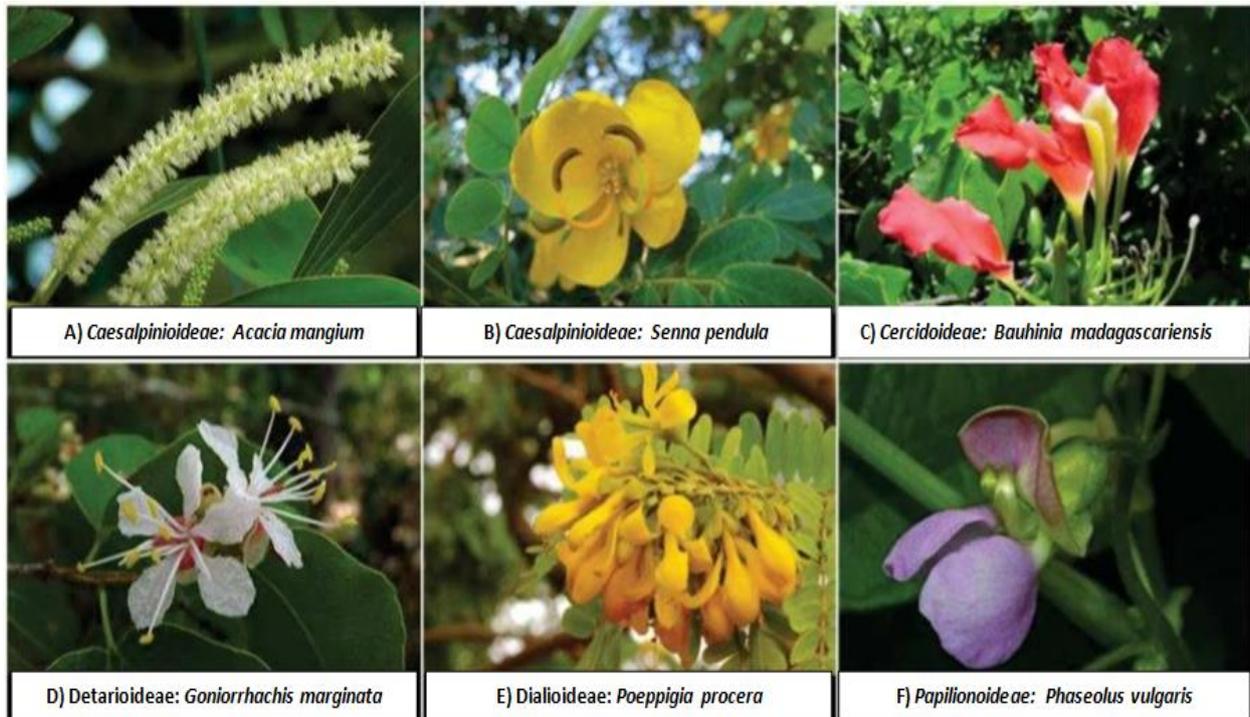


Figure 2 : Phylogénie des trois grandes sous familles de légumineuses (Udvardi *et al.* 2005).

## II.2.Intérêt des legumineuses

Les légumineuses ont un rôle essentiel sur le plan économique. L'ONU a nommé l'année 2016 par « année internationale des légumineuses » afin de sensibiliser le monde de leur intérêt sur le plan nutritionnel, ainsi qu'écologique en faveur d'un maintien d'une agriculture durable et d'une biodiversité face au changement climatique. A la lumière de leur capacité à fixer l'azote atmosphérique, en association avec des rhizobia, les légumineuses constituent une grande source de protéines. Elles assurent aussi un maintien durable de la

fertilité des sols et de l'équilibre des écosystèmes. Elles servent de plantes pionnières et initiatrices de succession écologique pour revégétaliser les sols très pauvres et dégradés, elles sont utilisées également comme engrais vert azotés qui pourront être utilisés par d'autres plantes non symbiotiques (Graham et Vance, 2003).

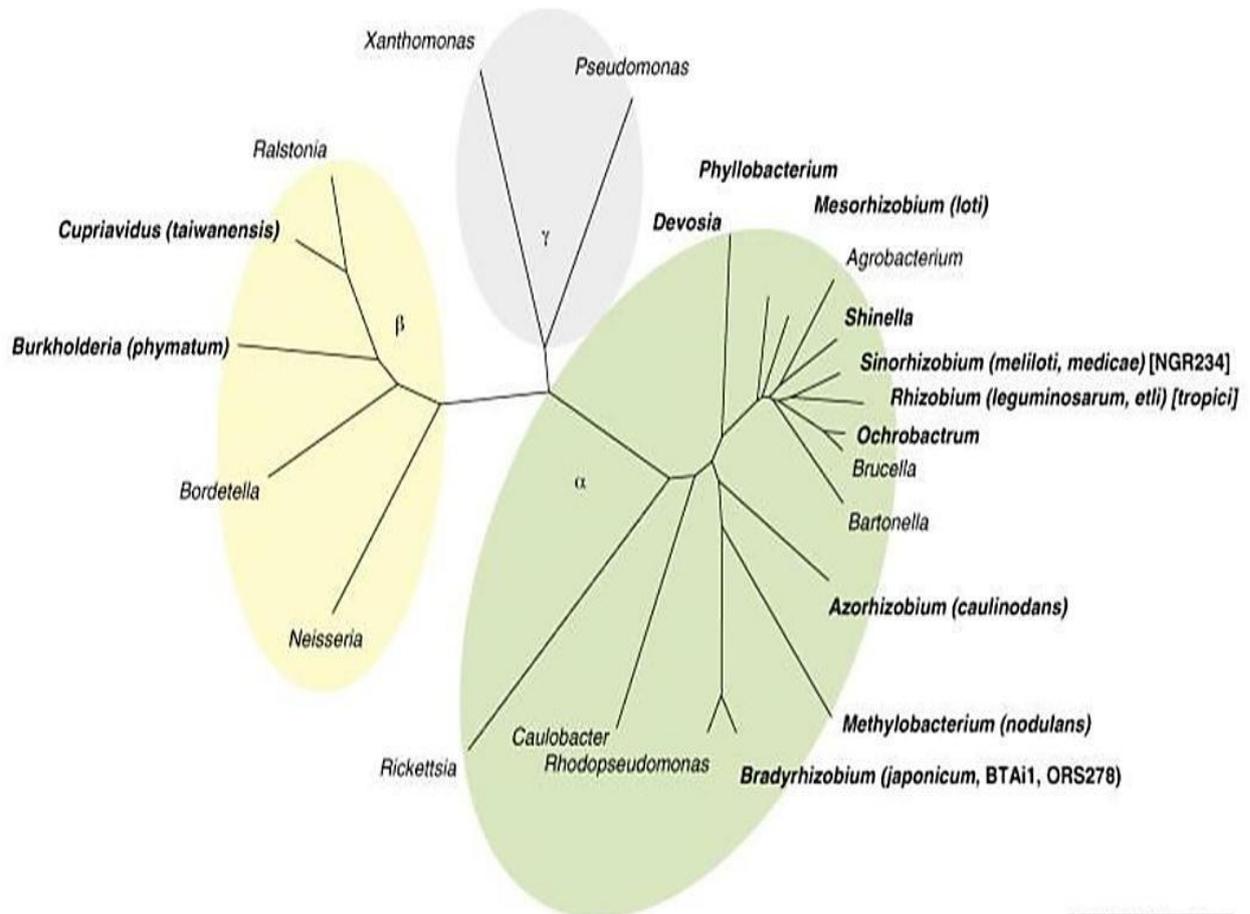


**Figure 3** : Photographies illustrant la diversité des sous familles de légumineuses.

### III. Partenaire bactérien

Les rhizobia sont des bactéries de rhizosphère capables d'établir des symbioses fixatrices d'azote avec des légumineuses et de favoriser leur croissance dans les sols pauvres en azote (Sprent, 2009). Ainsi, les rhizobia sont utilisés comme engrais biologiques et en tant qu'inoculant dans l'agriculture depuis plus d'un siècle (Van Kessel et Hartley, 2000).

L'introduction de la taxonomie numérique et l'analyse moléculaire de séquences multiloci (MLSA) de gènes de ménage tels que l'ADNr 16S, ont permis de distinguer des nouveaux genres et de décrire de nouvelles espèces parmi les Rhizobium, et de réviser la phylogénie des *Rhizobiaceae* (Mousavi *et al.*, 2015). Sur la base du séquençage de l'ADNr 16S (Lindström *et al.*, 2015), plus de 20 genres et 200 espèces sont actuellement définis, répartis dans les classes  $\alpha$  et  $\beta$  des *Protéobactéries* (Figure 4).



**Figure 4.** Arbre phylogénétique simplifié basé sur l'analyse de séquences de l'ADNr16S d' $\alpha$  et  $\beta$  protéobactéries (Masson-Boivin et al., 2009).

### III. 1. Caractéristiques

Tous les rhizobia caractérisés sont des bactéries à Gram-négatives, non sporulantes et généralement mobiles constituent les symbiotes prédominantes de la plupart des espèces de légumineuses. On distingue deux formes chez les Rhizobia. Une forme bâtonnets réguliers de 1,2 à 3  $\mu\text{m}$  de longueur sur 0,5 à 0,9  $\mu\text{m}$  de large, pourvus d'un flagelle polaire, et une forme bactéroïde à l'intérieur des nodules. Ces bactéries possèdent, contrairement aux autres microorganismes fixateurs de l'azote, une très haute spécificité d'hôte. Ainsi, chaque espèce de rhizobia s'associe plus ou moins spécifiquement avec une espèce de légumineuse. Elles n'acquièrent en général leur capacité à fixer l'azote atmosphérique qu'au sein des nodules sur les racines ou les tiges des légumineuses (Czernic et al., 2015).

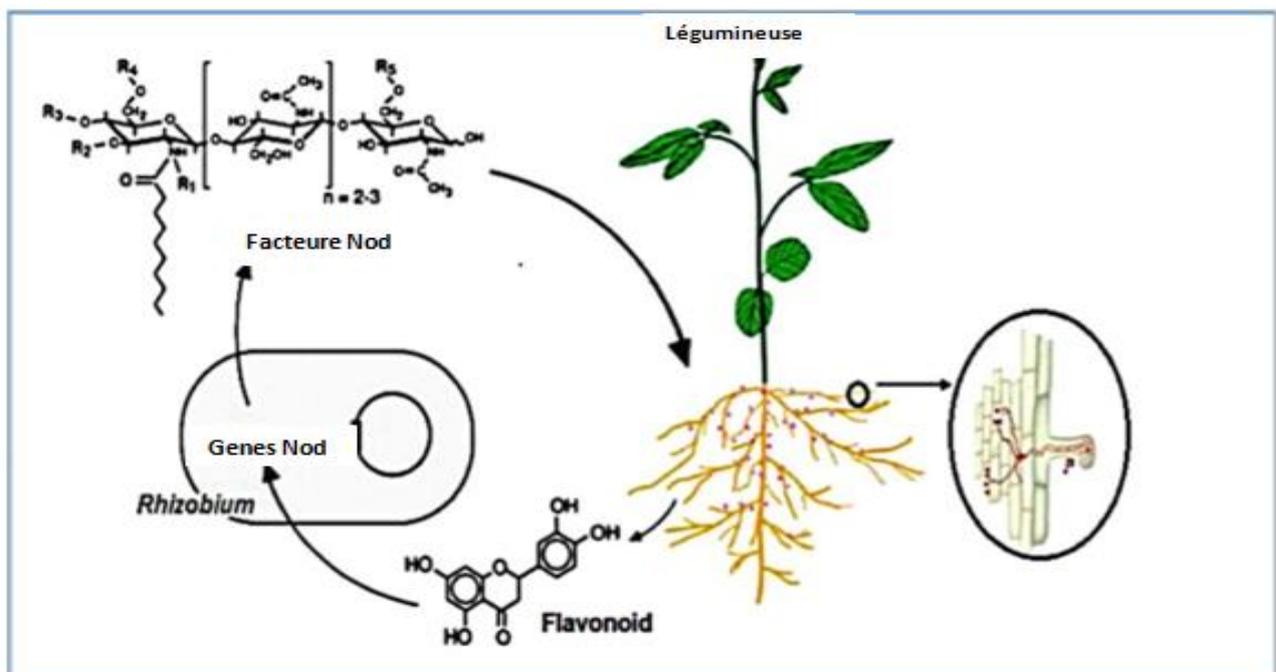
**Chapitre II :**  
**Interaction légumineuse-rhizobium**

## I .Dialogue moléculaire et signalisation symbiotique

Les rhizobia vivent dans la rhizosphère sous une forme libre et ne peuvent pas fixer l'azote que lors de la mise en place de l'associations symbiotiques avec des plantes hôtes compatibles, en formant des organes spécifiques: les nodules (**Patriarca *et al.*, 2004**).

Les nodules formés sont le résultat d'un dialogue moléculaire entre le rhizobium et la plante hôte, de nombreux signaux moléculaires spécifiques sont échangés tout au long de la formation de la nodosité, nécessaire à la reconnaissance mutuelle entre la plante et ses symbiontes (**Figure 5**) (**Oldroyd, 2013**).

La plante hôte sécrète dans le sol des composés de diverses natures tels que des glucides, des acides organiques, et différents dérivés phénoliques qui peuvent induire des changements sur le microbiote du sol. Parmi les composés sécrétés, des flavonoïdes (flavone, chalcone, isoflavonoïdes,...) peuvent être perçus par les rhizobia qui sont alors attirés par chimiotactisme vers les racines (**Perret *et al.*, 2000**) (**Figure 5**). Il existe un spectre d'hôte pour chaque rhizobium conditionné par la nature de l'exsudat racinaire sécrété par la plante (**Peix *et al.*, 2015**).



**Figure 5** : dialogue moléculaire rhizobium-légumineuse (**Gough et Cullimore, 2011**).

### I.1. Flavonoïdes

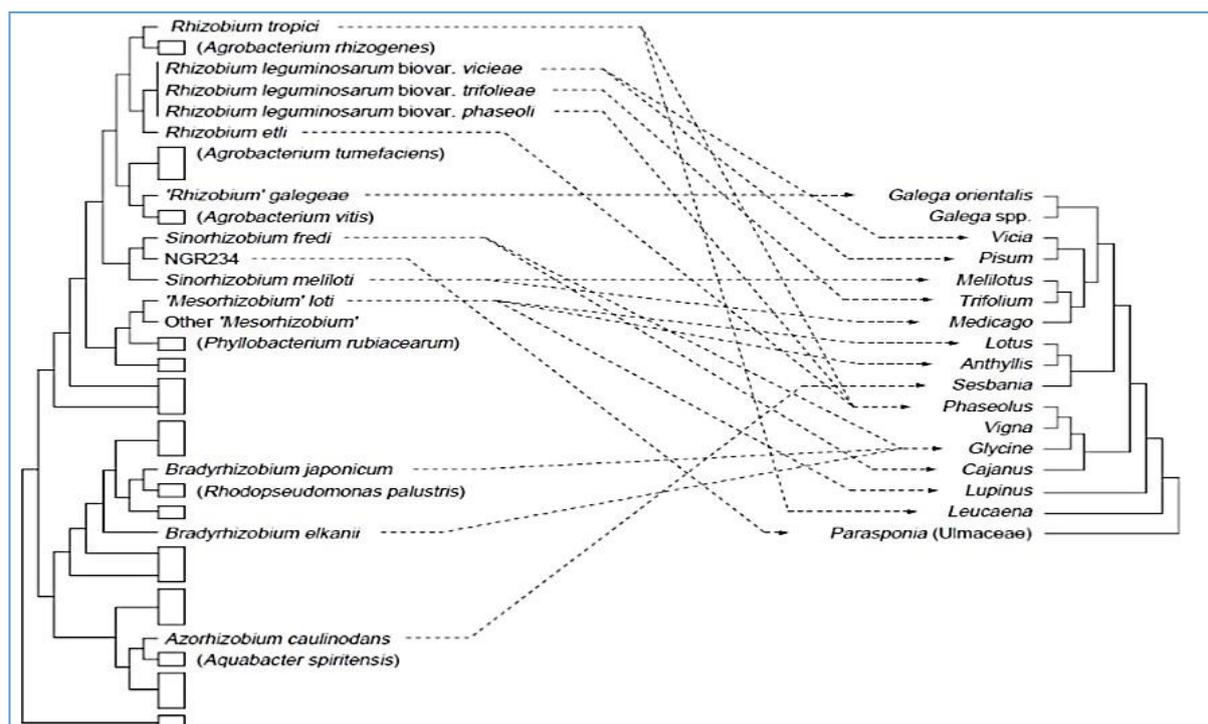
Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires de nature aromatiques exsudés par les racines de la plante dans la rhizosphère (**Figure 5**). Ce sont les principaux signaux émis par la plante hôte et perçus par les rhizobiums dans le sol (**Taylor et Grotewold, 2005 ; Gibson et al., 2008**), induisant l'expression des gènes de nodulation chez le rhizobium (**Zhang et al., 2009**).

Chaque plante excrète un mélange de différents flavonoïdes (**Cooper, 2004 ; Perret et al., 2000**) dont les isoflavonoïdes qui sont spécifiques des légumineuses (**Brencic et Winans, 2005**). Les flavonoïdes excrétés par la plante vont être liés à un récepteur de la bactérie, *NodD*, et permettent tout d'abord l'attraction par chimiotactisme des bactéries vers la racine. D'autre part, l'activation du récepteur *NodD* va induire l'expression des opérons de nodulation *nod*, *nol* et *noe* (**Perret et al., 2000**). L'expression de ces gènes va alors permettre la synthèse et la sécrétion de lipochitooligosaccharides (LCO) communément appelés facteurs *Nod* ou FN.

### II .Spécificité de la symbiose

L'association symbiotique est généralement très spécifique. Chaque espèce bactérienne possède un spectre d'hôte bien défini, souvent limité. La reconnaissance est spécifique, la composition de l'exsudat définissant un spectre d'hôte pour chaque rhizobium. Ainsi, certaines souches bactériennes pourront interagir avec plusieurs centaines d'espèces de légumineuse (ex : *Rhizobium* sp NGR 234 (**Pueppke et Broughton, 1999**)) tandis que d'autres, telle que *Sinorhizobium meliloti*, présenteront un spectre plus étroit (**Figure 6**) (**Doyle, 1998**).

Dans certains cas, la spécificité symbiotique peut conduire à la formation de nodules infectés mais incapable de fixer l'azote atmosphérique. C'est ce qu'on appelle l'efficacité symbiotique, définie comme l'aptitude d'une souche particulière à produire un nodule actif, donc fixateur d'azote (**Pueppke et Broughton, 1999**). En 2015, une liste de plus de 160 espèces de rhizobia, ainsi que leurs hôtes, ont été recensées par Peix et al. (**2015**).



