



Quelques apports de la microbiologie des sols à l'agronomie et au développement des plantes cultivées

Jean-Claude Germon

Directeur de Recherche Honoraire, INRA Agroécologie Dijon, France
Membre de l'Académie d'agriculture de France

Manuscrit révisé le 8 novembre 2012 - Publié le 28 octobre 2013

Résumé introductif : La microflore du sol joue un rôle déterminant sur le fonctionnement des sols et le développement des plantes. Les connaissances sur cette microflore ont été souvent développées à partir d'observations issues de pratiques agronomiques. Cet article de synthèse tente de montrer comment ces connaissances acquises sur les microorganismes du sol, leurs activités et leur diversité, permettent d'utiliser les capacités de cette microflore pour contribuer à la nutrition des plantes et à leur développement, pour assurer leur protection contre les agents pathogènes auxquels elles sont confrontées et pour réduire ou éviter les nuisances environnementales induites par les pratiques agricoles.

Mots clés : microflore du sol, symbiose, azote, fixation biologique, contraintes environnementales, gaz à effet de serre, mycorhizes, lutte biologique.

Résumé :

La microflore du sol joue un rôle déterminant sur le fonctionnement des sols et le développement des plantes. Cette contribution illustre quelques exemples d'utilisation, réelle ou potentielle, de composantes de cette microflore à des fins d'amélioration de la production végétale ou de meilleure gestion environnementale.

La fixation biologique de l'azote et plus particulièrement la fixation par les associations symbiotiques entre les bactéries du genre rhizobium et la grande famille des légumineuses apparaît d'un intérêt stratégique renforcé tant pour sa capacité à fournir de l'azote à faible coût aux systèmes de culture, que pour ses répercussions environnementales. Bien que l'on ne soit pas parvenu jusqu'à maintenant à étendre ce type d'association à des espèces végétales autres que les légumineuses, les connaissances acquises sur les associations connues ont permis d'en optimiser le fonctionnement. La distinction des critères d'efficacité fixatrice et d'aptitude à la compétition entre souches a permis de développer des méthodes de sélection des souches utilisées pour l'inoculation des cultures de légumineuses tandis que l'analyse des mécanismes moléculaires impliqués dans cette symbiose a conduit à la caractérisation et à la production des facteurs Nod utilisés maintenant à grande échelle pour améliorer la production de ces plantes.

La fixation symbiotique est aussi identifiée comme une voie possible de limitation des émissions de gaz à effet de serre par les systèmes cultivés d'une part par l'absence d'usage de carburants fossiles pour la fourniture d'azote assimilable, et d'autre part par l'absence d'émissions de N₂O au cours du développement de la culture des légumineuses, à la différence des plantes recevant une fertilisation de synthèse industrielle. Chez les plantes recevant une fertilisation azotée, la régulation de la formation de nitrates par la production d'inhibiteurs de nitrification rhizosphériques associée à la capacité d'assimilation de l'ammonium constitue

une autre voie possible de limitation de ces mêmes émissions de N₂O et présente en même temps une perspective de meilleure valorisation d'azote et de moindre accumulation de nitrates dans les sols.

*Les symbioses mycorhiziennes entre des champignons du sol et les plantes sont très largement répandues dans le règne végétal et contribuent à l'amélioration de la nutrition minérale des plantes et à leur protection contre les stress biotiques ou abiotiques. La caractérisation des champignons mycorhiziens, isolés ou en association avec leurs plantes hôtes, ont permis la mise au point et le développement de techniques d'inoculation appliquées en foresterie. Le parallélisme établi entre les mécanismes de mise en place des symbioses par *Rhizobium* et par les endomycorhizes et les analogies de structures entre les facteurs Nod et les facteurs Myc ouvrent des perspectives intéressantes pour le renforcement des symbioses avec les plantes cultivées.*

Les rôles exercés par la microflore du sol dans la protection sanitaire des plantes sont brièvement rappelés à travers les différents modes connus de contrôles microbiologiques des populations phytopathogènes. L'analyse de ces interactions entre microorganismes pathogènes et non pathogènes a conduit à des applications en lutte biologique. Des perspectives sont actuellement ouvertes avec les mécanismes de résistance systémique des plantes induite en réponse à la présence de microorganismes dans leur environnement.

La microflore du sol joue un rôle déterminant sur le fonctionnement des sols et le développement des plantes. Dans cette contribution qui se propose d'illustrer les apports de la microbiologie du sol à l'agronomie, nous porterons notre attention sur quelques contributions marquantes de cette microflore à des transformations qui intéressent plus particulièrement les plantes cultivées.

Le rôle clé de la fixation biologique de l'azote dans le fonctionnement de la biosphère.

Parmi les éléments nécessaires au développement des plantes, la biodisponibilité en azote demeure déterminante pour la production de biomasse végétale et pour la synthèse des protéines qui lui est liée et qui en détermine grandement la qualité alimentaire. Les entrées d'azote dans les systèmes cultivés ont essentiellement deux origines : la fixation biologique¹ par des bactéries dont certaines ont été isolées dès la fin du 19^e siècle à partir de nodules de racines de légumineuses (Beijerinck, 1888), et la synthèse industrielle de fertilisants dérivant du procédé Haber-Bosch (1913). Alors que la fixation biologique a conditionné le fonctionnement du cycle de l'azote jusqu'à notre époque industrielle, les apports de fertilisants de synthèse ont profondément modifié le cycle géochimique de cet élément et constituent actuellement près de 40 % des entrées d'azote dans la biosphère (Tableau 1).

Cette synthèse industrielle est énergétiquement coûteuse en carburants fossiles et constitue une contribution marquante de l'agriculture à l'effet de serre, tant par les émissions de CO₂ dues à la consommation de ces carburants, que par la production de protoxyde d'azote qu'elle accentue (Labreuche et al, 2011). L'intérêt de la fixation biologique de l'azote par la culture

¹ *La fixation biologique de l'azote est la transformation de l'azote gazeux inerte en azote ammoniacal assimilable par les plantes. Cette transformation est effectuée par quelques espèces bactériennes, qui vivent à l'état libre dans le sol ou en association avec certaines plantes comme les bactéries du genre *Rhizobium* avec les légumineuses.*

	Flux de la période préindustrielle	Flux supplémentaires dus aux activités humaines	Flux annuels totaux
Fixation biologique	120	20	140
Fixation atmosphérique (orages)	5	0	5
Fixation industrielle (fertilisants)	0	125	125
Combustion de carburants fossiles	0	25	25
Apports totaux	125	170	295

Tableau 1 : estimation des apports de produits azotés réactifs dans la biosphère (10^6 t N/an) ; d'après Schlessinger, 2009.

des légumineuses a été mis en avant de longue date comme support de la fourniture d'azote aux systèmes cultivés (Demolon, 1942), a été régulièrement rappelé et demeure stratégique dans le contexte actuel de mise au point de modes de production agricole plus économes énergétiquement et plus respectueux des contraintes environnementales (Thiébeau et al, 2010).