**Figure 6** : Comparaison des phylogénies moléculaires bactériennes et des légumineuses (Doyle, 1998).

La phylogénie bactérienne (à gauche) est basée sur les séquences génétiques de l'ARNr 16S et montre trois groupes très distincts de bactéries impliquées dans la symbiose fixatrice d'azote avec les légumineuses. Les lignées des bactéries non symbiotiques sont indiquées par des cases, avec un représentant indiqué entre parenthèses pour les lignées étroitement liées aux groupes symbiotiques. À droite, les relations phylogénétiques sont présentées pour certains genres de légumineuses nodulés par des bactéries présentes sur l'arbre bactérien. Les flèches relient les symbiotes bactériens à leurs hôtes.

### III. Processus de nodulation des légumineuses

La nodulation est considérée comme la première caractéristique de l'association symbiotique. Les nodules formés sont le résultat d'un dialogue moléculaire entre le rhizobium et la plante hôte (Remigi *et al.*, 2016). Le processus de formation d'un nodule fonctionnel peut être divisé en trois étapes :

#### Étape 1 : Reconnaissance entre la plante et la bactérie

La première étape du processus de nodulation consiste en un échange de signaux qui permet le démarrage de l'étape de l'infection. Durant cette étape, les bactéries commencent par s'approcher des racines grâce au chimiotactisme activé par la sécrétion de flavonoïdes par les racines de la plante hôte, induisant l'expression des gènes *nod* chez

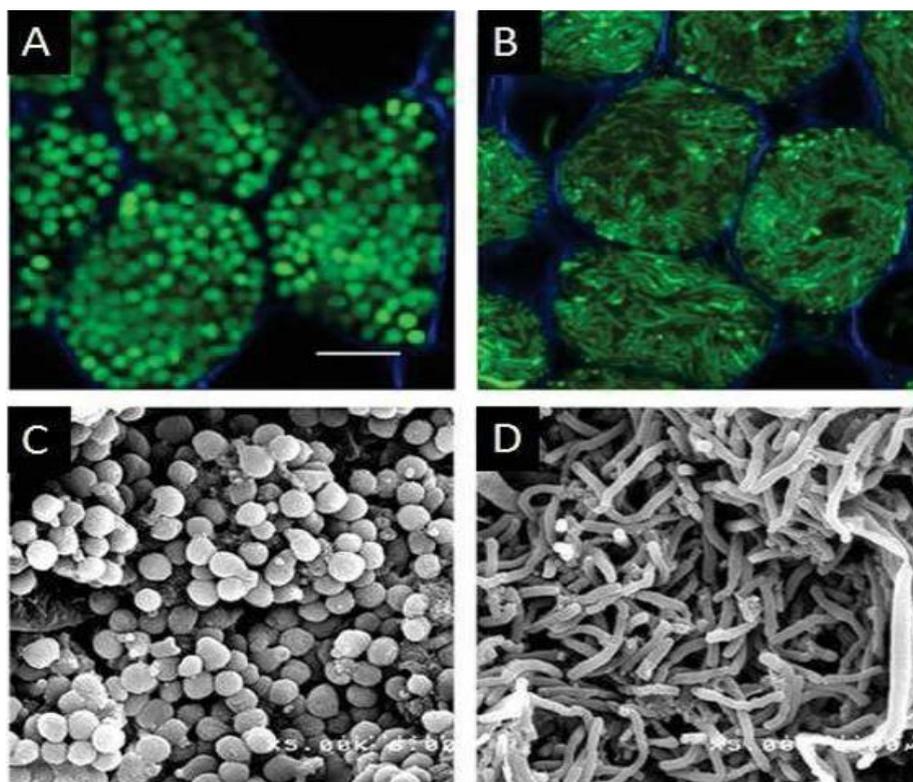
la bactérie. Ces gènes *nod* contrôlent les différentes étapes de l'établissement de la symbiose à travers les facteurs *Nod* (NFs). La reconnaissance des FNs est réalisée par l'intermédiaire de récepteurs kinases ser/thr de type LysM-RLK, localisés au niveau de la membrane plasmique des cellules de l'épiderme racinaire. La liaison des FNs au domaine LysM extracellulaire du récepteur induit une signalisation calcium-dépendante permettant la transduction du signal de la membrane jusqu'au noyau. Une fois ces NFs émis et reconnus par les récepteurs des facteurs *Nods*, ils induisent chez la plante, différentes modifications (morphologiques, physiologiques et moléculaires) poursuivis par l'induction de gènes spécifiques (**Madsen *et al.*, 2003**).

### Étape 2 : Infection et développement du nodule

Suite aux modifications induites par FNs et l'induction de gènes spécifiques, l'infection bactérienne débute par une déformation du poil absorbant en une structure courbée dite « crosse de berger » (**Gage, 2004; Suzaki *et al.*, 2015**) (**Figure 8**). Cette courbure, liée à une réorientation isotopique de la croissance du poil absorbant, emprisonne dans une poche les bactéries qui se multiplient et dégradent localement la paroi végétale. Les bactéries progressent ensuite dans le poil absorbant, en se divisant, via un cordon d'infection formé par invagination de la membrane plasmique. La progression des bactéries au sein des cordons est assurée par la synthèse bactérienne d'exopolysaccharides (EPS) et le remodelage de la paroi végétale (**Liu *et al.*, 2019**). Au stade final de l'infection, les bactéries sont délivrées dans les cellules du cortex par endocytose. Les bactéries sont ainsi séparées du cytoplasme de la cellule végétale par une membrane dite peribactéroïdienne, d'origine végétale. La structure ainsi formée est appelée le symbiosome au sein duquel la bactérie se différencie en bactéroïde.

A l'intérieur du symbiosome, les rhizobia subissent des changements morphologiques et métaboliques, aboutissant à une différenciation en bactéroïdes (**Figure 7**). Le maintien de ces bactéroïdes est influencé par des peptides du type NCRs (Nodules-specific Cystein-Rich). Ce sont des peptides de défense extrêmement abondants dans les nodules de certaines légumineuses pouvant avoir un rôle positif ou négatif sur la vie intracellulaire des bactéroïdes. (**Van de Velde *et al.*, 2010; Czernic *et al.*, 2015**). Fait intéressant, une même souche

bactérienne peut développer des bactéroïdes sphériques ou allongés selon la plante hôte.



**Figure 7 :** Photographies de bactéroïdes (*Bradyrhizobium sp.* ORS285) prises au microscope confocal (Peix *et al.*, 2015).

Les photographies A) et B) ont été prises avec un microscope confocal, avec un marquage à la GFP (Green Fluorescent Protein) pour mettre en évidence les bactéroïdes (en vert) et un marquage bleu qui est spécifique aux parois intercellulaires. Les photographies C) et D) proviennent d'un microscope électronique à balayage (MEB).

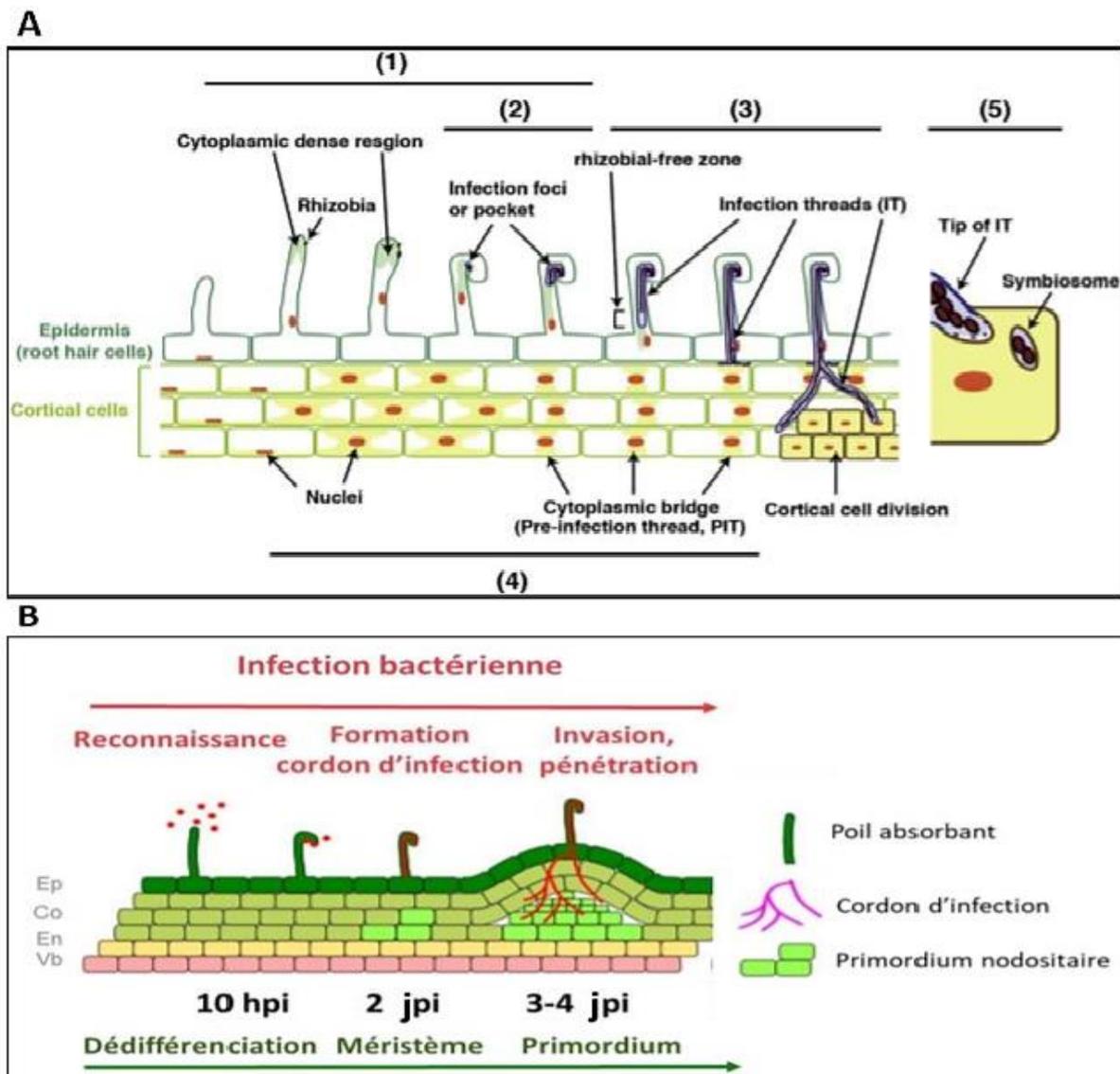
### Étape 3 : Formation du primordium nodositaire

Parallèlement à la progression de l'infection, l'organogenèse nodulaire se met en place en réponse aux FNs, les cellules du péricycle et corticales situées sous le cordon d'infection vont se différencier puis se multiplier pour former un primordium nodositaire (Vernié *et al.*, 2015).

Les premières divisions actives débutent environ 24h après l'infection. Le primordium nodulaire est formé 18 à 24h après infection. Les bactéries seront libérées, depuis le cordon d'infection, dans les cellules du primordium nodulaire environ 3 jours après infection. Enfin,

80h après infection, le méristème nodositaire est formé à partir des cellules primordiales des cortex médian et externe non infectées par les cordons d'infection.

Les bactéroïdes sont le siège du processus de la fixation biologique de l'azote atmosphérique, elle est optimale entre 4 et 5 semaines après l'infection (**Figure 8B**) (Xiao *et al.*, 2014).



**Figure 8** : Infection bactérienne et formation du primordium nodositaire (Suzaki *et al.*, 2015).

**A** : (1) L'attachement des bactéries au niveau du poil absorbant et l'accumulation de FN's induits la déformation du poil absorbant suivant une structure dite « en crose de berger » (2) les bactéries emprisonnées dans la crose dégradent localement la paroi végétale et pénètre dans le poil absorbant par invagination de la membrane

plasmique. (3) Elongation du cordon d'infection (IT). (4) Parallèlement à l'invasion bactérienne, dans les cellules corticales, un pont cytoplasmique ou cordon de pré-infection (PIT) est formé pour guider l'élongation. (5) Les bactéries sont libérées dans les cellules du primordium nodositaire par endocytose. **B** : La formation de la crosse de berger s'effectue dans les 10 heures suivant la reconnaissance bactérienne. Puis, la formation du cordon d'infection, 2 jours post-infection (jpi), va permettre aux bactéries de progresser jusqu'aux cellules corticales nouvellement divisées (Co). A 4 jpi, les bactéries sont délivrées dans les cellules végétales.

### III.1.Types de nodules

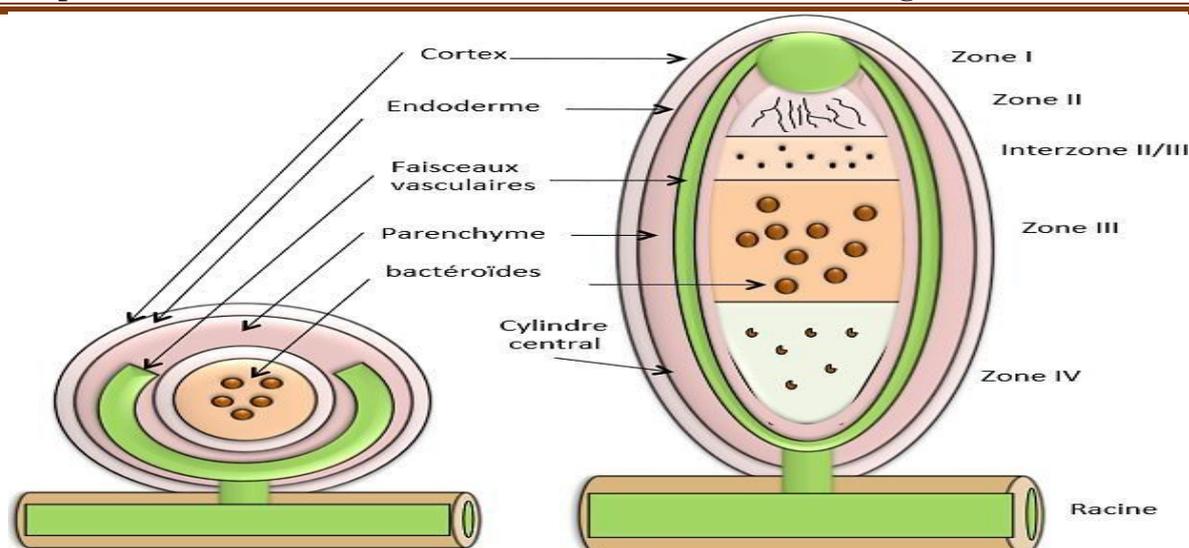
Les nodules se développent typiquement le long des racines latérales fines. En général, elles sont réparties en deux groupes en fonction de leurs caractéristiques développementales non-homogène arrivé à maturité, peut être de deux types différents : déterminé et indéterminé (**Figure 9**) (**Gage, 2004**).

Comme pour le processus d'infection, ce phénomène est sous la dépendance de la plante hôte (**Tableau I**). Ainsi une même bactérie peut induire la formation des deux types de nodule en fonction de la légumineuse infectée.

► Les nodules de types déterminés sont initiés à partir du cortex externe dont la persistance du méristème est très éphémère et la croissance en longueur du nodule est limitée. Ce processus se traduit par une forme sphérique et un état de différenciation identique pour toutes les cellules.

► Les nodules indéterminés sont formés à partir du cortex interne et ont un méristème apical persistant qui produit en continue de nouvelles cellules, ce qui se traduit par des nodules de forme allongée et organisés en zones histologiquement différentes (**Hirsch, 1992**). Ainsi le nodule est divisé en quatre zones distinctes (**Figure 9**).

La forme et la structure du nodule sont corrélées à l'origine taxonomique de la plante hôte. Ainsi la morphologie des bactéroïdes diffère en fonction des légumineuses infectées et du type de nodosités développées (**Sprent, 2007**).



**Figure 9:** Types de nodules chez les Légumineuses. À droite nodule de type indéterminé ; et à gauche nodule de type déterminé (Hirsch, 1992).

La zone 1, dite zone méristématique, la zone 2, dite zone d’infection, la zone 3, dite zone de fixation, la zone 4, dite zone de sénescence.

**Tableau I:** Caractéristiques des nodosités déterminées et indéterminées (Sprent, 2007).

	Nodosité indéterminée	Nodosité déterminée
Site des 1 <sup>er</sup> évènement de division cellulaire	Cortex racinaire interne	Cortex racinaire externe
Type du méristème	Méristème persistant	Pas de méristème persistant
Forme normal de la nodosité	Cylindrique	Sphérique
Cordon d’infection	Large	Étroit
Cellules infectées	Hautement vacuolé	Peu vacuolé
Forme du bactéroïde	Large, ramifié faible viabilité, un par symbiosome	Normal, haute viabilité, plusieurs par symbiosome
Région géographique de la plante	Région tempérée	Région tropicale/subtropicale
Exemples	Medicago, Trèfles, Pois.....	Soja, Fève, Lotier

### III.2.Génétique de nodulation

Lors des étapes précoces de la symbiose, les substances émises par la légumineuse induisent chez les rhizobia, l'activation ou la répression de l'expression des gènes de nodulation (appelés *nod*, *noe* et *nol*) via les protéines *NodD* synthétisées par les gènes *nodD*. Les produits de ces gènes de nodulation sont impliqués dans la synthèse des Facteurs *Nod* (FNs), molécules signal pour la plante (Moulin *et al.*, 2001).

#### III .2. 1. Facteurs *Nod*

Les Facteurs *Nod* (FNs) sont constitués d'un squelette d'oligosaccharide formé d'une chaîne de 3 à 5 molécules de N-acetyl-D-glucosamine et de groupements d'acides gras ajoutés aux différents sucres non-réducteurs du squelette (Lerouge *et al.*, 1990). Suivant les espèces, le squelette est ensuite décoré par différentes modifications post-traductionnelles (acétylation, méthylation ou glycosylation) (Bonaldi *et al.*, 2010). Cette variabilité dans la structure des FNs participe également au spectre d'hôte de l'interaction (Downie *et al.*, 2014; Zipfel *et al.*, 2017). La reconnaissance des FNs par la plante sera ensuite essentielle pour induire les modifications cellulaires indispensables aux étapes d'infection et d'organogenèse de la nodosité (Figure 10) (Suzaki *et al.*, 2015).