Alors que l'analyse de la fixation biologique de l'azote reposait jusqu'alors essentiellement sur des bilans azotés et sur les cultures des bactéries symbiotiques en isolement ou en association avec leur plante hôte, la connaissance des mécanismes de cette fixation a

fortement progressé dans les années 60-80 avec la caractérisation de la nitrogénase, le système enzymatique responsable de la transformation du diazote gazeux en ammonium, et l'analyse des rôles respectifs des partenaires de l'association symbiotique entre les bactéries du genre *Rhizobium* et les légumineuses; l'attention portait alors sur les mécanismes d'adsorption des bactéries sur des sites spécifiques des racines faisant intervenir une glycoprotéine (une lectine) de l'hôte, l'induction à distance de l'élaboration des nodules fixateurs par la présence de la

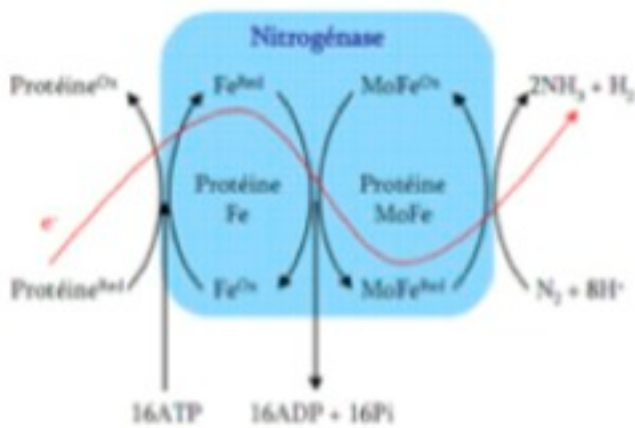


Figure 1 : les mécanismes biochimiques de la fixation biologique de l'azote (in Godfroy, 2008)

bactérie associée, le couplage de la production d'ammonium et d'hydrogène lors du mécanisme de fixation, avec une possibilité de recyclage de l'hydrogène produit qui permet d'améliorer le rendement de production d'azote ammoniacal (Denarié et Truchet, 1979).

Ces mécanismes de fixation se sont avérés quasi universels dans le monde bactérien. Parallèlement, la caractérisation de gènes responsables de la fixation et de plasmides²

susceptibles de les porter ont conduit aux premières expériences de transfert de ces gènes et permis de transformer des bactéries non-fixatrices en bactéries fixatrices (Dixon et Postgate, 1972). Ces réalisations ont laissé entrevoir des perspectives sur les possibilités d'extension de la fixation symbiotique à des plantes autres que les légumineuses (Amarger et Lagacherie, 1974). Les abondants travaux qui ont suivi n'ont pas débouché jusqu'à maintenant sur cet objectif mais ont permis d'avancer dans la compréhension des mécanismes conduisant à la mise en place des structures fixatrices à partir de deux organismes initialement indépendants, pour tenter d'en optimiser le fonctionnement.

Le déterminisme de l'association Rhizobium-Légumineuses.

La symbiose Rhizobium-Légumineuses continue à constituer le principal mécanisme biologique d'apport d'azote dans les systèmes de production agricole : l'efficacité de cette fixation comparée aux autres sources d'azote utilisées par les plantes est généralement évaluée à l'aide de l'analyse de l'abondance isotopique naturelle en ^{15}N qui permet de distinguer spécifiquement l'azote issu de la fixation, de celui apporté par les fertilisants (Boddey et al, 2000). Les travaux sur cette symbiose ont permis d'en dégager des caractéristiques dont on a pu tirer profit pour la culture des légumineuses. Ainsi on a pu montrer que l'efficacité de la fixation d'azote dépend de deux propriétés distinctes des souches bactériennes: i) l'efficacité de la capacité fixatrice proprement dite, qui peut être mesurée sur une plante nodulée avec un seul type de souche bactérienne, et ii) l'aptitude à la compétition pour la nodulation entre souches bactériennes, évaluée sur des plantes nodulées à partir d'un mélange connu de souches. Ces propriétés impliquent deux groupes de gènes différenciés dont la présence simultanée chez une même bactérie est une caractéristique commune des Rhizobia (Franche et al, 2009) : les gènes « fixateurs » (*nif* et *fix*) impliqués dans la synthèse et le fonctionnement de la nitrogénase, et les gènes de nodulation (*nod*, *nol*, *noe*) impliqués dans la production de facteurs Nod, responsables de l'induction de l'élaboration des nodules racinaires au sein desquels s'effectue la fixation. Ces gènes sont souvent portés par des plasmides ou d'autres structures mobiles du génome et peuvent être de ce fait facilement perdus ou captés par les bactéries en conditions naturelles. Les travaux de sélection de Rhizobia pour améliorer l'efficacité de la symbiose ont pris en considération ces deux types de critères (Amarger, 1984).

L'analyse de la formation des nodules entre une bactérie et une plante hôte compatible a permis de montrer que cette formation résulte d'un étroit dialogue moléculaire plante-bactérie (Dénarié et al, 1993), à partir de la production par la plante de flavonoïdes perçus par les récepteurs bactériens, qui induisent la production de molécules spécifiques par la bactérie, les facteurs Nod. Ces facteurs Nod ont été purifiés et leur structure moléculaire a été déterminée, constituée d'une courte chaîne centrale de chito-oligosaccharides et portant à ses deux extrémités différents substituants, déterminant la spécificité pour la plante-hôte (Dénarié et al, 1996). Ces composés agissent à des concentrations extrêmement faibles au contact de la racine

² *Plasmides : structures d'ADN circulaire non chromosomiques naturelles ou modifiées, susceptibles de transfert entre microorganismes.*

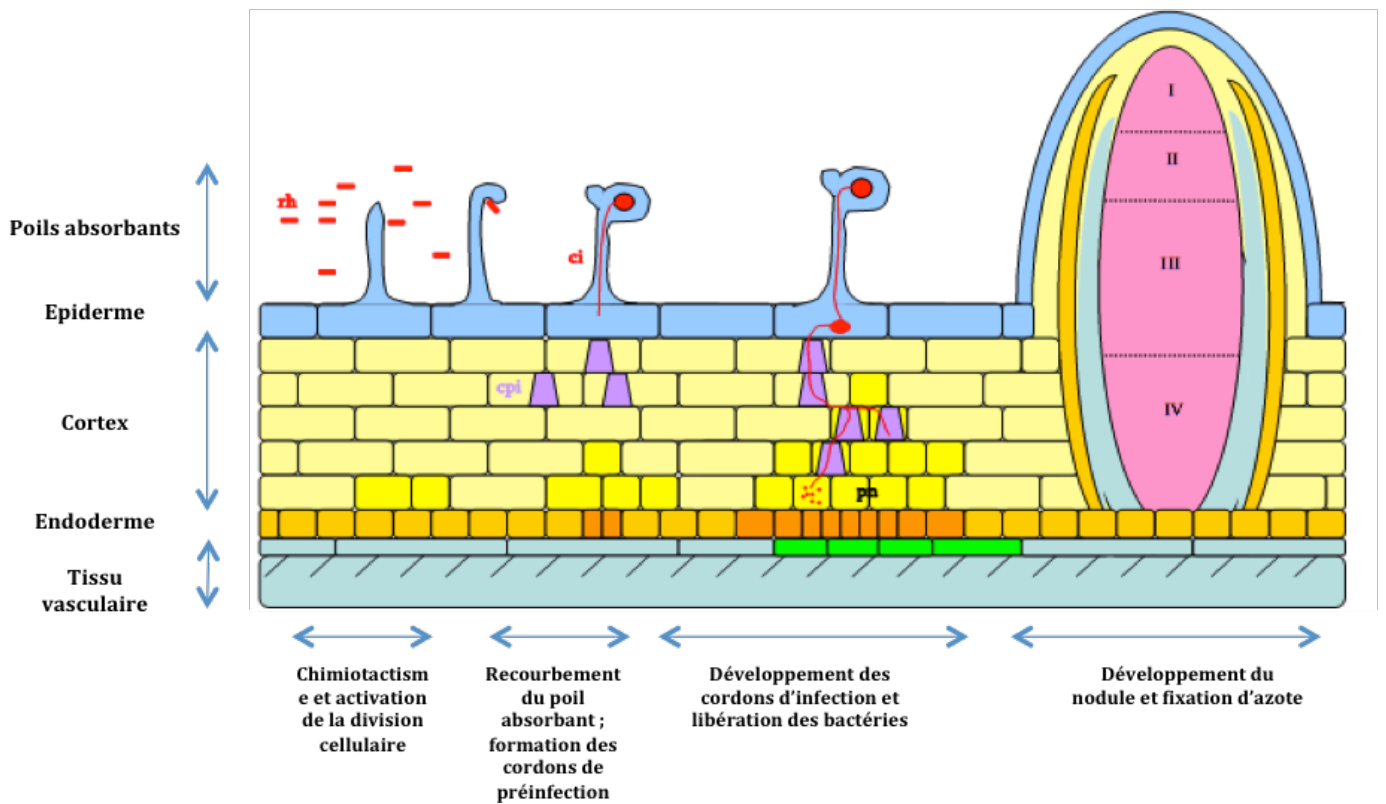


Figure 2 : l'association symbiotique Rhizobium-légumineuse : les différentes phases d'infection de la racine et de mise en place du nodule chez *Medicago truncatula* (in Godfroy, 2008)

et déclenchent les mécanismes d'organogenèse qui conduisent à la formation du nodule et à la pénétration du Rhizobium dans ce nodule. La spécificité de l'association entre la bactérie et la plante hôte, manifestée au niveau de la production et de la structure des facteurs Nod, peut s'exprimer aussi au niveau de la bactérie qui a pénétré et s'est développée dans le nodule, par sa capacité à fixer ou à ne pas fixer l'azote, la bactérie incapable de fixer se comportant alors en véritable parasite. Cette spécificité d'association hôte-bactérie, très étroite dans certaines situations, peut être beaucoup plus large dans d'autres, selon les plantes et les bactéries.

La microflore fixatrice, la diversité des Rhizobia et l'inoculation à l'aide de souches sélectionnées.

Les études menées sur les populations bactériennes fixatrices ont montré que la centaine d'espèces qui ont assuré l'entrée d'azote dans la biosphère jusqu'à notre ère industrielle ne représente qu'une faible fraction de la diversité des quelques milliers d'espèces procaryotes rencontrées dans l'environnement. Elles font usage d'un mécanisme hautement conservé dans l'évolution du monde biologique, tant chez les espèces fixatrices vivant à l'état libre dans le sol ou les milieux aquatiques, avec une efficacité fixatrice limitée, que chez les espèces vivant en association symbiotique avec certaines espèces végétales (Smil, 2002). Cette capacité à fixer symbiotiquement l'azote au sein de nodules de plantes vasculaires appartient à deux groupes de bactéries sans lien phylogénétique : i) les Rhizobia (alpha protéobactéries) associés essentiellement aux légumineuses de la super-famille des Fabaceae, et ii) les Frankia, qui appartiennent aux Actinobactéries, associées à un large spectre de plantes appartenant à huit familles. Un autre groupe bactérien important est celui des cyanobactéries fixatrices, rencontrées à l'état libre ou en association avec une large variété de végétaux inférieurs et supérieurs, d'algues et de champignons (Franche et al, 2009).

D'abondants travaux développés sur la diversité des Rhizobia (Amarger, 2001) ont confirmé que les populations de ces bactéries présentes dans le sol jouent un rôle clé dans la productivité des légumineuses. Le développement des méthodes moléculaires, qui a conduit à une explosion de la taxonomie de la microflore fixatrice, a permis de visualiser la large diversité génétique des populations de Rhizobia isolées des nodules de légumineuses cultivées à travers le monde, et conduit à penser que les populations actuellement caractérisées ne représentent qu'une partie des Rhizobia du sol ; elles apparaissent davantage représentatives de populations différemment filtrées par les plantes plutôt que de la diversité des populations du sol. Cette diversité évolue au cours du temps ; il a été démontré que les fertilisations azotées habituellement utilisées en agriculture peuvent réduire la diversité génétique des bactéries fixatrices isolées des nodules (Caballero Mellado et al, 1999). Inversement on observe aussi une diversification des populations de Rhizobium du sol, soit par l'apport non contrôlé de souches nouvelles qui contaminent naturellement les graines semées et se multiplient lors du développement de la plante (Revellin, communication personnelle), soit par des transferts latéraux de gènes qui peuvent se produire *in situ*, notamment entre souches indigènes et souches inoculées, pouvant ainsi conduire en quelques années à un important mixage des gènes impliqués dans la fixation (Sullivan et al, 1995).

La mise en évidence du rôle des bactéries fixatrices dans le développement des légumineuses a conduit à tenter de favoriser la nodulation par l'apport de bactéries sélectionnées dans les

sols où cette nodulation est déficiente. L'inoculation des légumineuses est de fait une pratique agricole ancienne et bien établie depuis la fin du 19^e siècle et l'inoculation des graines de légumineuses par des cultures microbiennes à base de Rhizobium peut être considérée comme une réalisation de référence en matière de microbiologie appliquée à l'agriculture. Des millions d'hectares ont été et sont actuellement inoculés chaque année à travers le monde avec différentes espèces de Rhizobium. Il a été montré que le succès de l'inoculation dépend de la



Figure 3 : les effets de l'inoculation d'une culture de soja par *Bradirhizobium japonicum* : parcelle inoculée (à droite) et parcelle non inoculée (à gauche). (Photo : C. Revellin)

qualité de l'inoculum, et notamment de sa concentration en rhizobia, de l'absence de contaminant et du bon état physiologique de la culture (Catroux et al, 2001). L'efficacité de l'inoculation peut être améliorée par l'enrichissement de l'inoculum bactérien avec des facteurs Nod synthétisés industriellement et utilisés maintenant à grande échelle (Dénarié, communication personnelle). L'ensemble des travaux menés sur les populations de Rhizobium et sur les associations symbiotiques conduisent à conclure que les caractéristiques les plus importantes au point de vue appliqué demeurent l'aptitude compétitive des souches bactériennes et leur efficacité fixatrice (Franche et al, 2009).

La microflore fixatrice : une voie possible de limitation des émissions de N₂O.

A côté de son aptitude à fixer l'azote l'association rhizobium-légumineuses offre d'autres avantages environnementaux, tels qu'une moindre émission d'ammoniac et un moindre lessivage de nitrates pendant la période de végétation comparés aux observations avec des plantes non fixatrices fertilisées (Jensen et Hauggaard-Nielsen, 2003). Une attention particulière a été portée ces dernières années aux émissions de N₂O issues de ces cultures, liées au cycle interne de l'azote dans le système sol-plante et notamment à la nitrification et la dénitrification. Dans les méthodologies d'évaluation des émissions de N₂O élaborées par le GIEC2 en vue de l'application du protocole de Kyoto, l'estimation des émissions de ce gaz à l'échelle des territoires nationaux reposait sur l'application de coefficients d'émission aux différentes sources d'azote apportées sur ces territoires, incluant notamment les quantités fixées par voie biologique (IPCC, 1996). En reprenant un ensemble de mesures réalisées dans différentes situations expérimentales, Rochette et Janzen (2005) ont été amenés à conclure que les émissions de protoxyde d'azote sous culture de légumineuses ne sont pas différentes de celles à partir de sols non fertilisés, et qu'en conséquence l'azote fixé pendant le développement de la culture ne peut être considéré comme une source directe d'émission de N₂O : cette conclusion a été acceptée par le GIEC et a conduit au retrait des quantités d'azote fixé pendant la culture de l'ensemble des sources de N₂O prises en compte³(IPCC, 2006). Cet intérêt des légumineuses comme moyen de limiter les émissions de N₂O se trouve renforcé par des travaux récents montrant la capacité de ces systèmes symbiotiques à réduire N₂O en N₂ et à agir ainsi comme un puits terrestre de ce gaz. Cette propriété est liée à la capacité dénitrifiante de certains rhizobia démontrée par différents auteurs (O'Hara et Daniel, 1985). Hénault et Revellin (2011) ont ainsi montré que des cultures de soja inoculées par une souche compétitive pour la nodulation et capable de réduire N₂O en N₂ pouvaient constituer un moyen de limiter les émissions de N₂O formées à partir du sol, confortant ainsi l'idée de la place spécifique des légumineuses dans l'évaluation des émissions de ce gaz à partir des sols cultivés.