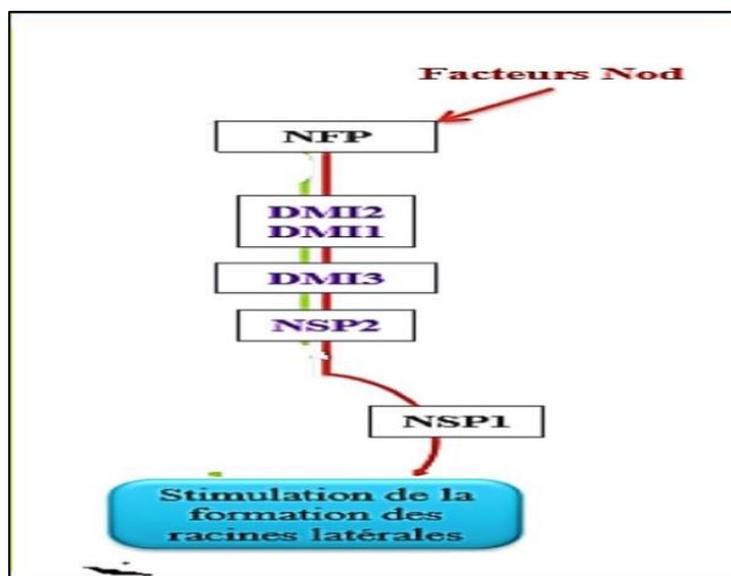


Figure 10 : Voie de signalisation par facteur *nod* (Dénarié *et al.*, 1996).

### III .2.2. Gènes *Nod*

Les gènes *nod* codent pour des enzymes de la voie de biosynthèse des facteurs *Nod* et peuvent être classés en trois groupes :

- **Les gènes *nod* régulateurs**, comprenant notamment le gène *nodD* (parfois en plusieurs copies dans le génome des rhizobiums), et codent pour des protéines qui, en présence de signaux sécrétés par la plante (flavonoïdes), activent l'expression des autres gènes *nod* dits gènes *nod* communs. Les gènes *nodD* codant pour des récepteurs spécifiques de signaux de la plante constituent un premier niveau de contrôle de la spécificité d'hôte (**Dénarié *et al.*, 1996**).

- **Les gènes *nod* communs (*nodABC*)**, appelés aussi gènes structuraux sont présents en copie unique (sauf exception) et sont impliqués dans la synthèse et la sécrétion de signaux symbiotiques bactériens extracellulaires, les facteurs *Nod*. Ces gènes sont présents chez presque tous les rhizobiums (**Dénarié *et al.*, 1996**), y compris les  $\beta$ -protéobactéries. Ces gènes *nodABC* jouent un rôle absolument essentiel dans la formation des nodosités. L'exception est l'absence des gènes *nod* communs dans le génome des souches de *Bradyrhizobium sp.* ORS 278 et BTAi1, symbiotes fixateurs d'azote de certaines espèces d'*Aeschynomene* ; cette symbiose, ne faisant apparemment pas intervenir de facteurs *Nod*, est appelée *Nod*-indépendante (**Perret *et al.*, 2000**).

- **Les gènes *nod* spécifiques** : sont responsables des substitutions qui s'opèrent sur le squelette de base du facteur *Nod*. Ils confèrent des ornements variables aux facteurs *Nod* et jouent donc directement un rôle dans la spécificité (**Perret *et al.*, 2000**).

## IV .Fixation biologique de l'azote

### IV. 1. Généralités

La fixation symbiotique de l'azote est catalysée par un complexe enzymatique appelé complexe nitrogénase qui coupe la triple liaison de l'azote atmosphérique ( $N_2$ ) afin de le transformer en azote ammoniacal ( $NH_4^+$ ), qui nécessite 16 molécules de ATP pour la

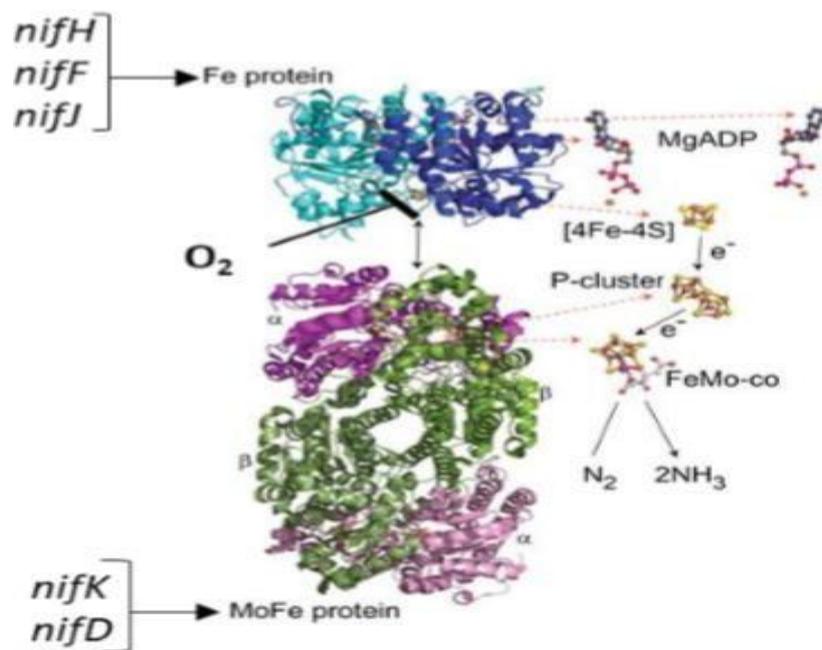
réduction d'une molécule de  $N_2$ , selon la réaction suivante :



#### IV. 2. Nitrogénase

La nitrogénase a été mise en évidence uniquement chez des procaryotes. Elle est très conservée chez les bactéries fixatrices d'azote tant au niveau de sa séquence que de sa structure (**Figure 11**). Elle est constituée de deux métalloprotéines : l'une contenant du fer et l'autre contenant du fer et du molybdène. L'azote atmosphérique est réduit par la nitrogénase en présence de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) et de ferrédoxine qui assurent les transferts d'électrons (**Yamamoto *et al.*, 2008**).

La nitrogénase catalyse la réduction d'analogues stériques de l'azote, comme l'acétylène. Structuellement, le système de fixation d'azote varie selon les différents genres bactériens.



**Figure 11** : Structure de la nitrogénase (**Yamamoto *et al.*, 2008**).

##### IV.2.1. Dinitrogénase (protéine MoFe)

La dinitrogénase est un hétéro-tétramère composé de deux sous-unités non identiques  $\alpha_2\beta_2$  codées par *nifD* et *nifK*. Les protéines  $\alpha$  (*NifD*) et  $\beta$  (*NifK*) ont un poids moléculaire de

59 et 54 kDa respectivement. La dinitrogénase est composée du cofacteur MoFe contenant du fer (**Figure 11**), du molybdène et du soufre, qui est le site d'attachement et de réduction du substrat, ainsi qu'un centre P composé de fer et de soufre qui reçoit l'électron transféré directement de la dinitrogénase réductase (*NifH* ou protéine-Fe) (**Figure 12**) (**Yamamoto et al., 2008**).

#### IV .2.2. Dinitrogénase réductase

La dinitrogénase réductase est un homo-dimère de 64 KDa. Codée par le gène *nifH*, elle contient un centre d'oxydoréduction (4Fe-4S) (**Figure11**). La protéine-Fe joue un rôle dans le transfert d'électrons à la dinitrogénase, nécessaire à la réduction du substrat (N<sub>2</sub>) (**Figure 12**) (**Yamamoto et al., 2008**).

#### IV. 3. Génétique de la réduction d'azote

La synthèse et la régulation de l'enzyme responsable de la fixation d'azote (la nitrogénase) sont codées par de nombreux gènes, appelés *nif* et *fix* (**Tableau II**), la plupart étant localisés en opéron.

- **Les gènes *nif***, les plus importants, sont les gènes *nifH*, *nifD* et *nifK*. Le gène *nifH* code pour la dinitrogénase réductase (homodimère-Fer) alors que les gènes *nifD* et *nifK* codent pour les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  de la dinitrogénase réductase (**Mylona et al., 1995**).

- **Les gènes *fix*** sont des gènes essentiels à la fixation d'azote mais ne sont présents, que chez les fixateurs symbiotiques Ils représentent des fonctions très différentes, comme par exemple les gènes impliqués dans le développement et le métabolisme des nodules et peuvent également jouer un rôle dans des processus autres que la symbiose (**Fischer, 1994**).

La régulation et l'expression des gènes *nif* et *fix* sont soumis à une régulation très complexe via une véritable cascade de régulations entre la détection du stimulus extérieur et la régulation des gènes de fixation, notamment par l'intermédiaire du gène régulateur *nifA*. Ils sont retrouvés en un seul exemplaire dans le génome sauf le gène *nifH* qui se trouve en plusieurs copies chez certaines espèces. Par exemple, *Rhizobium etli* possède trois copies de *nifH* (**Silva et al., 2003**).

**Tableau II:** Gènes *nif* et *fix* identifiés chez *S. meliloti*, et leur fonction connue ou proposée (Fischer, 1994).

Gène	Produit et/ou fonction (proposée)
<b>Gènes <i>nif</i></b>	
<i>nifH</i>	Protéine Fe de la nitrogénase
<i>nifD</i>	Sous-unité $\alpha$ de la protéine MoFe de la nitrogénase
<i>nifK</i>	Sous-unité $\beta$ de la protéine MoFe de la nitrogénase
<i>nifE</i>	Impliqué dans la biosynthèse du cofacteur FeMo
<i>nifN</i>	Impliqué dans la biosynthèse du cofacteur FeMo
<i>nifB</i>	Impliqué dans la biosynthèse du cofacteur FeMo
<i>nifS</i>	Cystéine désulfurase, activation du soufre pour la synthèse du métallocluster?
<i>nifW</i>	Fonction inconnue, requis pour l'activité de la protéine FeMo
<i>nifX</i>	Fonction inconnue
<i>nifA</i>	Régulateur positif des gènes <i>nif</i> , <i>fix</i> et additionnels
<b>Gènes <i>fix</i></b>	
<i>fixABCX</i>	Requis pour l'activité de la nitrogénase, sans doute lors de la chaîne de transport d'électron, FixX présente des similarités avec les ferrédoxines
<i>fixNOQP</i>	Induit par microanaérobiose, Cytochrome oxidase membranaire, impliqué dans la respiration
<i>fixGHIS</i>	Pompe cationique rédox-dépendante membranaire
<i>fixLJ</i>	Système régulateur à deux composantes répondant à l'oxygène impliqué dans le contrôle positif de <i>fixJ</i> et <i>nifA</i>
<i>fixM</i>	Flavoprotéine oxydoréductase
<i>fixK/fixK2</i>	Régulateur positif des gènes <i>fixNOQP</i> , <i>rpoN</i> et la respiration nitrate, et négatif de <i>nifA</i> et <i>fixK</i>
<i>fixT</i>	Protéine antikinase

#### IV .4. Protection de la nitrogénase

Le fonctionnement de la nitrogénase dépend du métabolisme respiratoire nodulaire et de la concentration intra-nodulaire en O<sub>2</sub>. L'approvisionnement des nodosités en O<sub>2</sub> doit être suffisamment important pour soutenir une activité respiratoire intense. La nitrogénase est un complexe enzymatique très sensible à l'oxygène, qui est rapidement inactivé dans un environnement aérobie. La nodosité lui confère une niche protectrice grâce à la présence d'une protéine végétale, la leghémoglobine (**Figure 13**). Cependant, la concentration en O<sub>2</sub> des cellules infectées des nodosités doit être maintenue à un niveau très bas pour éviter l'inactivation irréversible de la nitrogénase (Oldroyd *et al.*, 2011).

La leghémoglobine est une protéine pigmentée de couleur rose foncé ayant pour rôle de délivrer de l'oxygène aux bactéroïdes. Elle a pour rôle de fixer l'oxygène gazeux rejeté

par la photosynthèse, qui inhiberait l'action de la nitrogénase, tout en assurant l'approvisionnement des bactéroïdes en oxygène. La leghémoglobine est synthétisée uniquement dans les cellules infectées où elle piège l'oxygène qui inhibe la nitrogénase mais favorise également fourniture de l'oxygène aux bactéroïdes. Cette protéine possède une forte affinité pour l'O<sub>2</sub> et permet de faciliter la diffusion de l'oxygène vers les mitochondries afin d'alimenter la chaîne de transfert d'électrons (Suty, 2015).

D'autres facteurs comme la température, le pH et l'humidité du sol agissent sur le fonctionnement de la nitrogénase.

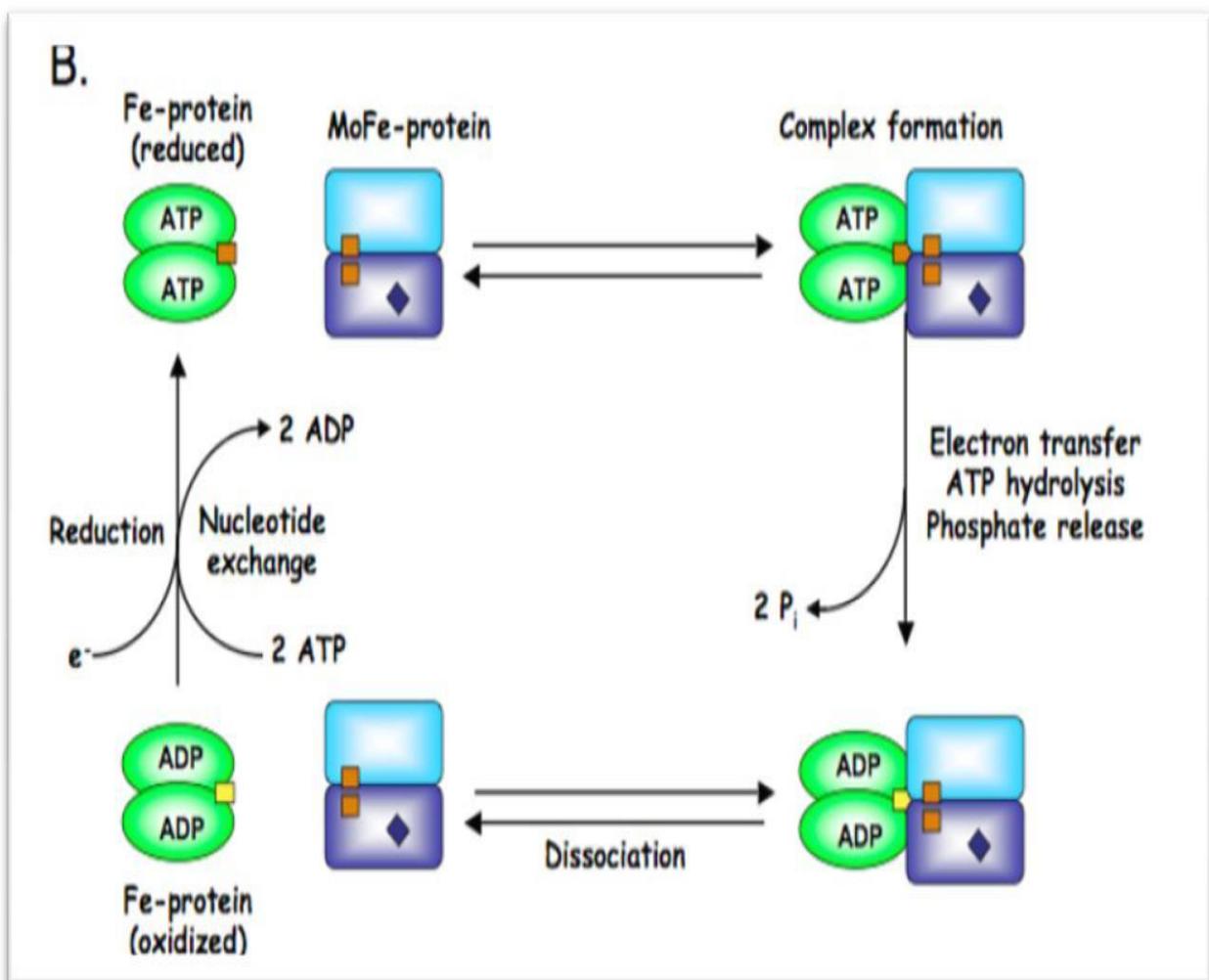
#### IV. 5. Mécanisme moléculaire de la fixation biologique de l'azote

A partir du moment où les nodules sont mis en place et efficaces, la fixation d'azote commence. L'enzyme nitrogénase catalyse la rupture réductrice de la triple liaison de N<sub>2</sub> pour générer l'ammoniac NH<sub>3</sub> accompagnée d'une réduction des protons en H<sub>2</sub> (Suty, 2015).

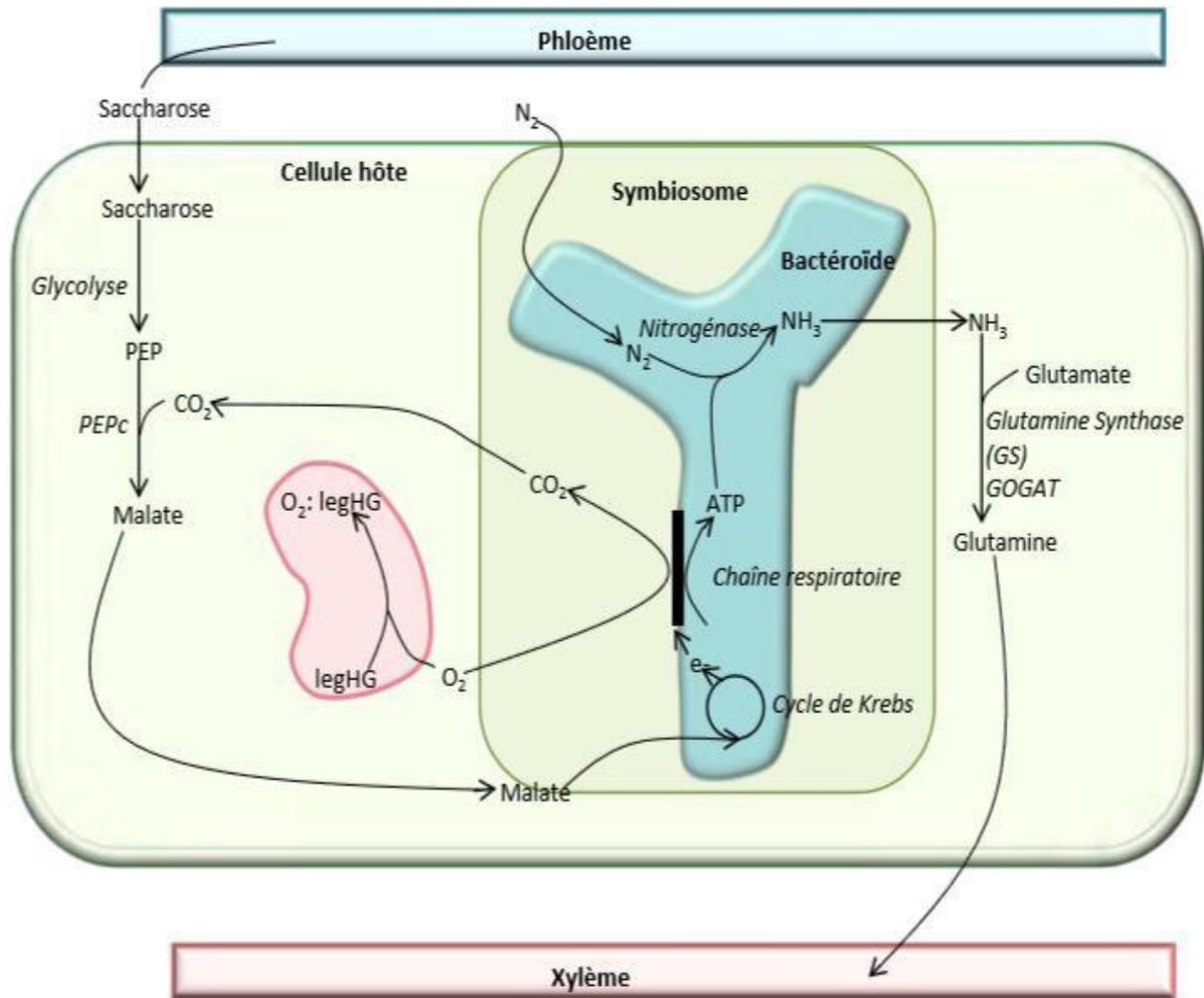
Puisque la nitrogénase catalyse une réaction coûteuse en énergie, les diazotrophes ont développé une série de mécanismes pour réguler de manière très serrée l'expression et l'activité de cette enzyme (Ott *et al.*, 2005).