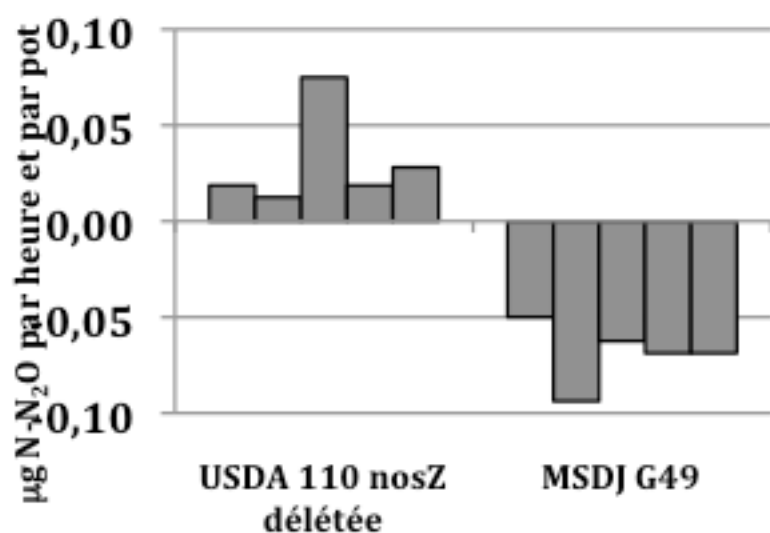


Figure 4 : la réduction de N₂O par Rhizobium (d'après Hénault et Revellin, 2011).

Comparaison des vitesses de production et de consommation de N₂O par des cultures de soja en pots inoculés avec une souche de *Bradyrhizobium japonicum* incapable de réduire N₂O (souche USDA 110 nosZ délétée) ou une souche réduisant N₂O en N₂ (souche MSDJ G49).

³ à la différence de l'azote lié au retournement des cultures de légumineuses, considéré comme un apport d'azote organique soumis aux mêmes transformations que les autres composés organiques.

La nitrification, étape clé du cycle de l'azote : une voie de maîtrise possible.

La progression des nuisances environnementales liées aux excédents d'azote réactif dans l'environnement et l'abondance de travaux sur la fixation biologique, tant pour tenter d'ouvrir une voie nouvelle pour la nutrition des plantes non-légumineuses que pour faire un meilleur usage agronomique des quantités d'azote fixé ont conduit à penser que nous pouvons avoir davantage à gagner en tentant d'améliorer la gestion du cycle interne de l'azote du sol plutôt qu'en augmentant les apports par le biais de l'amplification mal contrôlée de la fixation biologique (Bril, 2002).

Parmi les transformations biologiques suscitant un intérêt en vue d'une meilleure gestion de l'azote, les tentatives de maîtrise de la nitrification ont fait l'objet de nombreux travaux, pour parvenir à ajuster la fourniture d'azote nitrique par la microflore du sol aux besoins de la végétation et à en éviter la production en dehors des périodes de besoin. Différents produits de synthèse ou d'origine naturelle ont été testés, visant à empêcher ou à retarder l'oxydation de l'ammonium, forme d'azote minéral peu mobile dans le sol, en nitrate, forme excessivement mobile dans les eaux de drainage. Une piste particulièrement intéressante a été ouverte récemment par Subbarao et al (2007) qui ont démontré la capacité des exsudats racinaires d'une plante sauvage apparentée au blé (*Leymus racemosus*) à inhiber la microflore nitrifiante : cette inhibition est associée chez cette plante à la capacité d'assimiler l'ammonium, et conduit à une croissance aussi efficace en présence d'ammonium qu'en présence de nitrate. Ces exsudats racinaires exercent une inhibition sur l'Ammonium Mono Oxygénase et l'Hydroxylamine Oxydoréductase, les deux enzymes responsables de l'oxydation de l'ammonium ; leur effet inhibiteur demeure pendant au moins deux mois après leur apport au sol en absence de plante. La synthèse de ces inhibiteurs de nitrification apparaît dépendante de la présence d'ammonium dans l'environnement rhizosphérique. Ces auteurs ont localisé les gènes végétaux responsables de cette synthèse et ont pu les faire s'exprimer dans

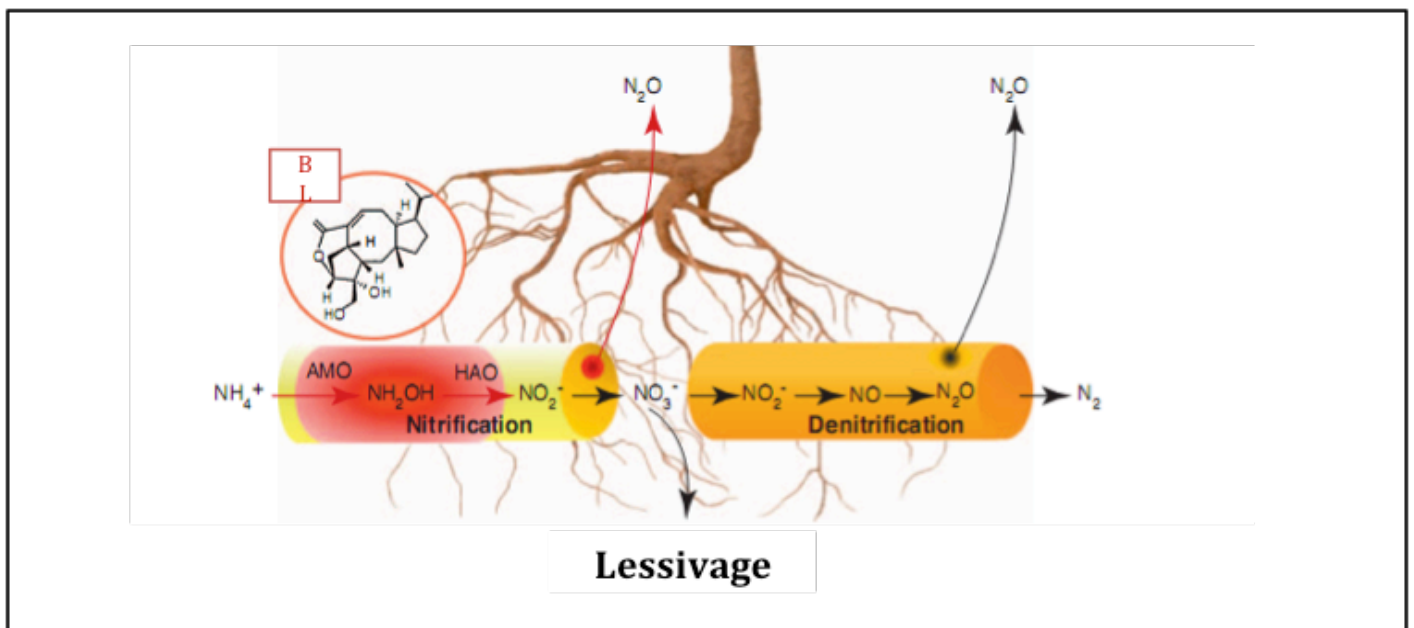


Figure 5 : schéma de l'inhibition naturelle de la nitrification par la production de brachialactone dans la rhizosphère de *Brachiararia humidicola* (d'après Philippot et Hallin, 2011). Les réactions inhibées sont fléchées en rouge ; AMO, ammonium mono-oxygénase ; HAO, hydroxylamine oxydoréductase ; BL, brachialactone.