L'azote atmosphérique est réduit par la nitrogénase en présence de nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH) et de ferrédoxine qui assurent les transferts d'électrons (Figure 12). Cette réaction est très coûteuse en énergie (fournie par 16 molécules d'ATP) et produit de l'hydrogène moléculaire, émis sous forme gazeuse. L'énergie requise pour convertir l'azote atmosphérique en azote ammoniacal est de l'ordre de 960 KJ par mol de N<sub>2</sub> fixé (Oldroyd *et al.*, 2011). Le processus de fixation symbiotique de l'azote se déroule comme suit : les carboxyhydrates issus de la photosynthèse sont transportés par le phloème et transférés dans les cellules corticales des racines où ils sont métabolisés en malate et en succinate utilisables par les rhizobactéries ; ces dernières transforment l'azote N<sub>2</sub> en NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, qui sera transporté par le xylème et que la plante utilisera pour la synthèse des protéines et d'autres molécules azotés. Comme la nitrogénase est inhibée d'une manière irréversible par l'O<sub>2</sub>, la nodosité possède un environnement microaérobie avec une concentration d'O<sub>2</sub> de moins de 1 µM au sein des cellules fixatrices, (Figure 13) (Oldroyd *et al.*, 2011). Deux éléments, en

particulier, participent à la mise en place de cet environnement. D'une part, la présence d'une barrière à l'O<sub>2</sub>, présente dans le cortex, qui limite la diffusion des gaz extérieurs comme l'O<sub>2</sub> à l'intérieur de la nodosité. Cette barrière de diffusion à l'O<sub>2</sub> est faite d'un épithélium avec une forte densité cellulaire et dont les espaces intercellulaires sont obstrués par des sécrétions de glycoprotéines. D'autre part, la présence en grande quantité (jusqu'à 40% de la fraction protéique soluble totale d'une nodosité mature) d'une protéine végétale de la famille des hémoglobines : la leghémoglobine. Cette protéine possède une forte affinité pour l'O<sub>2</sub> et permet de faciliter la diffusion de l'oxygène vers les mitochondries pour alimenter la chaîne de transfert d'électrons (Ott *et al.*, 2005).



**Figure 12 :** Représentation schématique du cycle d'activation de la nitrogénase (Yamamoto *et al.*, 2008).



**Figure 13 :** Schéma simplifié du métabolisme symbiotique au sein des cellules de la nodosité fixatrice d'azote (Oldroyd *et al.*, 2011).

PEP: Phosphoénolpyruvate.

PEPc: Phosphoénolpyruvate carboxylase.

LegHG: Leghémoglobine.

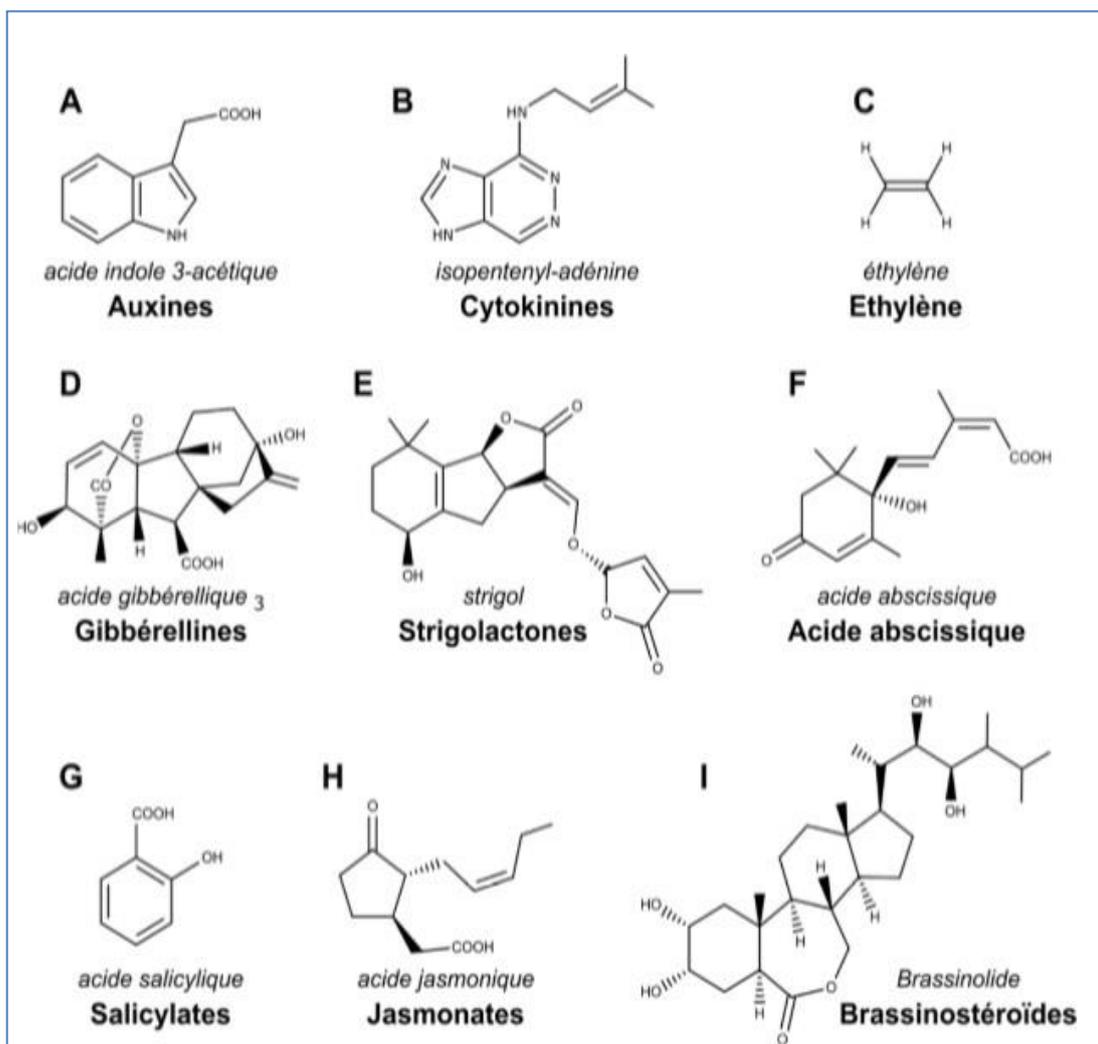
**Chapitre III:**

**Phytohormones et régulation de la  
symbiose légumineuse-rhizobia**

## I. Système hormonal chez les plantes

## I. 1. Définition

Les hormones végétales ou phytohormones, sont des composés organiques synthétisés par la plante, qui à de très faibles concentrations, ont une action sur le métabolisme et le développement généralement dans des tissus différents du lieu de production. Ils sont impliqués dans les communications intercellulaires. Chez les plantes, neuf familles différentes de phytohormones ont été identifiées et caractérisées (**Figure 14**), issues de différentes voies de biosynthèse et chacune participe à des rôles différents(**Tableau III**), dans chaque phase du développement de la plante (**Umehara *et al.*, 2008**).



**Figure 14** : Structures chimiques générales des neuf familles d'hormones végétales (**Ruegger *et al.*, 1998**).

Le nom de chaque molécule est précisé en italique, le nom de la famille hormonale en gras.

## **I. 2. Importance du système hormonal chez les plantes**

Les hormones végétales jouent un rôle fondamental dans la communication entre les différentes parties de la plante, et influencent l'ensemble des processus physiologiques de croissance, de différenciation et de développement des plantes (**Tableau III**) et leur confèrent la capacité d'adaptation aux variations des conditions de leur environnement.

Les phytohormones contrôlent et coordonnent aussi bien l'apparition que la croissance et la différenciation des organes nouvellement formés, interviennent pour modifier l'expression de gènes lors de processus d'organogenèse par l'action combinée de plusieurs phytohormones dites de croissance dont l'auxine, les cytokinines, les gibbérellines et les brassinostéroïdes mais aussi, elles jouent un rôle central dans l'activation des voies de signalisation impliquées dans la réponse aux stress biotiques et abiotiques, comme l'acide abscissique, l'acide jasmonique, l'éthylène ou encore l'acide salicylique (**Umehara et al., 2008**).

## **I. 3. Perception des phytohormones chez la plante**

Les récepteurs des phytohormones peuvent être divisés en deux catégories. D'une part, on distingue les récepteurs transmembranaires pour les CKs, ET, BRs. CKs et l'ET sont perçus par des récepteurs à domaine histidine kinase (respectivement nommés CRE et ETR) (**Inoue et al., 2001**). Les BRs sont perçus par des LRR-RLK ( HIRAKAWA et al., 2017). D'autre part, des récepteurs hydrosolubles sont retrouvés pour les IAAs, ABA, GAs, JAs, SAs et SLs (**Ruegger et al., 1998**).

La transduction du signal des phytohormones implique une reconnaissance moléculaire et une interaction physique entre ces hormones et leurs récepteurs. La perception spécifique ou non qui induira la cascade de transduction du signal intracellulaire par phosphorylation du récepteur ou formation d'un complexe avec un co-récepteur, pour induire la transcription des différents gènes responsable à terme de la mise en place d'une réponse efficace (**Haruta et Sussman, 2017**).

**Tableau III:** Les phytohormones et leurs rôles chez la plante

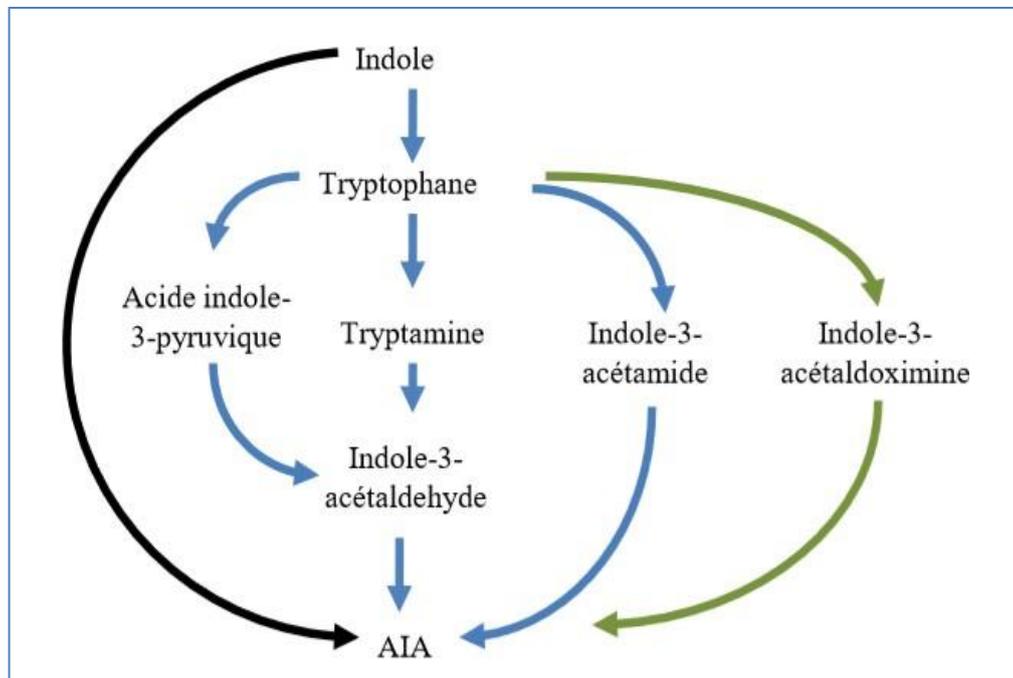
Phytohormones	Rôle majeur dans la plante
<b>Famille des auxines (AIA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Permet la croissance cellulaire et différenciation tissulaire (xylémienne)</li> <li>- Stimule l'activité mitotique cambiale</li> <li>- Contrôle la croissance des bourgeons axillaires et la dominance apicale</li> <li>- Retarde l'abscission des feuilles</li> <li>- Phototropisme et gravitropisme</li> <li>- Allonge la racine et de la tige par auxèse</li> <li>- Active la rhizogénèse</li> <li>- Détermine la dominance apicale</li> <li>- Permet le développement des fleurs et des fruits</li> </ul>
<b>Acide abscissique (ABA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Gère le stress hydrique en contrôlant l'ouverture stomatique</li> <li>- Contribue à la chute des feuilles</li> <li>- Détermine la dormance de la graine</li> <li>- Inhibe la levée de dormance</li> </ul>
<b>Acide jasmonique (JA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Est mise en jeu lors de réactions de défense et de stress</li> <li>- Permet le développement du pollen</li> <li>- Favorise la sénescence</li> </ul>
<b>Ethylène (ET)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Active la floraison</li> <li>- Déclenche l'abscission foliaire</li> <li>- Contrôle la maturation et le développement des fruits</li> </ul>
<b>Famille des Gibbérellines(GA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Favorise la croissance cellulaire</li> <li>- Détermine l'allongement par déboîtement des entre-nœuds de la tige</li> <li>- Permet parfois la levée de dormance</li> <li>- Intervient lors de la germination des graines</li> <li>- Active la montaison qui déclenche la mise à fleur</li> </ul>
<b>Famille des Cytokinines(CK)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Active les divisions et la croissance cellulaires</li> <li>- Stimule la néoformation des bourgeons latéraux</li> <li>- Retarde la sénescence des feuilles</li> <li>- Permet le débourrement des bourgeons</li> </ul>
<b>Famille des Brassinostéroïdes(BR)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Stimule l'élongation des organes caulinaires (tiges et feuilles)</li> <li>- Participe à la division cellulaire avec l'auxine</li> <li>- Intervient dans la sénescence</li> <li>- Favorise la floraison</li> </ul>
<b>Acide salicylique (SA)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Participe aux processus de résistance systémique acquise</li> <li>- Intervient dans la thermogénèse</li> </ul>
<b>Les strigolactones (SLs)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-contrôlent le développement des graines et leur germination</li> <li>-inhibent le développement des bourgeons axillaires et la ramification des parties aériennes</li> </ul>

## I.4. Phytohormones et leurs biosynthèses

### I.4.1. Auxines

L'acide indole-3acétique (AIA) (**Figure 14A**) est la forme active d'auxines la plus communément trouvée et étudiée chez les plantes, mais d'autres formes comme l'acide indole-3-butyrique, l'acide 4-chloroindole-3-acétique ou l'acide phénylacétique sont également retrouvées (**Sauer et al., 2013**).

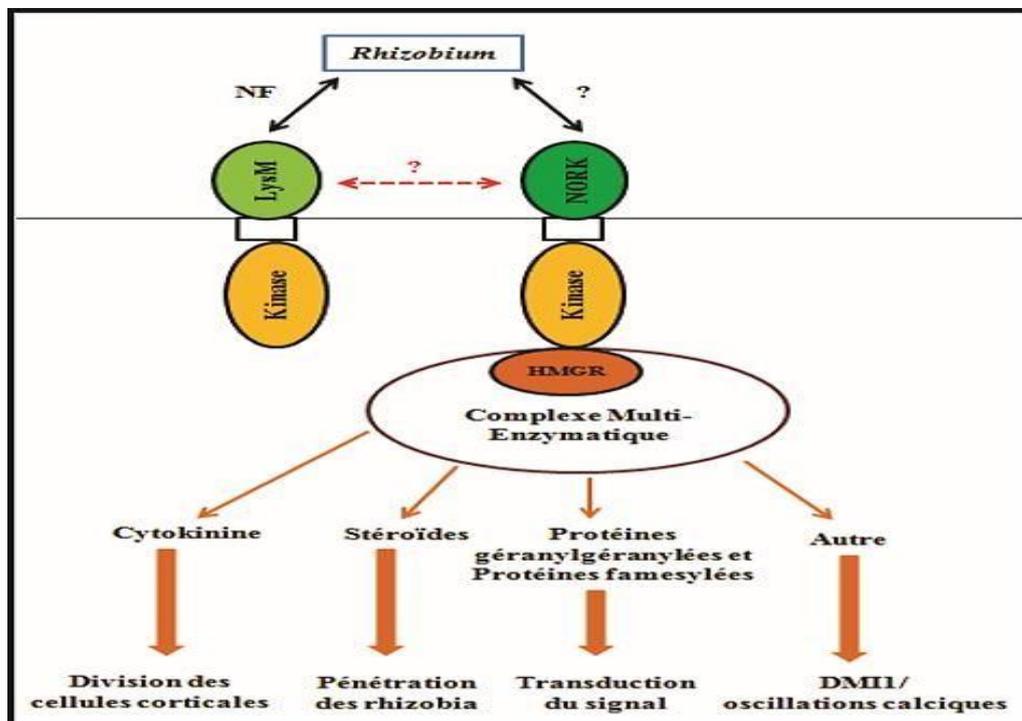
La synthèse de l'AIA fait intervenir le tryptophane en tant que précurseur (**Figure 15**), il existe plusieurs voies de synthèse impliquant l'action successive des enzymes. La voie de l'acide indole-3-pyruvic (IPyA) par l'action de deux enzymes, une tryptophane aminotransferase, et une flavine mono-oxygénase, semble être la voie principalement utilisée par les plantes pour la biosynthèse d'AIA, (**Zhao, 2012**). La voie de l'indole3- acétaldoxime (IAox) quant à elle requiert l'action d'enzymes cytochromes P450monooxygénases, CYP79B 2 et 3, et permet également de produire de l'auxine par la voie de l'indole-3-acétamide (IAM). Enfin, il existe une voie de biosynthèse « tryptophane indépendant », médiée principalement par une indole synthase cytosolique, mais l'ensemble des enzymes impliquées dans ces dernières voies n'ont pas encore été caractérisées (**Wang et al., 2015**).



**Figure 15** : Voie de Biosynthèse de l'auxine (**Zhao, 2012**).

## I. 4.2. Cytokinines

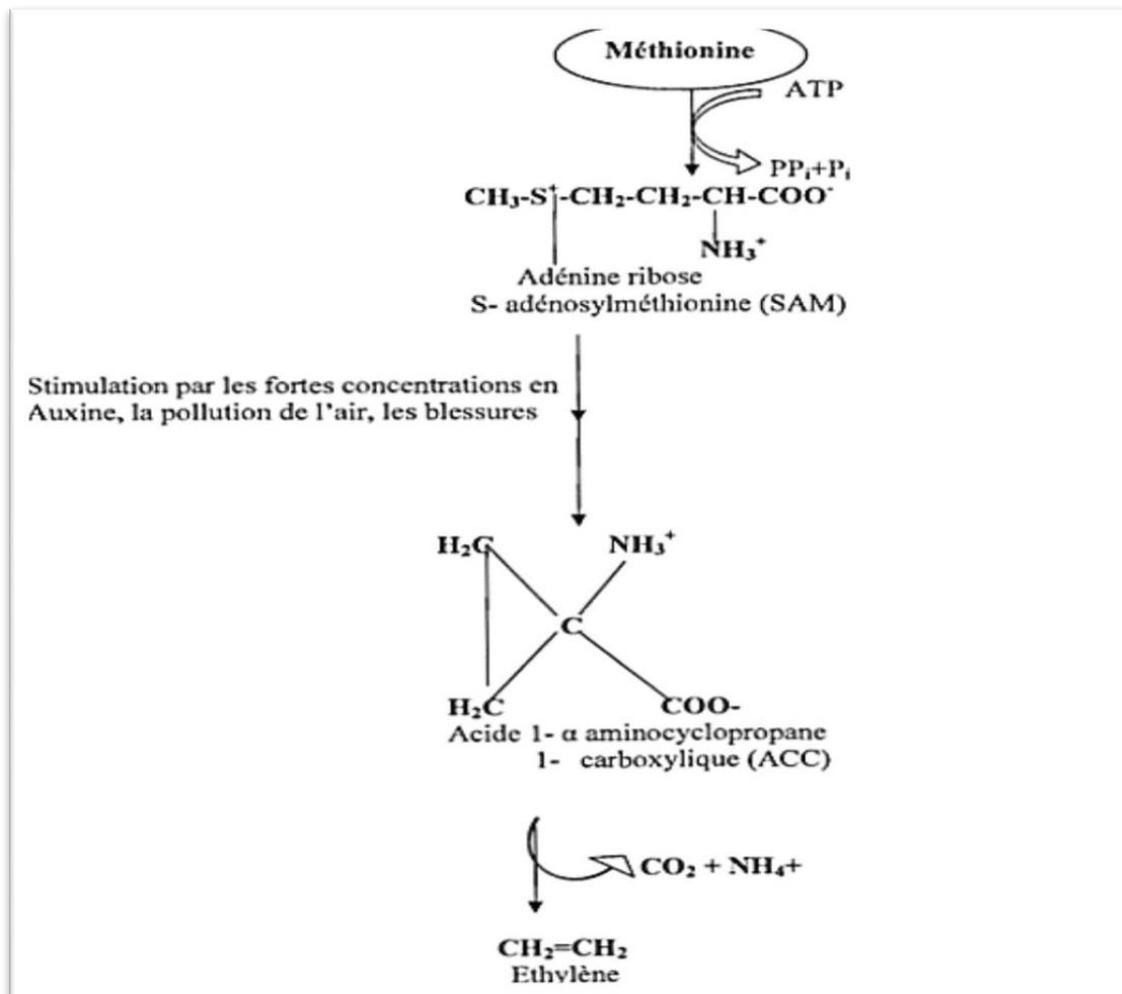
Les cytokinines (CKs) (**figure 14 B**) sont des dérivés isoprénylés de l'adénine. Dans le poil racinaire, la perception des NFs par la plante implique l'interaction des protéines HMGR1 et NORK, ce qui mène à la synthèse des cytokinines (**Figure 16**) (**Kudo *et al.*, 2010**). La biosynthèse des CKs est issue de l'isoprénylation d'une molécule d'ATP, ADP ou AMP par le diméthylallylpyrophosphate (DMAPP), médiée par une isopentényl- transférase (IPT) pour donner une CK type iP (**Kakimoto, 2001**). L'intermédiaire réactionnel formé peut également être hydroxylé par une cytokinine trans-hydroxylase de la famille de cytochromes P450 mono-oxygénases, pour donner par la suite des CKs type Z (transzétatine (tZ) ou dihydrozétatine (DHZ)) (**Takei *et al.*, 2004**). Les CKs ribo-phosphatées sont ensuite converties en CKs actives libres via l'enzyme Lonely Guy (LOG) (**Kurakawa *et al.*, 2007**). Il existe également une voie de biosynthèse alternative des CKs, issue de l'isoprénylation d'ARN de transfert (**Vreman *et al.*, 1972**). De la même manière que les AIAs, les CKs peuvent être conjuguées avec des sucres, pour désactiver les CKs actives et les stocker, mais également pour les transporter à longue distance (**Kudo *et al.*, 2010**).



**Figure 16 :** Intervention du complexe protéique HMGR1-NORK dans la synthèse de CK (**Kudo *et al.*, 2010**).

## I. 4.3. Ethylène

L'éthylène (ET) est l'hormone la plus simple et la plus petit des alcènes, composée uniquement de deux atomes de carbone et quatre d'hydrogène (**Figure 14C**). Cependant, sa biosynthèse par les plantes est réalisée par un processus enzymatique complexe. La méthionine est le principal précurseur de biosynthèse de l'éthylène (**Figure 17**), il est métabolisé en S-adénosylméthionine (SAM) par la SAM synthétase, qui est à son tour métabolisée en acide 1-aminocyclopropane-1- carboxylique (ACC) par l'ACC synthase (ACS), en libérant une molécule de 5methylthioadenosine. L'ACC sera quant à lui converti par l'ACC oxydase (ACO) en éthylène. Il existe également d'autres voies de biosynthèse de l'éthylène, exploitées principalement par des micro-organismes (**Fukuda *et al.*, 1993**).



**Figure 17** : Synthèse d'Ethylène (**Fukuda *et al.*, 1993**).

#### I.4.4. Gibbérellines (GAs)

Les GAs sont des acides diterpénoïdes tetracycliques (**Figure 14D**), synthétisés à partir de l'ent-kaurene, lui-même synthétisé à partir de DMAPP à travers la voie des terpénoïdes, à l'aide de terpène synthase. L'ent-kaurene est converti en GA12 par l'action successive de deux cytochromes P450 mono-oxygénases. La conversion du GA12 en GAs physiologiquement actifs est régulée par l'action successive de di-oxygénases 2- oxoglutarate dépendantes, principalement la GA20ox responsable de la production de 19C-GAs, et GA3ox introduisant la 3 $\beta$ hydroxylation rendant les gibbérellines physiologiquement actives (**Yamaguchi, 2008**). De plus, les GAs peuvent être conjugués avec des sucres, (Oglycosylation), par estérification ou méthylation, pour la désactivation et le transport de ces hormones (**Varbanova et al., 2007**).

#### I.4.5. Strigolactones

Les strigolactones (SLs) (**Figure 14E**), sont dérivées du métabolisme des caroténoïdes. Leur biosynthèse débute par l'isomérisation du  $\beta$ -carotène qui est clivé par la Carotenoid Cleavage Dioxygenase 7 (CCD7), puis est pris en charge par CCD8 pour donner de la carlactone. Cette dernière sera ensuite oxydée par un cytochrome P450 mono-oxygénase, puis enfin méthylée et oxydée (**Seto et Yamaguchi, 2014**). Il existe une certaine diversité de SLs, définie par les différentes méthylations et hydroxylations de la molécule, la stéréochimie du cycle C, ou de la structure non canonique prise par les cycles A, B et C (**Bürger et al., 2020**).

#### I.4.6 Acide abscissique

L'Acide abscissique (ABA) est une hormone isoprénoïque (**Figure 14F**) qui est produite à partir de la zeaxanthine, issue de la biosynthèse des caroténoïdes (**Figure 18**). Celle-ci est métabolisée en époxyde, qui est clivée par une dioxygénase, libérant ainsi la xanthoxine. Cette dernière est transformée par des enzymes spécifique (par déshydrogénation, puis oxydation) en ABA (**Kushiro et al., 2004**). L'ABA peut être ensuite hydroxylé sur trois positions différentes, permettant subséquentiellement l'inactivation de l'hormone (**Nambara et Marion-Poll, 2005**). Il peut également être conjugué et former un glucosyl-ester, pour être inactivé et stocké (**Waters et al., 2017**).

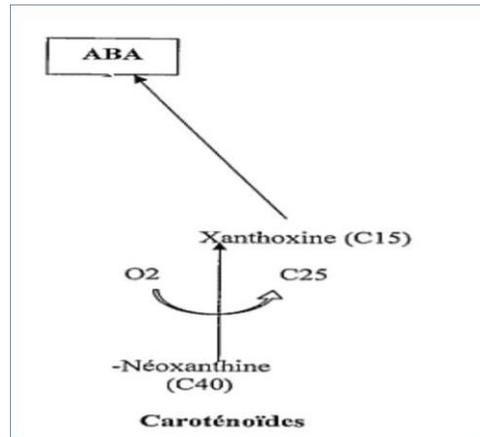


Figure 18 : Biosynthèse de l'acide abscissique (Kushiro *et al.*, 2004).

#### I.4.7 Acide salicylique

La biosynthèse d'acide salicylique (SA) (Figure 14G) est issue de l'acide shikimique puis de l'acide chorismique (Figure 19). Deux voies de biosynthèse découlent de ce précurseur, la voie de l'iso-chorismate ou celle de la phenylalanine ammonia-lyase. Ces deux voies aboutissent à la biosynthèse du SA libre, qui peut, comme la plupart des autres hormones, être conjugué avec un acide aminé ou par glycosylation, méthylation, pour être inactivé, transporté ou stocké (Dempsey *et al.*, 2011).

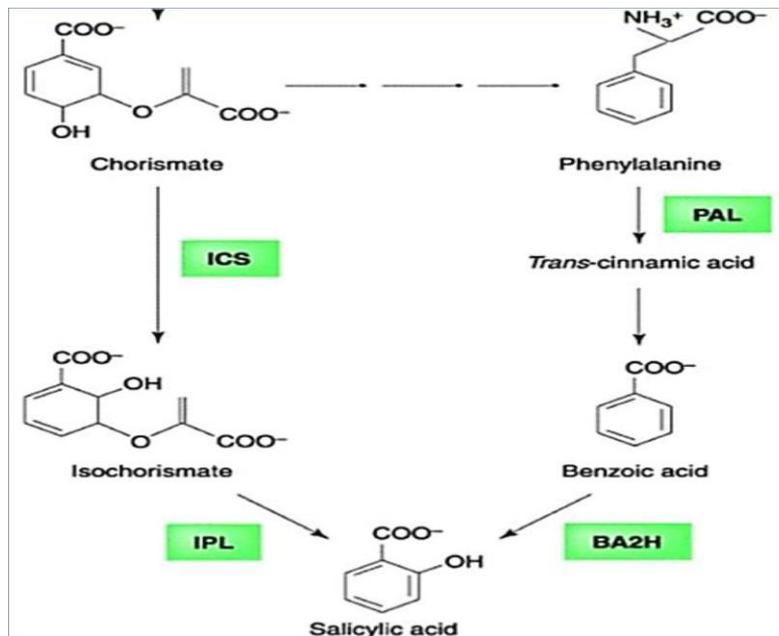
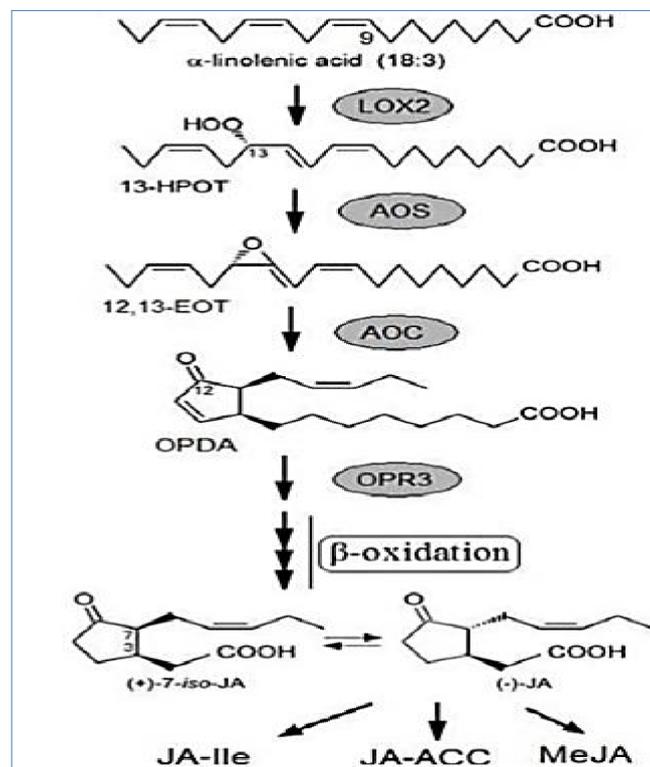


Figure 19 : Biosynthèse de l'acide salicylique (SA) (Dempsey *et al.*, 2011).

## I.4.8. Acide jasmonique

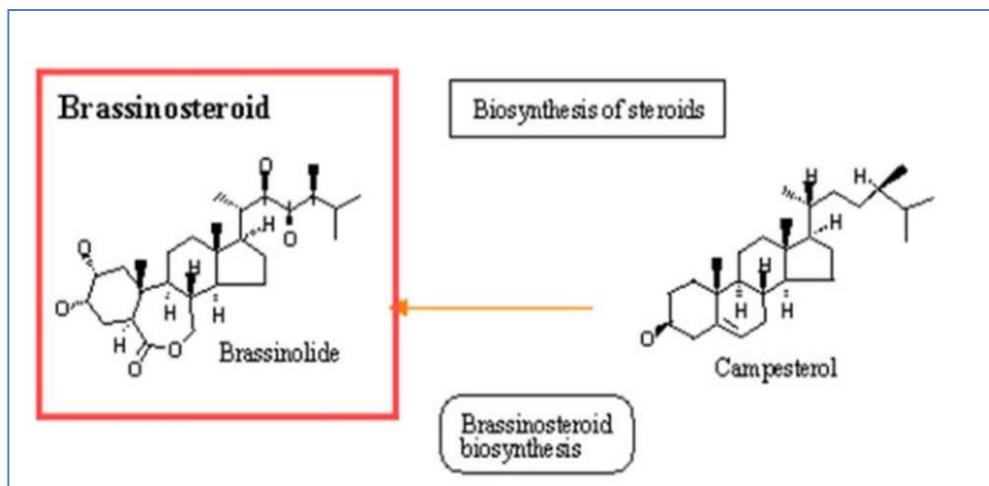
L'acide jasmonique (JA) est un cyclopentanone (**Figure 14H**) dérivé de l'acide  $\alpha$ -linoléique, la biosynthèse de JA se fait par la voie des octadécanoïdes, par l'action successive des enzymes et les métabolites intermédiaires qui sont indiqués en tant que LOX2 (lipoxygénase 2), AOS (allene oxide synthase), AOC (allene oxide cyclase), et OPR3 (12oxophytodienoate réductase 3), 13-HPOT (acide 13S-hydroperoxy-9Z,11E,15Z-octadécatriénoïque), 12,13-EOT (acide 12,13-époxyoctadécatriénoïque), OPDA (acide 12-oxophytodienoïque), JA (jasmonate), JA-Ile (jasmonoyl-isoleucine), JA-ACC (acide jasmonoyl-1-amino-1-cyclopropane carboxylique), et MeJA (méthyl jasmonate) (**Figure 20**). Le précurseur subit finalement trois cycles de  $\beta$ -oxydation (**Delker et al., 2006**). La conjugaison du JA avec l'isoleucine est alors nécessaire pour produire la structure physiologiquement active de JA chez la plante (**Fonseca et al., 2009**), mais le JA peut également former un méylesther ou être décarboxylé pour former des espèces volatiles. Il peut être hydroxylé ou carboxylé pour inactiver l'hormone ou encore être O-glycosylé (**Koo et Howe, 2012**).



**Figure 20:** Biosynthèse de acide jasmonique (JA) (**Delker et al., 2006**).

### I.4.9. Brassinostéroïdes

Les Brassinostéroïdes (BRs) sont des stéroïdes poly-hydroxylés (**Figure 14I**), présentant une grande variété de stéréo-isomères et de chaînes latérales (**Bajguz, 2007**). Toutefois, leur biosynthèse suit une voie commune, impliquant la réduction du campestérol jusqu'à l'obtention du campestanol (**Figure 21**). Deux voies divergent ensuite, faisant intervenir des hydroxylations, épimérisations et oxydations successives (**Clouse, 2011**). Les BRs possèdent de nombreux sites de conjugaison, permettant la méthylation, épimérisation, estérification ou glycosylation pour permettre leur inactivation et probablement leur transport à travers la plante (**Ohnishi et al., 2006**)



**Figure 21** : Biosynthèse de Brassinostéroïde (BR) (**Clouse, 2011**).

## II. Régulation des interactions légumineuses-Rhizobia

Les phytohormones sont des molécules végétales endogènes influant sur la plante, ce sont les acteurs clé des programmes développementaux. Chez les légumineuses, ces molécules sont indispensables à la formation et à la régulation de la nodosité symbiotique, et leur influence sur les deux types d'organes racinaires (racine latérale et nodosité) peut être différente. Ces éléments tendent à soutenir l'hypothèse selon laquelle la reconnaissance des FNs par la plante sera ensuite essentielle pour induire les modifications cellulaires indispensables aux étapes d'infection et d'organogenèse de la nodosité impliquerait les voies hormonales, et donc que les LCOs pourraient interagir avec les voies hormonales (**Suzaki et al., 2015**).

La régulation et la signalisation hormonale de la plante ne peuvent pas être étudiées sans tenir compte de l'influence des micro-organismes (**Figure 26**). Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes peuvent produire des phytohormones, principalement de l'auxine, des CKs, des GAs ou encore de l'éthylène via des ACC déaminases. Enfin, ces phytohormones agissent fréquemment de façon additive antagoniste (**Figure 25**), ou en synergie sur divers stades de la symbiose (**Glick, 2005 ; Gupta et al., 2017**).