des variétés de blé cultivé transgénique : sur une des lignées obtenues, le transfert de ces gènes est associé à la capacité à se développer en présence d'ammonium, illustrant la possibilité d'assurer la nutrition azotée à partir de cette forme d'azote tout en évitant ou en limitant la production de nitrates par la microflore. Cette même équipe a identifié une molécule naturelle inhibitrice de la nitrification, la « brachialactone » un diterpène isolé des exsudats racinaires d'une plante fourragère tropicale, *Brachiaria humidicola*. Parallèlement il a été démontré qu'*in situ* cette plante entraîne une diminution marquée de la population microbienne oxydant l'ammonium et une suppression des émissions de N₂O (Subbarao et al, 2009). Ces propriétés incitent ces auteurs à proposer l'exploitation de cette capacité naturelle de contrôle de la microflore nitrifiante comme stratégie possible de développement de systèmes agronomiques à nitrification lente, permettant de satisfaire à la fois les besoins de l'agriculture et le respect de l'environnement (Philippot et Hallin, 2011).

Les apports de la symbiose mycorhizienne au développement des plantes.

Autre composante de la microflore du sol, les champignons mycorhiziens peuvent jouer un rôle important dans la nutrition minérale de la plupart des végétaux. Le terme mycorhize fait référence aux différentes formes d'associations symbiotiques entre les plantes et des champignons du sol qui colonisent les tissus du cortex racinaire pendant la période de croissance active de ces plantes : le champignon bénéficie de l'apport des métabolites dérivés de la photosynthèse par son partenaire végétal et lui apporte en échange, sous forme minérale ou organique, des éléments tirés du sol et nécessaires à sa croissance. Environ 95 % des plantes peuvent constituer de telles associations. On distingue actuellement au moins sept types différents d'associations mycorhiziennes, dont les deux principales sont les mycorhizes à arbuscules (AM) et les ectomycorhizes (EMC) (Seddas et al, 2009). Les mycorhizes à arbuscules (AM) formées par les champignons primitifs non-septés⁴ sont la forme la plus répandue et concernent 80 à 90 % des végétaux phototrophes (Mosse et al., 1981). Les ectomycorhizes apparues plus tardivement dans l'arbre de l'évolution recouvrent l'association de gymnospermes et d'angiospermes avec des champignons septés (Basidiomycètes et Ascomycètes).

Ces mycorhizes peuvent exercer un rôle déterminant dans la nutrition minérale des plantes à travers leur capacité à mobiliser les éléments minéraux et organiques du sol et à en faire bénéficier leurs partenaires végétaux. Leur capacité à améliorer la nutrition phosphatée des plantes qu'elles colonisent est connue de longue date (Mousain et al, 1997) et est la conséquence de plusieurs modes d'action convergents : la solubilisation des éléments minéraux du sol par le biais des acides organiques sécrétés par le champignon, la solubilisation des formes organiques du phosphore et la production d'orthophosphate par les phosphatases produites par ces mêmes champignons, l'extension du réseau racinaire mycorhizé qui permet un accroissement important du volume de sol exploré (Plassard et al, 2011). Dans la mesure où le phosphore constitue un des premiers facteurs limitants du développement végétal dans les sols peu ou non fertilisés, on a associé la présence de ces associations mycorhiziennes à l'amélioration de la nutrition phosphatée. Cependant les mécanismes précédents, ou d'autres

⁴ *Champignons non septés* : champignons dont les cellules sont non cloisonnées par des parois internes et peuvent contenir plusieurs noyaux à la différence des champignons septés cloisonnés en cellules individualisées.

similaires, contribuent à la mobilisation d'autres éléments nutritifs (calcium, potassium, magnésium, cuivre, zinc...) tandis que le fer peut être mobilisé par la production de molécules complexantes de type sidérophore par le champignon mycorhizien (Courty et al, 2010). Par ailleurs les mycorhizes peuvent contribuer à la nutrition azotée des plantes à travers leurs capacités à hydrolyser l'azote organique du sol par leurs activités protéasiques, à assimiler l'azote ammoniacal, et à transférer les formes d'azote aminé à leur plante hôte (Plassard et al, 2000). Cette possibilité d'assimiler l'azote ammoniacal ou organique, qui évite la formation de nitrates, est une voie qui semble intéressante, et jusqu'alors peu explorée, dans la recherche d'une meilleure maîtrise des transformations de l'azote dans l'environnement.

Cette capacité de mobilisation des éléments minéraux s'est montrée variable avec les souches fongiques impliquées dans la mycorhization (Courty et al, 2010). Chez les ectomycorhizes elle est aussi très fortement dépendante de la microflore bactérienne associée au complexe mycorhizien, les bactéries auxiliaires de mycorhization (Garbaye, 1994). Ces bactéries peuvent accentuer les capacités d'assimilation des éléments nutritifs en modifiant les propriétés physico-chimiques ambiantes et leurs effets bénéfiques ont pu être observés à de faibles niveaux de populations (Frey-Klett et al, 1999). Cette mobilisation des éléments nutritifs apparaît aussi fortement conditionnée par les caractéristiques du sol dans lequel les mycorhizes se développent, et peut être fortement altérée par la disponibilité des éléments nutritifs : la présence d'ammonium réprime l'activité protéasique des champignons ectomycorhiziens (Courty et al, 2010), tandis que la sélection de plantes en milieu nutritionnellement riche peut conduire, et a conduit de fait, à la sélection de génotypes végétaux peu ou pas réceptifs à la mycorhization (Gianinazzi et al, 2010).

Figure 6 : les mycorhizes et la nutrition minérale des plantes : le cycle de vie du champignon endomycorhizien (d'après Godfroy, 2008).