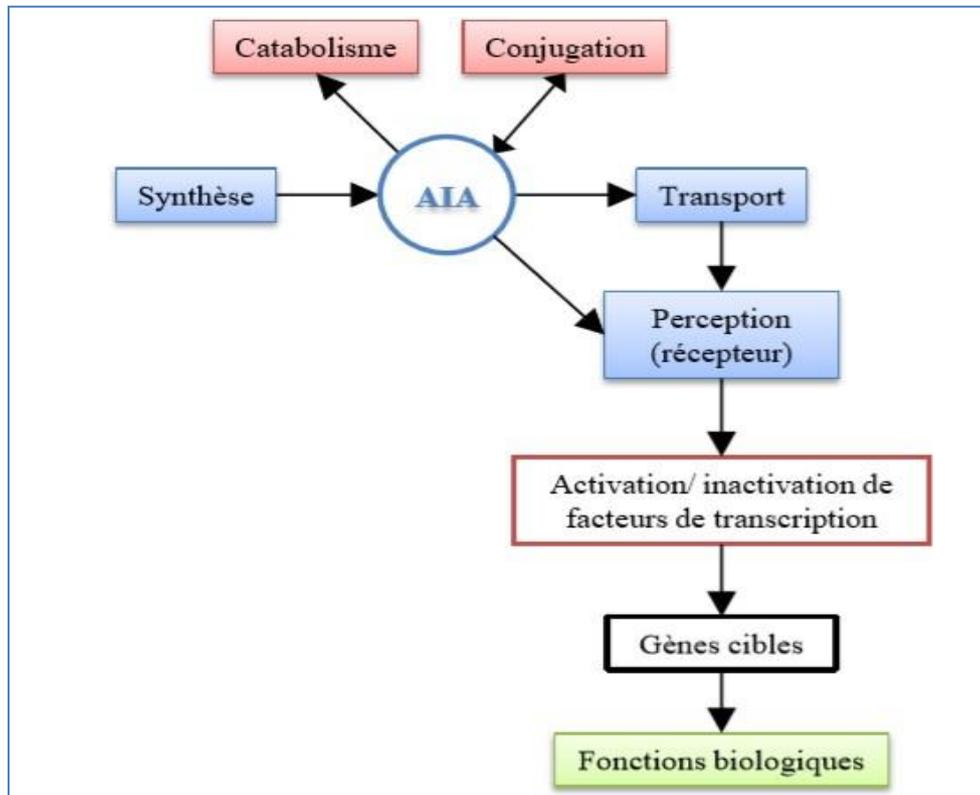
### II. 1. Auxines

La phytohormone auxine (Acide Indole Acétique, AIA) est indispensable à la symbiose légumineuses-Rhizobia, à différents niveaux. En tant que régulateur clé du développement des organes racinaires (**Spaepen et al., 2007**).

L'AIA joue un rôle important dans le développement de la nodosité (**Mathesius, 2008**). En premier lieu, il a été montré que les rhizobia étaient capables de produire de l'auxine, et que cet apport d'auxine exogène pouvait contribuer à la formation des nodosités (**Spaepen et al., 2007**). La production d'AIA par le symbionte peut être induite par des flavonoïdes produits par la plante, également impliqués dans la synthèse de facteurs *Nod* (**Theunis et al., 2004**). Par ailleurs, il a été montré que des applications d'AIA sur des plantes non-légumineuses peuvent induire la formation de structures ressemblant à des nodosités (**Rightmyer et Long, 2011**).

Outre ce mécanisme, la formation des nodosités est également dépendante de l'auxine endogène, et particulièrement de son transport polarisé dans la plante. Il a été démontré chez *Trifolium repens* que les rhizobia induisent une modification du transport d'auxine de la racine, et provoquent une accumulation locale d'auxine en amont de la zone d'application des rhizobia. Cependant, une application locale d'inoculum de rhizobium provoque une altération locale du gradient d'auxine, observable par le profil d'expression du gène rapporteur (**Mathesius et al., 1998**). Par ailleurs, il a été montré que l'application d'inhibiteurs du transport polaire de l'auxine, tels le NPA (*Naphtylphthalamic Acid*), peut induire la formation de structures ressemblant à des nodosités, et l'activation de gènes symbiotiques identifié comme impliqué dans la formation du système vasculaire du nodule et dans les échanges de nutriments entre la plante et les bactéries (**Rightmyer et Long, 2011**), (**Godiard et al., 2011**).

Pour finir, la construction sensible à l'auxine a été utilisée pour étudier la réponse à l'auxine au cours du développement de la nodosité : il a été démontré que l'auxine s'accumulait seulement lors de la prolifération des cellules corticales, corroborant ainsi le rôle de l'auxine au cours des divisions cellulaires de la nodosité (**Figure 22**) (**Suzaki *et al.*, 2012**).



**Figure 22:** Voies de signalisation de l'auxine. Adapté de (**Kieffer *et al.*, 2010**).

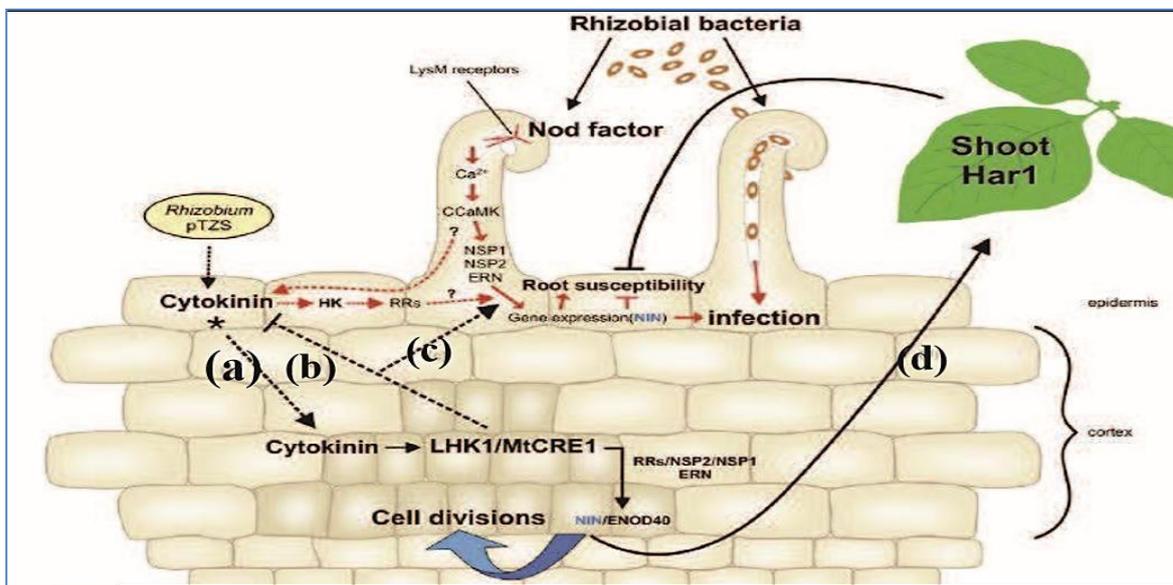
## **II. 2. Cytokinines**

Les cytokinines (CK) sont l'un des principaux régulateurs de la symbiose légumineuse-rhizobia, sont des hormones dont le rôle sur le développement racinaire est globalement inhibiteur, tandis qu'elles sont requises pour le développement de la nodosité (**Figure 23**) (**Fukaki et Tasaka, 2009**).

Chez *M. truncatula*, le gène MtCRE1, codant pour un récepteur des CK, a été décrit comme requis afin d'intégrer des signaux rhizobiens dans le processus d'infection nodulaire, il a été démontré grâce à des approches génétiques basées sur l'étude de mutants liés aux hormones que le mutant *Mtcre1* répondait légèrement moins que le génotype sauvage aux facteurs *Nod*. En plus, les plantes portant une construction RNAi

(*knockdown*) de MtCRE1 montrent un blocage partiel des infections dans les poils absorbants racinaires, ainsi qu'une importante réduction des divisions corticales associées à la formation de la nodosité (Gonzalez-Rizzo *et al.*, 2006).

De plus, les CK induisent chez *M. truncatula* plusieurs gènes symbiotiques tels que les gènes codant pour des facteurs de transcription NSP2, NIN, et ERN1. Il a été constaté que certaines formes de CK peuvent être produites par les rhizobia, montrant que les bactéries peuvent stimuler la voie de régulation positive des CK chez la plante, afin de stimuler l'infection, il est possible aussi que les rhizobia aient recruté cette capacité de produire des molécules similaires aux cytokinines afin de participer dans la voie de signalisation en réponse aux facteurs *Nod* (Rival *et al.*, 2012).



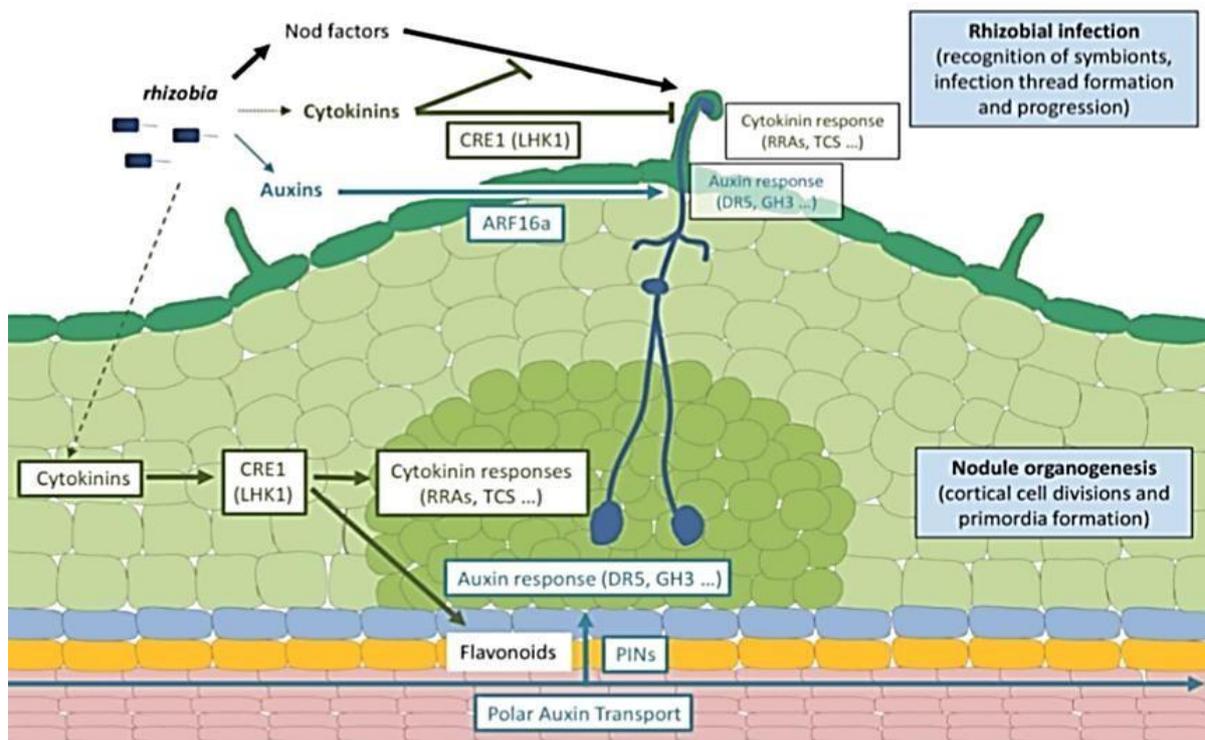
**Figure 23** : Rôle des cytokinines dans le processus d'infection et de nodulation (Rival *et al.*, 2012).

## II. 2. 1. Interaction entre l'auxine et les cytokinines

L'auxine et les cytokinines sont connues pour agir en interaction dans de nombreux processus, ainsi pour la formation de racine latérale.

Les CK ont globalement un rôle négatif : elles inhibent la production de la protéine PIN1, permettant le transport actif de l'auxine. En revanche, elles sont décrites pour stimuler les divisions corticales lors du développement de la nodosité (Figure 24) (Plet *et al.*, 2011). Un des effets des cytokinines est de permettre la cytokinèse c'est-à-dire la

formation d'une paroi transversale assurant la séparation de deux cellules filles. C'est en raison de cette action spécifique sur cette phase de la division cellulaire que le nom de cytokinin a été donné à ces hormones. Il faut également remarquer que dans les conditions des essais biologiques les cytokinines seules sont sans action sur la division cellulaire mais qu'elles ne peuvent agir qu'en présence d'auxine (**Rival *et al.*, 2012**). En ce qui concerne les divisions corticales, il est très bien connu que les CK interagissent avec l'auxine pour réguler les divisions cellulaires. Les cytokinines conjuguées à l'auxine, activent la division cellulaire (l'auxine favorise la duplication de l'ADN; les cytokinines permettent la séparation des chromosomes). Pour finir, AIA et CK interviennent d'une façon antagoniste sur l'organogenèse des nodules (**Miller *et al.*, 1975**).



**Figure 24** : Rôles des auxines et des cytokinines lors des interactions symbiotiques (**Boivin *et al.* 2016**).

### II. 3. Gibbérellines

Les gibbérellines (GA) sont également importantes dans la régulation des symbioses. Il a été montré que la mutation dans le gène responsable de la biosynthèse des GA (na-1 de *P. sativum* (Pois)), présente des nodosités malformées et une réduction globale du nombre

de nodules (**Ferguson et al., 2011**). En plus, chez *Lotus japonicus* (Lotier), il a été démontré que l'application de GA provoque une inhibition de la voie de signalisation symbiotique en réponse aux facteurs *Nod*, en aval de l'action des CK, prouvant ainsi que cette hormone joue un rôle dans la formation de la nodosité (**Maekawa et al., 2009**).

#### **II. 4. Brassinostéroïdes**

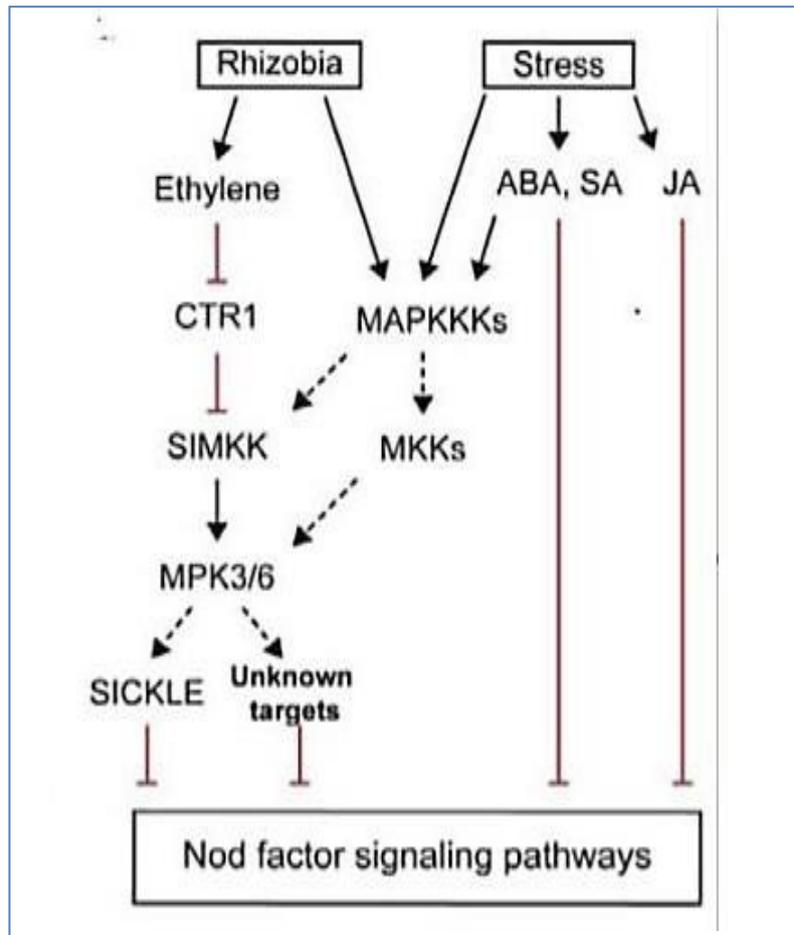
Les Brassinostéroïdes semble impliquer dans la symbiose légumineuse rhizobia, il permettrait comme pour les autres familles d'hormones, leur inactivation et probablement leur transport à travers la plante grâce à leur structure, stéroïdique poly-hydroxylés (**Figure 14I**), présentant une grande variété de stéréo-isomères et de chaînes latérales, en effet cette phytohormone possède de nombreux sites de conjugaison, permettant méthylation, épimérisation, estérification ou glycosylation (**Ohnishi et al., 2006**).

#### **II. 5. Ethylène**

L'éthylène agit très souvent en interaction avec l'auxine que ce soit pour le développement des racines latérales ou des nodosités (**Figure 26**). Elle inhibe l'infection rhizobienne (**Figure 25**). Il réduit l'initiation des cordons d'infections et les oscillations calciques en réponse aux facteurs *Nod* (Oldroyd et al., 2001). Il régule également la position des primordia de nodosités au sein de la racine principale (**Heidstra et al., 1997**).

Il a été montré que le mutant *sickle* de *M. truncatula*, affecté dans la sensibilité à l'éthylène, présente un phénotype hyper-nodulant que le génotype sauvage. L'éthylène est décrit pour réguler le transport de l'auxine (**Prayitno et al., 2006b**). Ainsi, l'éthylène pourrait inhiber l'accumulation d'auxine au niveau du site d'initiation de la nodosité. En outre, l'éthylène a été démontré comme responsable de la régulation de l'infection par les rhizobia, par intégration de mécanismes de défense (**Penmetsa et al., 2008**).