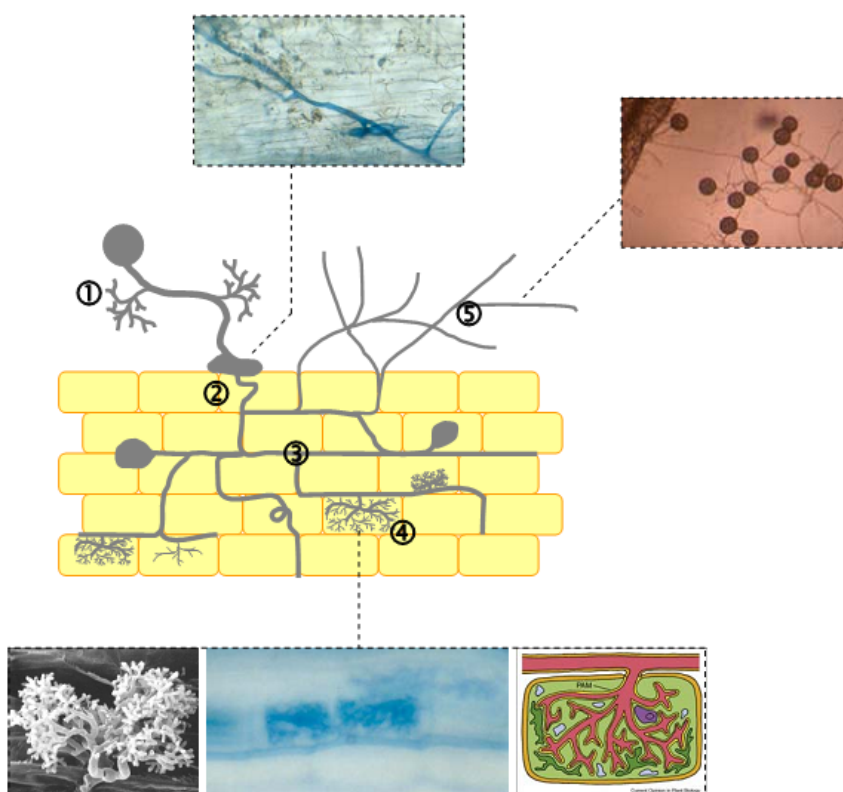
1: germination d'une spore et la germination d'un mycélium présymbiotique au voisinage d'une racine;

2 : formation de l'appressorium au contact de la racine, site d'entrée du champignon dans la racine ;

3 : développement du mycelium entre les cellules racinaires ;

4 : formation de structures ramifiées dans les cellules de la racine, les arbuscules, qui sont les sites d'échanges entre le champignon et la plante hôte ;

5 : développement de mycélium extraracinaire qui permet le prélèvement d'éléments minéraux dans le sol, transmis à la plante.



Les mycorhizes exercent par ailleurs un rôle protecteur des plantes vis-à-vis des stress biotiques et abiotiques : de nombreuses expérimentations ont démontré la protection des racines mycorhizées contre les agents phytopathogènes tandis que d'autres ont montré leur meilleure résistance à la sécheresse ou aux stress salins (Gianinazzi et al, 2010).

Les propriétés bénéfiques de la symbiose mycorhizienne conduisent à tenter de l'optimiser et pour cela à en mieux connaître le déterminisme, tant au niveau des mécanismes inducteurs que de leur plus ou moins grande spécificité d'association. Comme dans la symbiose Rhizobium-légumineuse, il est avéré que l'établissement des différentes formes de symbiose mycorhizienne résulte d'un dialogue moléculaire entre la plante et les champignons associés. Un parallélisme a pu être établi entre les mécanismes de nodulation chez les légumineuses et le mécanisme d'établissement des mycorhizes à arbuscules (AM), parallélisme d'autant plus pertinent que les légumineuses peuvent associer les deux types de symbioses. Il a été ainsi démontré que la multiplication radicellaire et les modifications tissulaires qui précèdent la pénétration du champignon endomycorhizien dans le cortex racinaire étaient induites par la production de produits diffusibles synthétisés par le champignon, production déclenchée par la proximité de la racine. Ces produits diffusibles, appelés facteurs Myc, ont été récemment purifiés et leur structure a été identifiée : il s'agit de lipo-oligosaccharides, comme les facteurs Nod de Rhizobia, avec des substitutions plus simples que celles de ces derniers (Maillet et al, 2011). Cette synthèse induite par la proximité de la plante est sous le contrôle génétique de cette dernière : des gènes de la plante (*Medicago truncatula*) communs aux deux voies de signalisation, conduisant à la synthèse des facteurs Nod (par Rhizobium) et des facteurs Myc (par le champignon endomycorhizien *Gigaspora margarita*), ont été caractérisés soulignant ainsi les similitudes dans l'induction de ces deux symbioses très différentes (Olah et al, 2005). A côté de cette induction des modifications racinaires par le champignon, il a été mis récemment en évidence la production d'une famille de métabolites secondaires secrétés par les plantes, les strigolactones, capables d'induire des modifications dans le développement du champignon et dans l'établissement de l'association symbiotique, notamment avec les légumineuses et en réponse à la disponibilité en phosphore (Balzergue et al, 2011).

Les connaissances acquises sur les mycorhizes ont débouché sur diverses applications. La possibilité d'isoler et de cultiver les champignons ectomycorhiziens a conduit à leur sélection et à la production d'inocula fongiques utilisés en pépinières forestières : en France ce type d'inoculation est pratiqué avec succès depuis plus de 20 ans sur pin Douglas (Frey-Klett et al, 1999) ; cette mycorhization contrôlée est employée à très large échelle par les Canadiens pour le reboisement de sites d'exploitation de schistes bitumineux (Martin, communication personnelle). Sous nos climats l'inoculation des arbres truffiers constitue un succès emblématique de ce type d'application ; il demeure étonnant cependant que cette pratique ne soit pas systématiquement mise en œuvre dans les programmes de reboisement. En ce qui concerne les endomycorhizes, malgré la difficulté de devoir multiplier l'inoculum microbien sur une plante support, la production d'inocula s'est aussi développée. Par ailleurs les facteurs Myc se sont avérés des régulateurs de croissance à spectre beaucoup plus large que les facteurs Nod : des études sont en cours pour déterminer leur champ d'applications possibles.

La microflore du sol et la protection phytosanitaire des plantes cultivées.

Parmi les travaux scientifiques sur la microflore du sol et ses interactions avec les plantes cultivées qui débouchent sur des applications agronomiques intéressantes, parallèlement à ceux destinés à assurer une alimentation mieux maîtrisée des plantes, il convient de mentionner ceux qui ont porté sur leur protection phytosanitaire. Alabouvette et al (2006) rappellent ainsi les différents modes connus de contrôle microbiologique de populations phytopathogènes et les applications qui ont pu en être faites. L'usage maîtrisé des antagonismes microbiens peut prendre différentes formes : la capacité de certains champignons à parasiter d'autres champignons phytopathogènes a pu être utilisée comme moyen de protection de cultures : ainsi l'activité parasitaire de certaines souches de *Trichoderma* vis-à-vis de *Rhizoctonia solani* est bien connue et celle de *Coniothyrium minitans* vis-à-vis de *Sclerotinia* a permis la mise sur le marché d'inocula microbiens utilisés comme moyen de lutte biologique. Les mécanismes d'antibiose entre microorganismes, liés à la production d'antibiotiques ou d'autres molécules susceptibles d'altérer des constituants cellulaires vitaux, ont été largement étudiés dans le sol : ainsi les actions antagonistes de certaines souches de *Pseudomonas fluorescens* vis-à-vis de *Gaeumannomyces graminis*, agent responsable du piétin du blé, ont été largement décrites et analysées (Thomashow et Weller, 1988) ; cependant, ces mécanismes sont souvent apparus comme difficilement maîtrisables dans l'environnement. Autre mécanisme antagoniste, la compétition nutritive est un mode de régulation général des populations microbiennes tant en réacteurs qu'au sein de sites naturels. Ce mode de régulation a permis d'expliquer les mécanismes naturels de résistance de certains sols entraînant la protection de différentes plantes cultivées contre les attaques d'agents phytopathogènes. Ces mécanismes de résistance

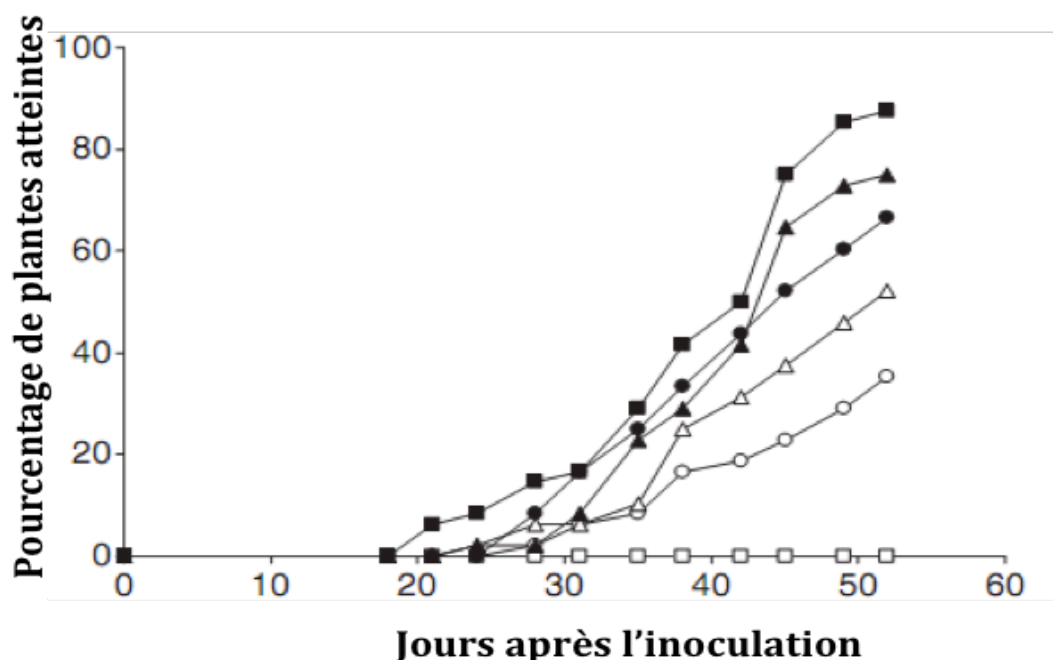


Figure 7 : un exemple de protection phytosanitaire à l'aide de *Fusarium oxysporum* non pathogène (Alabouvette et al, 2009)

Capacité protectrice de deux souches de *Fusarium oxysporum* (Fol 4287 et Fol 007) et de leurs mutants respectifs Dfmk1 et N40, altérés dans leur capacité à coloniser la racine de la plante. Résultats d'une expérimentation sur jeunes plants de lin inoculés avec la souche pathogène Foln3 et les souches non pathogènes. L'incidence de la fusariose est évaluée en pourcent de plantes atteintes. Carrés blancs : plantes non inoculées avec le pathogène; carrés noirs : plantes inoculées avec Foln3
Cercles blancs : plantes inoculées avec Foln3 et Fol 4287 ; cercles noirs : plantes inoculées avec Foln3 et Dfmk1.

sont utilisés comme méthode de lutte biologique : ainsi la souche non pathogène Fo47 d'un *Fusarium oxysporum* douée d'une forte compétition nutritive a pu être sélectionnée et est utilisée efficacement comme agent de lutte en culture maraîchère contre les *Fusarium* pathogènes (Couteaudier et Alabouvette, 1990 ; Olivain et al, 2006). Cette action antagoniste peut être renforcée par la présence de *Pseudomonas fluorescens* fortement compétiteurs pour l'assimilation du fer aux dépens du champignon pathogène (Lemanceau et Alabouvette, 1993).

Les mécanismes de résistance systémique induite qui mettent en jeu l'expression renforcée de mécanismes de défense de la plante en présence d'un stress ou d'un agresseur sont une autre voie ouvrant des perspectives en lutte biologique. Ainsi la colonisation d'une partie de l'appareil racinaire par un microorganisme non pathogène peut induire un renforcement des mécanismes de défense contre un microorganisme pathogène sur une autre partie de l'appareil racinaire ou sur les organes aériens. Ces mécanismes de défense apparaissent suffisamment généraux pour susciter actuellement un grand intérêt parmi les modes de contrôle biologique à l'encontre des agents phytopathogènes (Alabouvette et al, 2006).

En guise de conclusion.

A travers ce survol rapide nous nous sommes appliqués à mettre en évidence les apports de la connaissance du fonctionnement de quelques groupes fonctionnels de la microflore du sol en vue d'une meilleure maîtrise de leurs fonctions pour un usage agronomique. Nous nous sommes limités à des microflores impliquées directement ou indirectement dans le développement des plantes : nous aurions pu compléter cet inventaire sur les microflores à effet bénéfique en nous intéressant aux microorganismes impliqués dans d'autres fonctions essentielles pour l'agronomie ou l'environnement, tels que les microflores dégradantes des xénobiotiques et impliquées dans les phénomènes d'adaptation à la biodégradation, ou celles impliquées dans les cycles géochimiques d'autres éléments conditionnant la nutrition des plantes, la qualité des eaux ou les échanges avec l'atmosphère.

Avec cette présentation nous attirons l'attention sur le fait que les avancées de la microbiologie du sol de portée agronomique se sont situées à la croisée d'un questionnement initial de nature fonctionnelle sur l'agronomie ou la gestion environnementale, et d'importantes avancées méthodologiques ou de connaissances dans différentes disciplines scientifiques. Dans la période actuelle caractérisée d'une part par une ébullition méthodologique dans les disciplines de la biologie et plus particulièrement de la microbiologie et de l'écologie, et d'autre part par la prise de conscience d'enjeux environnementaux qui conditionnent la viabilité même de notre planète, les interlocuteurs politiques et sociétaux des scientifiques sont en attente d'éléments de réponse fiables et opérationnels.

Les biologistes du sol et des plantes disposent actuellement d'outils puissants : il importe qu'ils demeurent attentifs aux questionnements et aux observations des agronomes et des gestionnaires du milieu. En nous inspirant d'une citation récente d'un collègue anglais (Powlson et al, 2011), nous concluons en indiquant que notre communauté de biologistes ne sera crédible que si elle est capable de fournir des informations rationnelles aux utilisateurs de ses travaux sur des pratiques agronomiques utilisables dans la définition de stratégies de développement d'une agriculture à la fois efficace et plus économe en énergie et plus respectueuse de l'environnement, informations fondées sur des preuves vérifiables et dont les effets ne soient ni surestimés ni sous-estimés.

Remerciements

Merci à Claude Alabouvette, Francis Martin, Jean Claude Pernollet, Laurent Philippot et Cécile Revellin pour leurs relectures et commentaires.