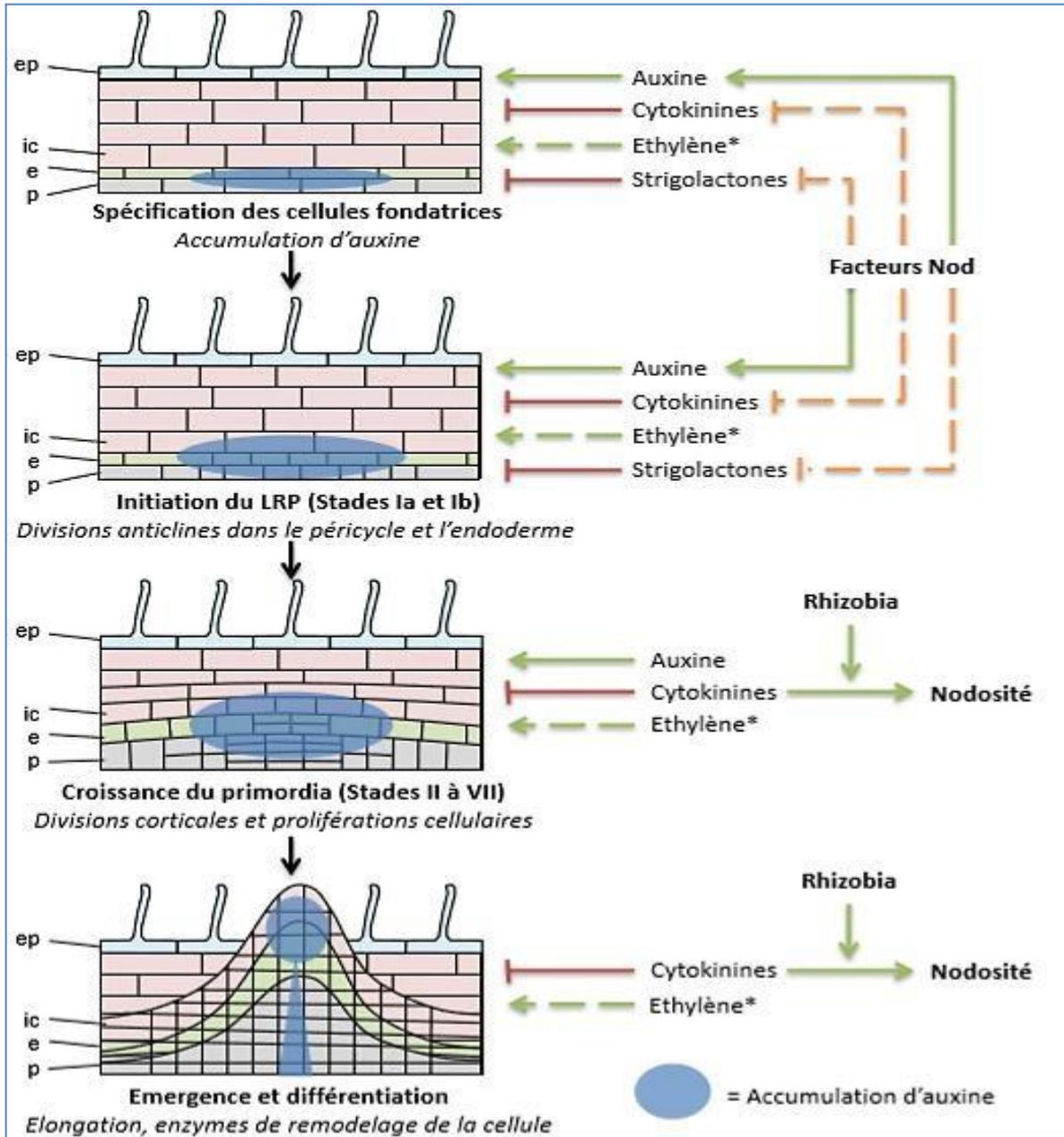
Les rhizobiums semblent contribuer également aux taux d'éthylène pendant la nodulation afin d'améliorer la tolérance des légumineuses au stress environnemental (**Prayitno et al., 2006a**).



**Figure 25** : Rôle de l'éthylène dans l'inhibition locale de la nodulation (**Penmetsa et al., 2008**).

## II. 6. Acide abscissique

L'Acide abscissique (ABA) est une phytohormone décrite pour interagir avec l'auxine, via le gène *ABA INSENSITIVE 3 (ABI3)*, dont l'expression est localisée dans les praimodium des racines latérales (**Brady et al., 2003**). La signalisation de l'ABA via *ABI3* est donc requise pour la formation des racines latérales. Des applications d'acide abscissique provoquent une inhibition de l'infection et de la formation de la nodosité. L'ABA régule la réponse aux facteurs *Nod* inhibant le signal calcique induit par ces derniers. Par ailleurs, un variant dominant négatif du gène *ABI1 (ABSCISSIC ACID INSENSITIVE 1)* chez *M. truncatula*, impliqué dans la sensibilité à l'ABA, entraîne un phénotype hyper-nodulant. Il semble également que l'effet de l'ABA sur l'inhibition de la nodulation soit dépendante de l'action des CK sur les divisions corticales lors de la formation de la nodosité (**Ding et al., 2008**).



**Figure 26 :** Modèle du développement du primordium nodulaire et de l'intervention des facteurs Nod et des phytohormones (Violaine, 2013)

Les effets stimulateurs sont indiqués par une flèche verte, les effets inhibiteurs par une ligne rouge, les effets dont on ignore la nature par des flèches orange, les effets qui ne sont pas sûrs sont en pointillés.

# **Conclusion**

Cette étude théorique a pour but de récapituler les connaissances actuelles sur le dialogue moléculaire lors de la symbiose entre légumineuse et rhizobia. Cette thèse s'intéresse aux effets des différents facteurs symbiotiques et leurs rôles dans le déclenchement et stimulation de la symbiose. Également, une attention particulière a été portée aux phytohormones, comme molécules de signalisation. Les résultats obtenus des expériences faites sur ces phytohormones permettent d'établir de nouvelles hypothèses sur leur rôle, dans la régulation de la symbiose légumineuse-rhizobia.

Neuf familles différentes de phytohormones ont été identifiées, influençant l'ensemble des processus physiologiques de croissance, de différenciation et de développement des plantes, jouant aussi un rôle central dans l'activation des voies de signalisation impliquées dans la réponse aux stress biotiques et abiotiques. Ainsi, la liaison des phytohormones à leur récepteur respectif induit une cascade de signalisation spécifique, par phosphorylation du récepteur ou formation d'un complexe avec un co-récepteur, pour induire la transcription des différents gènes de réponse. Notamment, six hormones ont été identifiées, AIA, CK, ET, ABA, BR et GA qui interagissent en synergie avec le facteur Nod, ce dernier comme étant sécrété par les rhizobia en réponse aux flavonoïdes exsudés par la plante hôte via le système racinaire (site de reconnaissance et de formation de nodule : siège de la symbiose). De ce fait, on peut conclure que les phytohormones jouent un rôle prépondérant dans la régulation et la signalisation symbiotique entre légumineuse et rhizobia.

Bien qu'ils sont identifiées chez les rhizobactéries, les phytohormones sont encore considérées comme ciblant exclusivement les plantes (légumineuses). Ce travail ouvre des perspectives au regard de la régulation des hormones végétales chez les micro-organismes. Leur impact, sur les deux partenaires de la symbiose, permettraient de considérer ces hormones comme des molécules de communication inter-règnes et permettraient d'élargir la vision des interactions entre les légumineuses et leur environnement.

La dépendance planétaire vis-à-vis du procédé Haber-Bosch (engrais azoté) est loin de s'estomper à court terme, il devient de plus en plus urgent de développer d'autres pratiques agricoles plus respectueuses de l'environnement et plus durables. Une partie de la solution se

trouve sans doute dans l'utilisation de potentielles des légumineuses (fixation biologique de l'azote) dans les rotations agricoles, et améliorer les performances de l'agronomie en tirant profit des approches biotechnologiques visant à transférer les capacités symbiotiques des légumineuses à d'autres familles de plante.

## **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

---

**Aber JD, Nadelhoffer KJ, Steudler P, Melillo JM.** Nitrogen saturation in northern forest ecosystems excess nitrogen from fossil fuel combustion may stress the biosphere.

BioScience. 1989 ; 39 : 378-386.

**Allen ON, Allen EK.** The Leguminosae. A source book of characteristics, uses and nodulation. Madison, WI : University of Wisconsin Press. 1981

**Arason GJ.** Lectins as defence molecules in vertebrates and invertebrates. Fish & Shellfish Immunology. 1996 ; 6 : 277-289.

**Atlas RM. et Bartha R.** Microbial Ecology: Fundamentals and Applications. Benjamin Cummings Science Publishing, California, Menlo Park. 1998 ; 218-280.

**Azani N, Babineau M, Bailey C, Banks H, Barbosa, AR, Pinto RB, Boatwright JS, Borges LM, Brown GK, Bruneau A, et al.** A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). Taxon . 2017 ; 66, 44-77.

**Bajguz A.** Metabolism of brassinosteroids in plants. Plant Physiology and Biochemistry . 2007 : 45, 95-107.

**Barton L, McLay CDA, Schipper LA. et Smith CT.** Annual denitrification rates in agricultural and forest soils: a review. Aust. J. Soil Res. 1999 ; 37 : 1073-1093.

**Boivin S, Fonouni FC , Frugier F.** How Auxin and Cytokinin Phytohormones Modulate Root Microbe Interactions. Frontiers in Plant Science. 2016 ; 1 :7-10.

**Bonaldi K, Gourion B, Fardoux J, Hannibal L, Cartieaux F, Boursot M, Vallenet D, Chaintreuil C, Prin Y, Nouwen N, et al.** Large-scale transposon mutagenesis of photosynthetic bradyrhizobium Sp. strain ORS278 reveals new genetic loci putatively important for nod-independent symbiosis with *aeschynomene indica*. Mol. Plant-Microbe Interact. 2010 ; 23, 760-770.

**Brady SM, Sarkar D, Bonetta, and McCourt P.** The ABSCISIC ACID INSENSITIVE 3 (ABI3) gene is modulated by farnesylation and is involved in auxin signaling and lateral root development in *Arabidopsis*: Plant Journal. 2003 ; 34 : 67-75.

**Brencic A, Winans SC.** Detection of and response to signals involved in host-microbe interactions by plant-associated bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 2005 ; 69: 155-194.

**Brewin NJ.** Plant cell wall remodelling in the Rhizobium-legume symbiosis. Critical reviews in plant sciences. 2004. 6 : 56-61.

**Bürger M, Chory J, Bürger M.** The Many Models of Strigolactone Signaling The Growing Family of SL Molecules. Trends in Plant Science. 2020 : 25.

## Références bibliographiques

---

- Clouse SD.** Brassinosteroids. *The Arabidopsis Book* . 2011 ; 9, 01-51.
- Cooper JE.** Multiple responses of rhizobia to flavonoids during legume root infection. *Advances in Botanical Research*. 2004 ; 41: 1-62.
- Costa E, Pérez J, et Kreft, JU.** Why is metabolic labour divided in nitrification?. *Trends Microbiol.* 2006 ; 14: 213-219.
- Czernic P, Gully D, Cartieaux F, Moulin L, Guefrachi I, Patrel D, Pierre O, Fardoux J, Chaintreuil C, Nguyen P, et al.** Convergent evolution of endosymbiont differentiation in Dalbergioid and inverted repeat-lacking clade legumes mediated by nodule-specific cysteine-rich peptides. *Plant Physiology*. 2015 ; 169 : 1254-1265.
- De Faria SM, Lewis GP, Sprent JI, Sutherland JM.** Occurrence of nodulation in the Leguminosae. *New Phytologist* . 1989 ; 111 : 607-619.
- Delker C, Stenzel I, Hause B, Miersch O, Feussner I, Wasternack C.** Jasmonate Biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* - Enzymes, Products, Regulation. *Plant Biology*. 2006 ; 8 : 297-306.
- Dempsey DA, Vlot AC, Wildermuth MC, Klessig DF.** Salicylic Acid Biosynthesis and Metabolism. *The Arabidopsis Book*. 2011 ; 9.
- Dénarié J, Debelle F, Promé JC.** Rhizobium lipo-chitoooligosaccharide nodulation factors : signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Annual Review of Biochemistry* . 1996 ; 65 : 503-535.
- Ding Y, Kalo C, Yendrek J, Sun Y, Liang J F, Marsh JM, Harris, and Oldroyd GE,** Abscisic acid coordinates nod factor and cytokinin signaling during the regulation of nodulation in *Medicago truncatula*: *Plant Cell*. 2008 ; 20: 81-95.
- Dise NB, Rothwell JJ, Gauci, V, Van der Salm C. et De Vries W.** Predicting dissolved inorganic nitrogen leaching in European forests using two independent databases. *Sci. Total Environ.* 2009 ; 407 : 1798-1808
- Downie JA, Couzigou JM, Zhukov V, Mondy S, Heba GA. el, Cosson V, Ellis THN, Ambrose M, Wen J, Tadege M, et al.** Legume nodulation. *Curr. Biol.* 2014 ; 24 : 184-190.
- Doyle JJ.** Phylogenetic perspectives on nodulation: evolving views of plants and symbiotic bacteria. *Trends Plant Sci.* 1998 ; 12 : 473-478.
- Doyle JJ, and Luckow MA.** The Rest of the Iceberg. *Legume Diversity and Evolution in a Phylogenetic Context.* *Plant Physiol.* 2003 ; 13: 900-910.
- Ferguson B, Foo J, Ross J, and Reid JB,** Relationship between gibberellin, ethylene and nodulation in *Pisum sativum*: *New Phytologist*, 2011 ; 189 : 829-842.
- Fischer HM.** Genetic regulation of nitrogen fixation in rhizobia. *Microbiology and Molecular Biology Reviews.*, 1994 ; 58 :352-386.

## Références bibliographiques

---

**Fonseca S, Chini A, Hamberg M, Adie B, Porzel A, Kramell R, Miersch O, Wasternack C, Solano R.** (+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucine is the endogenous bioactive jasmonate. *Nature Chemical Biology* . 2009 ; 5: 344-350.

**Foo E, Plett JM, Lopez-Raez JA, Reid D. Editorial:** The Role of Plant Hormones in Plant-Microbe Symbioses. *Front Plant Sci.* 2019 ; 10 : 1391.

**Fowler D, Coyle M, Skiba U, Sutton MA, Cape JN, Reis S, Sheppard LJ, Jenkins A, Grizzetti B, Galloway JN, et al.** The global nitrogen cycle in the twenty-first century. *Phil. Trans. R. Soc. B* . 2013 ; 368 : 164.

**Franché C, Lindström K, Elmerich C.** « Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. » *Plant and Soil* . 2009 ; 321: 35-59

**Fukaki H, and Tasaka M,** Hormone interactions during lateral root formation: *Plant Mol Biol*, 2009 ; 69 : 437-49.

**Fukuda H, Ogawa T, Tanase S.** Ethylene production by micro-organisms. *Advances in Microbial Physiology* . 1993 ; 35 : 275-306.

**Gage DJ.** Infection and Invasion of Roots by Symbiotic, Nitrogen-Fixing Rhizobia during Nodulation of Temperate Legumes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2004 ; 68 : 280-300.

**Galloway JN, Aber JD, Erisman JW, Seitzinger SP, Howarth RW, Cowling EB, Cosby BJ.**The nitrogen cascade. *BioScience* . 2003 ; 53 : 341-356.

**Gibson KE, Kobayashi H, Walker GC.** Molecular determinants of a symbiotic chronic infection. *Annual Review of Genetics* . 2008 ; 42: 413-441.

**Glick BR.** Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiology Letters.* 2005 ; 251: 1-7

**Godiard L, Lepage S, Moreau D, Laporte M, Verdenaud T, Timmers T and Gamas P,** MtbHLH1, a bHLH transcription factor involved in *Medicago truncatula* nodule vascular patterning and nodule to plant metabolic exchanges: *New Phytol.* 2011 ; 191: 391-404.

**Gonzalez-Rizzo S, Crespi M, and Frugier F,** The *Medicago truncatula* CRE1 cytokinin receptor regulates lateral root development and early symbiotic interaction with *Sinorhizobium meliloti*: *Plant Cell.* 2006 ;18 : 2680-93.

**Gough C, Cullimore J.** Lipo-chitoooligosaccharide signaling in endosymbiotic plant-microbe interactions. *Mol Plant Microbe Interact.* 2011; 24 : 867-878.

**Graham PH, and Vance CP.** Legumes: Importance and Constraints to Greater Use. *Plant Physiol.* 2003 ; 131: 872-877.

**Guan D, Stacey N, Liu CW, Wen JQ, Mysore KS, Torres-Jerez I, Vernie T, Tadege M, Zhou CN, and Wang ZY,** Rhizobial Infection Is Associated with the Development of

## Références bibliographiques

---

Peripheral Vasculature in Nodules of *Medicago truncatula*: *Plant Physiology*. 2013 ; 162 :107-115.

**Gulash M, Ames P, Larosiliere RC, Bergman K.** Rhizobia are attracted to localized sites on legume roots. *Applied and Environmental Microbiology*. 1984 ; 48 : 149-152.

**Gupta S, Seth R, Sharma A.** Plant growth-promoting rhizobacteria play a role as phyto-stimulators for sustainable agriculture. *Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture*. Springer Singapore. 2017 ; 475-793.

**Halbleib CM, and Ludden PW.** Regulation of biological nitrogen fixation. *J. Nutr.* 2000 ; 130 :1081-1084.

**Haruta M, Sussman MR.** Ligand Receptor-Mediated Regulation of Growth in Plants. *Current Topics in Developmental Biology*. Academic Press Inc. 2017 ; 331-363.

**Heidstra R, Yang W, Yalcin Y, Peck S, Emons AM, vanKammen A, and Bisseling T,** Ethylene provides positional information on cortical cell division but is not involved in Nod factor-induced root hair tip growth in *Rhizobium-legume* interaction: *Development*. 1997 ; 124 : 1781-1787.

**Hirakawa Y, Torii KU, Uchida N.** Mechanisms and Strategies Shaping Plant Peptide Hormones. *Plant & cell physiology* . 2017 ; 58 : 1313-1318.

**Hirsch AM.** Developmental biology of legume nodulation. *New Phytologist*. 1992 ; 122:211-237.

**Inoue T, Higuchi M, Hashimoto Y, Seki M, Kobayashi M, Kato T, Tabata S, Shinozaki K, Kakimoto T.** Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from *Arabidopsis*. *Nature*. 2001 ; 409 : 1060-1063.

**Jones KM, Kobayashi H, Davies BW. et al.** How rhizobial symbionts invade plants: the *Sinorhizobium-Medicago* model. *Nature Reviews Microbiology* . 2007 ; 5: 619-633

**Kakimoto T.** Identification of plant cytokinin biosynthetic enzymes as dimethylallyl diphosphate:ATP/ADP isopentenyltransferases. *Plant and Cell Physiology* . 2001 ; 42 : 677-685.

**Kaye JP, Hart SC.** Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends in Ecology & Evolution*. 1997 ; 12 : 139-143.

**Kisiala A, Laffont C, Emery R, and Frugier F,** Bioactive Cytokinins Are Selectively Secreted by *Sinorhizobium meliloti* Nodulating and Nonnodulating Strains: *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2013 ; 26 : 1225-1231.

**Koo AJK, Howe GA.** Catabolism and deactivation of the lipid-derived hormone jasmonoyl-isoleucine. *Frontiers in Plant Science*. 2012 ; 3.

## Références bibliographiques

---

**Kudo T, Kiba T, Sakakibara H.** Metabolism and long-distance translocation of cytokinins. *Journal of Integrative Plant Biology*. 2010 ; 52 : 53-60.

**Kurakawa T, Ueda N, Maekawa M, Kobayashi K, Kojima M, Nagato Y, Sakakibara H, Kyojuka J.** Direct control of shoot meristem activity by a cytokinin-activating enzyme. *Nature*. 2007; 445 : 652-655.