Bibliographie

- Alabouvette C, Olivain Q. Migheli, C., Steinberg C., 2009. Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum*. *New Phytol.* 184, 529-544.
- Alabouvette C, Olivain C., Steinberg C., 2006. Biological control of plant diseases : the European situation. *Eur. J. Plant Pathol.*, 114, 329-341.
- Amarger N., 2001 . Rhizobia in the fields. *Adv. Agron.*, 73, 109-168
- Amarger N., 1984. Evaluation of competition in *Rhizobium* spp. In *Current perspectives in microbial ecology*. Klug M.J. & Reddy C.A., ed, ASM Washington, 300-305
- Amarger N., Lagacherie B., 1974. La fixation biologique de l'azote : une ressource naturelle à mieux exploiter. *CR Acad Agric Fr.* 1072-1083.
- Balergue C., Puech-Pagès V., Bécard G., Rochange S.R., 2001. The regulation of arbuscular mycorrhizal symbiosis by phosphate in pea involves early and systemic signaling events. *J. Exp. Bot.*, 62, 1049-1060. Beijerinck M.W., 1888, In J.C. Senez *Microbiologie Générale*, 1968, Doin ed.
- Boddey R.M., Peoples M.B., Palmer B., Dart P.J., 2000. The use of ¹⁵N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutr Cycl Agroecosys.* 57, 235-270. .
- Caballero Mellado J., Martinez Romero E., 1999. Soil fertilization limits the genetic diversity of *Rhizobium* in bean nodules. *Symbiosis.* 26, 111-121.
- Catroux G., Hartmann A., Revellin C., 2001. Trends in rhizobial inoculants production and use. *Plant Soil*, 230, 21-30.
- Courty P.E., Buée M., Diedhiou A.G., Frey-Klett P., Le Tacon F., Rineau F., Turpault M.P., Uroz S., Garbaye J., 2010. The role of ectomycorrhizal communities in forest ecosystem processes : new perspectives and emerging concepts. *Soil Biol. Biochem.*, 42, 679-698.
- Couteaudier Y., Alabouvette C., 1990. Quantitative comparison of *Fusarium oxysporum* competitiveness in relation with carbon utilization. *FEMS Microbiol. Ecol.* 74, 261-268.
- Dénarié J., Debelle F. , Promé J-C., 1996. Rhizobium lipo-chitoologosaccharide nodulation factors : signaling molecules mediating recognition and morphogenesis. *Annu. Rev. Biochem.*, 65, 503-535.
- Dénarié J., Debelle F., Truchet G., Promé J.C., 1993. Rhizobium and legume nodulation : a molecular dialogue. In Palacios et al. eds. *New horizons in nitrogen fixation*. Kluwer, Dordrecht, pp 19-30.
- Denarié J., Truchet G., 1979. La symbiose Rhizobium Légumineuses : rôles respectifs des partenaires. *Physiol. Vég.* 17, 643-667.
- Dixon R.A. , Postgate J.R., 1972. Genetic transfer of nitrogen fixation from *Klebsiella pneumonia* to *Escherichia coli*. *Nature.* 237, 102-103.
- Franche C., Lindström K., Elmerich C., 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant Soil*, 321, 35-59.
- Frey-Klett P., Churin J.L., Pierrat JC, Garbaye J., 1999. Dose effect in the dual inoculation of an ectomycorrhizal fungus and a mycorrhiza helper bacterium in two forest nurseries. *Soil Biol. Biochem.*, 31, 1555-1562.
- Garbaye J. , 1994. Helper bacteria : a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 128, 197-210.
- Gianinazzi S., Gollotte A., Binet M.N., van Tuinen D., Redecker D., Wipf D., 2010. Agroecology : the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza.* 20, 519-530.
- Godfroy O., 2008. Etude génétique et moléculaire de deux gènes de *Medicago truncatula*, DM13 et RPG, contrôlant l'établissement de symbioses racinaires. Thèse Université P. Sabatier, Toulouse, 142p.
- Haber-Bosch, 1913, In J.C. Senez *Microbiologie Générale*, 1968, Doin ed.
- Hénault C., Revellin C., 2011. Inoculants of leguminous crops for mitigating soil emissions of the greenhouse gas nitrous oxide. *Plant Soil* 346, 289-296.

- IPCC 2006. N₂O emissions from managed soils. In IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories; Direct N₂O emissions. Pp 11.6 - 11.18.
- IPCC 1996. Direct N₂O emissions from agricultural soils. In IPCC good practice guidance and uncertainty management in national greenhouse gas inventories. Pp 4.53-4.66.
- Jensen E.S., Hauggaard-Nielsen H., 2003. How can increased use of biological N₂ fixation in agriculture benefit the environment ? Plant Soil, 252, 177-186.
- Labreuche J., Lellahi A., Malaval C., Germon J.C., 2011. Impact des techniques culturales sans labour (TCSL) sur le bilan énergétique et le bilan des gaz à effet de serre des systèmes de culture. Cah. Agric. 20, 204-215.
- Lemanceau P., Alabouvette C., 1993. Biological control of Fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. Crop Prot., 10, 279-286.
- Maillet F., Poinot V., André O., et al, 2011. Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. Nature, 469, 58-64.
- Mosse B., Stribley D.P., Le Tacon F., 1981. Cité par Courty et al, 2010.
- Mousain D., Matumoto-Pintro P., Quiquampoix H., 1997. Le rôle des mycorhizes dans la nutrition phosphate des arbres forestiers. Rev. For. Fr. 49, 67-81.
- O'Hara G.W., Daniel R.M., 1985. Rhizobial denitrification: a review. Soil Biol. Biochem., 17, 1-9.
- Olah B., Brière C., Bécard G., Dénarié J., Gough C., 2005. Nod factors and a diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi stimulate lateral root formation in *Medicago truncatula* via the DM1/DM2 signalling pathway. Plant J., 44, 195-207.
- Olivain C., Humbert C., Nahalkova J. et al., 2006. Colonization of tomato roots by pathogenic and non-pathogenic *Fusarium oxysporum* together and separately in the soil. Appl. Environ. Microbiol., 72, 1523-1531.
- Tapez pour saisir le texte
- Philippot L., Hallin S., 2011. Towards food , feed and energy crops mitigating climate change. Trends Plant Sci., 16, 476-480.
- Plassard C., Louche J., Ali M.A., Duchemin M., Legname E., Cloitier-Hurteau B., 2011. Diversity in phosphorus mobilization and uptake in ectomycorrhizal fungi. Ann. Forest Sci., 68, 33-43.
- Plassard C., Bonafos B., Touraine B., 2000. Differential effects of mineral and organic N sources and of ectomycorrhizal infection by *Hebeloma cylindrosporum*, on growth and N utilization in *Pinus pinaster*. Plant Cell Environ., 23, 1195-1205.
- Powlson D.S., Withmore A.P., Goulding K.W.T., 2011. Soil carbon sequestration to mitigate climate change : a critical re-examination to identify the true and the false. Eur. J. Soil Sci., 62, 42-55
- Rochette P, Janssen H.H., 2005. Towards a revised coefficient for estimating N₂O emissions from legumes. Nutr. Cycl. Agroecosys., 73, 171-179.
- Schlessinger W.H., 2009. On the fate of anthropogenic nitrogen. P. Natl. Acad. Sci. USA, 106, 203-208.
- Seddas P., Gianinazzi-Pearson V., Schoefs B., Küster H., Wipf D., 2009. Communication and signaling in the plant-fungus symbiosis : the mycorrhiza. In F. Baluska (ed) Plant-Environment Interactions, Signaling and communication in plants, pp 45-71. Springer-Verlag, Heidelberg.
- Smil V., 2002. 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, 7-9.
- Subbarao G.V., Nakahara K., Hurtado M.P. et al., 2009. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. P. Natl. Acad. Sci. USA, 106, 17302-17307.
- Subbarao G.V., Tomohiro B., Masahiro K. et al, 2007 , Can biological nitrification inhibition (BNI) genes from perennial *Leymus racemosus* (Triticeae) combat nitrification in wheat farming ? Plant Soil 299, 55-64.
- Sullivan, J. T., Patrick H.N., Lowther W.L., Scott D.B., Ronson C.W., 1995. Nodulating strains of *Rhizobium loti* arise through chromosomal symbiotic gene transfer in the environment. P. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 8985-8989.
- Thiébeau P., Lô-Pelzer E., Klumpp K. et al., 2011. Conduite des légumineuses pour améliorer l'efficacité énergétique et réduire les émissions de gaz à effet de serre à l'échelle de la culture et de l'exploitation agricole. Innovations agronomiques, 11, 45-58.
- Thomashow L.S., Weller D.M., 1988. Cité par Alabouvette et al, 2006.