**Kushiro T, Okamoto M, Nakabayashi K, Yamagishi K, Kitamura S, Asami T, Hirai N, Koshiha T, Kamiya Y, Nambara E.** The Arabidopsis cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8' hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism. *The EMBO Journal* . 2004 ; 23 : 1647-1656.

**Lerouge P, Roche , Faucher C, et al.** Symbiotic hostspecificity of *Rhizobium meliloti* is determined by a sulphated and acylated glucosamine oligosaccharide signal. *Nature*. 1990 ; 344 : 781-4.

**Lerouge P, Roche P, Faucher C, Maillet F, Truchet G, Promé JC, and Dénarié J.** Symbiotic host-specificity of *Rhizobium meliloti* is determined by a sulphated and acylated glucosamine oligosaccharide signal. *Nature*. 1990 ; 344 : 781-784.

**Lindström K, Amsalu Aserse A, and Mousavi SA.** Evolution and Taxonomy of NitrogenFixing Organisms with Emphasis on Rhizobia. In *Biological Nitrogen Fixation*, F.J. de Bruijn, ed. (Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc). 2015 ; 1 : 21-38.

**Liu CW, Breakspear A, Stacey N, Findlay K, Nakashima J, Ramakrishnan K, Liu M, Xie F,Endre G, de Carvalho-Niebel F, et al.** A protein complex required for polar growth of rhizobial infection threads. *Nat. Commun*. 2019 ; 10 : 1-17.

**Liu WYY, Ridgway HJ, James TK, James EK, Chen WM, Sprent JI, Young JPW, and Andrews M.** *Burkholderia* sp. Induces Functional Nodules on the South African Invasive Legume *Dipogon lignosus* (Phaseoleae) in New Zealand Soils. *Microb. Ecol*. 2014 ; 68 : 542-555.

**Maathuis FJ.** Physiological functions of mineral macronutrients. *Curr. Opin. Plant Biol*. 2009 ; 12 : 250–258.

**Madsen EB, Madsen LH, Radutoiu S, Olbryt M, Rakwalska M, Szczyglowski K, SatoS, Kaneko T, Tabata S, Sandal N, et al.** A receptor kinase gene of the LysM type is involved in legume perception of rhizobial signals. *Nature*. 2003 ; 425 : 637-640.

**Maekawa T, Maekawa-Yoshikawa M, Takeda N, Imaizumi-Anraku H, Murooka Y, and Hayashi M,** Gibberellin controls the nodulation signaling pathway in *Lotus japonicus*: *Plant Journal*. 2009 ;58 : 183-194.

**Maj D, Wielbo J, Marek-Kozaczuk M, et Skorupska A.** Response to flavonoids as a factor influencing competitiveness and symbiotic activity of *Rhizobium leguminosarum*. *Microbiological research*. 2010; 165: 50-60.

## Références bibliographiques

---

- Mathesius U.**, Auxin: at the root of nodule development?: *Functional Plant Biology*. 2008 ;35 : 651-668.
- Mathesius U, Schlaman H, Spaink H, Sautter C, Rolfe B, Djordjevic M.** Auxin transport inhibition precedes root nodule formation in white clover roots and is regulated by flavonoids and derivatives of chitin oligosaccharides: *Plant J*. 1998 ; 14 : 23-34.
- Mendes R, Raaijmakers JM.** Cross-kingdom similarities in microbiome functions. *The ISME Journal*. 2015; 9 : 1905-1907.
- Miller CO, Skoog F, Saltza MH, Ron S.** Kinetin, a cell division factors from deoxy ribonucleic acid. *J. Amer. Chem. Soc.* . 1975 ; 77 : 1329-1334.
- Mousavi SA, Willems A, Nesme X, de Lajudie P, Lindström K.** Revised phylogeny of Rhizobiaceae: Proposal of the delineation of *Pararhizobium* gen. nov., and 13 new species combinations. *Syst. Appl. Microbiol.* 2015 ; 38 : 84-90.
- Mylona P, Pawlowski K, Bisseling T.** Symbiotic nitrogen fixation. *The Plant Cell*. 1995 ; 7 : 869.
- Nambara E, Marion-Poll A.** Abscisic acid biosynthesis and catabolism. *Annual Review of Plant Biology*. 2005 ; 56 : 165-185.
- Newton WE, Dilworth MJ.** Assays of Nitrogenase Reaction Products. In *Nitrogen Fixation*, (Humana Press). 2011 ; 105-127.
- Nürnberg T.** Signal perception in plant pathogen defense. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 1999 ; 55 : 167-182.
- Oenema O, Witzke HP, Klimont Z, Lesschen JP, Velthof GL.** Integrated assessment of promising measures to decrease nitrogen losses from agriculture in EU27. *Agric. Ecosyst. Environ.* . 2009 ; 133 : 280-288.
- Ohnishi T, Nomura T, Watanabe B, Ohta D, Yokota T, Miyagawa H, Sakata K, Mizutani M.** Tomato cytochrome P450 CYP734A7 functions in brassinosteroid catabolism. 2006.
- Oldroyd GE, Murray JD, Poole PS, Downie JA.** The rules of engagement in the legume-rhizobial symbiosis. *Annu. Rev. Genet.* 2011 ; 45: 119-144.
- Oldroyd GED.** Speak, friend, and enter : signalling systems that promote beneficial symbiotic associations in plants. *Nature Reviews. Microbiology*. 2013 ; 11 : 252-263.
- Oldroyd GED, Engstrom EM, Long SR.** Ethylene inhibits the nod factor signaltransduction pathway of *Medicago truncatula*: *Plant Cell*. 2001 ; 13 : 1835-1849.
- Ott T, Van Dongen JT, Günther C, Krusell L, Desbrosses G, Vigeolas H, Bock V, Czechowski T, Geigenberger P, Udvardi MK.** Symbiotic leghemoglobins are crucial for nitrogen fixation in legume root nodules but not for general plant growth and development.

## Références bibliographiques

---

Current Biology. 2005 ; 15: 531-535.

**Parniske M, Downie JA.** Locks, Keys and symbioses. Nature 2003 ; 245 : 569-70.

**Patriarca EJ, Tatè R, Ferraioli S, Iaccarino M.** Organogenesis of legume root nodules. International Review of Cytology . 2004 ; 234 : 201-262.

**Penmetsa RV, Uribe P, Anderson J, Lichtenzveig J, Gish JC, Nam YW, Engstrom E, Xu K, Sckisel G, Pereira M, Baek JM, Lopez-Meyer M, Long SR, Harrison MJ, Singh KB, Kiss GB, Cook DR.** The Medicago truncatula ortholog of Arabidopsis EIN2, sickle, is a negative regulator of symbiotic and pathogenic microbial associations: Plant Journal. 2008 ; 55 : 580-595.

**Perret X, Staehelin C, Broughton WJ.** Molecular Basis of Symbiotic Promiscuity. 2000.

**Pierre O, Hopkins J, Combier M, Baldacci F, Engler G, Brouquisse R, Hérouart D, Boncompagni E.** Involvement of papain and legumain proteinase in the senescence process of Medicago truncatula nodules. New Phytol. 2014 ; 202 : 849-863.

**Plet J, Wasson A, Ariel F, Le Signor C, Baker D, Mathesius U, Crespi M, Frugier F.** MtCRE1-dependent cytokinin signaling integrates bacterial and plant cues to coordinate symbiotic nodule organogenesis in Medicago truncatula: Plant. 2011; 65 : 622-633.

**Prather M, Ehalt D, Dentener F, Derwent R, Dlugokencky E, Holland E, Isaksen I, Katima J, Kirchhoff V, Matson P, Midgley P, Wang M.** Atmospheric chemistry and greenhouse gases. Climate change :. Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, NY. the scientific basis. 2001.

**Prayitno J, Imin N, Rolfe BG, Mathesius U.** Identification of ethylene-mediated protein changes during nodulation in Medicago truncatula using proteome analysis: J Proteome Res. 2006 ; 5 : 84-95.

**Pueppke SG, Broughton WJ.** Rhizobium sp . Strain NGR234 and R . fredii USDA257 Share Exceptionally Broad , Nested Host Ranges. 1999 ; 12 : 293-318.

**Rae AL, Bonfante-Fasolo P, Brewin NJ.** Structure and growth of infection threads in the legume symbiosis with Rhizobium leguminosarum. The Plant Journal. 1992 ; 2 : 385-395.

**Raven JA, Edwards D.** Roots: evolutionary origins and biogeochemical significance. J. Exp. Bot. 2001 ; 52 : 381-401

**Rennenberg H, Dannenmann M, Gessler A, Kreuzwieser J, Simon J, Papen H.** Nitrogen balance in forest soils: nutritional limitation of plants under climate change stresses. Plant Biol. 2009 ; 11: 4-23.

**Rightmyer AP, Long SR.** Pseudonodule formation by wild-type and symbiotic mutant Medicago truncatula in response to auxin transport inhibitors: Mol Plant Microbe Interact. 2011 ; 24 : 84-1372.

## Références bibliographiques

---

- Rival P, de Billy F, Bono JJ, Gough C, Rosenberg C, Bensmihen S.** Epidermal and cortical roles of NFP and DMI3 in coordinating early steps of nodulation in *Medicago truncatula*: Development. 2012 ; 139 : 3383-3391.
- Ruegger M, Dewey E, Gray WM, Hobbie L, Turner J, Estelle M.** The TIR1 protein of *Arabidopsis* functions in auxin response and is related to human SKP2 and yeast Grr1p. Genes and Development. 1998; 12 : 198–207.
- Sauer M, Robert S, Kleine-Vehn J.** Auxin: simply complicated. Journal of Experimental Botany. 2013 ; 64 : 2565-2577.
- Seto Y, Yamaguchi S.** Strigolactone biosynthesis and perception. Current Opinion in Plant Biology. 2014 ; 21 : 1-6.
- Skorupska A, Wielbo J, Kidaj D, Marek-Kozaczuk M.** Enhancing Rhizobium– Legume Symbiosis Using Signaling Factors. In Khan MS, Zaidi A, Musarrat J (eds) Microbes for Legume Improvement . Springer-Verlag/Wien Printed in Germany. 2010 : 27.
- Smil V.** Nitrogen in crop production : An account of global flows. Global Biogeochem. Cycles. 1999 ; 13: 647-662
- Smil V.** Biofixation and nitrogen in the biosphere and in global food production. In : Nitrogen fixation: global perspectives. T.M. Brogan et al. ed., CAB International, New York. 2002 ; 1 : 7-9.
- Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R.** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling: Fems Microbiology Reviews. 2007 ; 31 : 425-448.
- Sprent J.** Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation. New Phytologist. 2007 ; 174: 11-25.
- Sprent JI, Ardley JK, James EK.** From North to South: A latitudinal look at legume nodulation processes. South African J. Bot. 2013; 89 : 31–41.
- Suty L.** Les végétaux: Des symbioses pour mieux vivre. Éditions Quae. 2015.
- Suzaki T, Yano K, Ito M, Umehara Y, Suganuma N, Kawaguchi M.** Positive and negative regulation of cortical cell division during root nodule development in *Lotus japonicus* is accompanied by auxin response: Development. 2012 ; 139 : 3997-4006.
- Suzaki T, Yoro E, Kawaguchi M.** Leguminous Plants: Inventors of Root Nodules to Accommodate Symbiotic Bacteria. Int. Rev. Cell Mol. Biol. 2015 ; 316 : 111-158.
- Takei K, Yamaya T, Sakakibara H.** *Arabidopsis* CYP735A1 and CYP735A2 encode cytokinin hydroxylases that catalyse the biosynthesis of trans-Zeatin. Journal of Biological Chemistry. 2004 ; 279 : 41866-41872.
- Taylor LP, Grotewold E.** Flavonoids as developmental regulators. Current Opinion in Plant Biology. 2005 ; 8 : 317-323.

## Références bibliographiques

---

- Theunis M, Kobayashi H, Broughton WJ, Prinsen E.** Flavonoids, NodD1, NodD2, and nod-box NB15 modulate expression of the y4wEFG locus that is required for indole-3-acetic acid synthesis in *Rhizobium* sp strain NGR234: *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 2004 ; 17 : 1153-1161.
- Udvardi M, Poole PS.** Transport and Metabolism in Legume-Rhizobia Symbioses. *Annual Review of Plant Biology*. 2013 ; 64: 781-805.
- Udvardi M, Poole PS.** Transport and Metabolism in Legume-Rhizobia Symbioses. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2013 ; 64 : 781-805.
- Umehara M, Hanada A, Yoshida S, et al.** Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature*. 2008 ; 455 : 195-200.
- Van de Velde W, Zehirov G, Szatmari A, Debreczeny M, Ishihara H, Kevei Z, Farkas A, Mikulass K, Nagy A, Tiricz H, et al.** Plant peptides govern terminal differentiation of bacteria in symbiosis. *Science, New York*. 2010 ; 327 : 1122-1126.
- Van Kessel C, Hartley C.** Agricultural management of grain legumes: has it led to an increase in nitrogen fixation? *Field Crops Res.* 2000 ; 65 : 165–181.
- Vandenkoornhuysen P, Quaiser A, Duhamel M, Le Van A, Dufresne A.** The importance of the microbiome of the plant holobiont. *New Phytologist*. 2015 ; 206 : 1196-1206.
- Varbanova M, Yamaguchi S, Yang Y, et al.** Methylation of gibberellins by *Arabidopsis* GAMT1 and GAMT2. *Plant Cell*. 2007 ; 19 : 32-45.
- Vernié T, Kim J, Frances L, Ding Y, Sun J, Guan D, Niebel A, Gifford ML, de Carvalho-Niebel F, Oldroyd GED.** The NIN Transcription Factor Coordinates Diverse Nodulation Programs in Different Tissues of the *Medicago truncatula* Root. *Plant Cell*. 2015 ; 27 : 3410-3424.
- Vitousek PM, Howarth RW.** Nitrogen limitation on land and in the sea : How can it occur? *Biogeochemistry*. 1991 ; 13 : 87-115.
- Vreman HJ, Skoog F, Frihart CR, Leonard NJ.** Cytokinins in *Pisum* Transfer Ribonucleic Acid1 . 1972
- Wang B, Chu J, Yu T, Xu Q, Sun X, Yuan J, Xiong G, Wang G, Wang Y, Li J.** Tryptophan-independent auxin biosynthesis contributes to early embryogenesis in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015 ; 112: 4821-4826.
- Waters MT, Gutjahr C, Bennett T, Nelson DC.** Strigolactone Signaling and Evolution. *Annual Review of Plant Biology*. 2017 ; 68 : 291-322.
- Wood SM, Newcomb W.** Nodule morphogenesis : the early infection of Alfalfa (*Medicago sativa*) root hairs by *Rhizobium meliloti*. *Canadian Journal of Botany*. 1989 ; 67 : 3108-3122.

## Références bibliographiques

---

**Xiao TT, Schilderink S, Moling S, Deinum EE, Kondorosi E, Franssen H, Kulikova O, Niebel A, Bisseling T.** Fate map of *Medicago truncatula* root nodules. *Dev.* 2014 ; 141 : 3517-3528.

**Yahara T, Javadi F, Onoda Y, de Queiroz LP, Faith DP, Prado DE, Akasaka M, Kadoya T, Ishihama F, Davies S, et al.** Global legume diversity assessment : Concepts, key indicators, and strategies. *Taxon.* 2013 ; 62 : 249-266.

**Yamaguchi S.** Gibberellin metabolism and its regulation. *Annual Review of Plant Biology.* 2008 ; 59 : 225- 251.

**Yamamoto H, Nomata J, Fuita Y.** Functional expression of nitrogenase-like protochlorophyllide reductase from *Rhodobacter capsulatus* in *Escherichia coli*. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2008 ; 7 : 1238-1242.

**Young ND, Mudge J, Ellis TN.** Legume genomes: more than peas in a pod. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2003 ; 6 : 199-204

**Zhang J, Subramanian S, Stacey G, Yu O.** Flavones and flavonols play distinct critical roles during nodulation of *Medicago truncatula* by *Sinorhizobium meliloti*. *Plant Journal.* 2009 ; 57 : 171-183.

**Zhao Y.** Auxin Biosynthesis: A Simple Two-Step Pathway Converts Tryptophan to Indole-3-Acetic Acid in Plants. *Molecular Plant.* 2012 ; 5 : 334-338.

**Zipfel C, Oldroyd GED.** Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature.* 2017 ; 543 : 328-336.

**Résumé:** Les légumineuses présentent l'énorme avantage par rapport aux autres plantes de pouvoir s'associer à des bactéries du sol communément appelées rhizobiums. Cette association aboutit à la formation d'un petit organe particulier au niveau des racines, le nodule, au sein duquel les bactéries, grâce à leur activité nitrogénase, fixent l'azote atmosphérique et transfèrent celui-ci à la plante sous une forme combinée assimilable. Une caractéristique remarquable de l'association Rhizobia-légumineuse est son degré élevé de spécificité. Le développement de cette symbiose ne se fait pas au hasard ni de façon anarchique, mais repose sur un réseau complexe de boucles de régulation, de nombreux signaux moléculaires spécifiques sont échangés entre les deux partenaires tout au long de la formation de la nodosité. Les flavonoïdes libérés par la plante constituent le premier signal moléculaire qui permet l'activation chez la bactérie des gènes de nodulation responsables de la production de facteur *Nod*. Par ailleurs, il a été mis en évidence que les facteurs *Nod*, agissent de façon synergique avec les phytohormones sur la formation de la nodosité, démontrant ainsi que les phytohormones jouent un rôle important dans la régulation des voies de transduction du signal. En effet, la compréhension de l'effet de ces molécules de signalisation ouvre des perspectives dans un contexte d'amélioration des rendements agricoles et de préservation de l'environnement.

**Mots clés:** Légumineuse, Rhizobia, Facteur *nod*, Nodule, Phytohormone.

**Abstract:** Legumes have the enormous advantage over other plants of being able to associate with soil bacteria commonly called rhizobia. This association leads to the formation of a small particular organ at the level of the roots, the nodule, within which the bacteria, thanks to their nitrogenase activity, fix atmospheric nitrogen and transfer it to the plant in an assimilable combined form. A remarkable characteristic of the Rhizobia-legume association is its high degree of specificity. The establishment of this symbiosis is the result of a permanent dialogue between the Rhizobia and its host plant, many specific molecular signals are exchanged between the two partners throughout the formation of the nodule. The flavonoids released by the plant constitute the first molecular signal and allow the activation in the bacterium of nodulation genes responsible for the production of *Nod* factors. Among the signal molecules present in the interactions, phytohormones have been shown to play an important role in the regulation of signal transduction pathways.

**Keywords:** Leguminous, Rhizobia, *Nod* factor, Nodule, Phytohormone.