

Année de l'AAP : 2008

Projet N° 0802-022 Achevé

Titre : Réponses adaptatives de la symbiose fixatrice d'azote <i>Medicago truncatula</i> - rhizobia à la limitation de l'acquisition d'azote

Unité responsable du projet : LSTM (Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes) (CIRAD, INRA, IRD, Montpellier SupAgro, UMII)

Porteur de projet : Gisèle Laguerre (gisele.laguerre(a)supagro.inra.fr)

Unités de recherche du réseau scientifique d'Agropolis Fondation associés : BPMP

Sous-axes thématiques : BIP-1: Génétique et génomique, amélioration des plantes, écophysiologie, BIP-2: Maladies et ravageurs des plantes, protection intégrée des cultures, écologie des populations, DSTI-1: Innovations agro-environnementales, agro-écosystèmes, gestion des ressources

Objectifs :

Dans le sol, les racines sont en permanence soumises à des stress biotiques et abiotiques qui suppriment localement l'acquisition de N. De plus, chez les légumineuses les racines forment des nodules en présence de populations bactériennes hétérogènes et fluctuantes constituées de plusieurs souches de rhizobiums d'efficacité variable pour la fixation symbiotique du N₂. Le maintien de la croissance de la plante dans de telles situations dépend de sa capacité à compenser le déficit en augmentant la capacité d'acquisition des racines restées non stressées. Des travaux récents ont permis de caractériser ces réponses adaptatives chez *Medicago truncatula* (Ruffel et al., 2008, Plant Physiol 146: 2020-2035 ; Jeudy et al., 2010, New Phytol 185: 817-828). Dans le cas de plantes alimentées par NO₃⁻, la plante compense très rapidement et très efficacement le déficit, d'abord en accroissant la capacité d'absorption des racines restées alimentées puis en stimulant préférentiellement leur prolifération. Il existe également une réponse compensatoire chez les plantes fixatrices d'N₂ (symbiose avec la souche modèle *Sinorhizobium meliloti* RCR2011/ déficit local provoqué par un traitement Ar/O₂), mais celle-ci est nettement moins efficace et plus lente. Elle ne s'accompagne d'aucun accroissement de l'activité spécifique de fixation des nodules existants (qui semble être en permanence à son maximum) et ne dépend que de la stimulation du développement nodulaire chez les racines non stressées restées alimentées. Notre objectif a été de déterminer chez *M. truncatula* l'impact de la variabilité bactérienne pour l'efficacité à fixer le N₂ sur les réponses fonctionnelles (activité nodulaire, acquisition d'N chez la plante entière) et développementales (nodosités et racines) en exploitant la variabilité génétique naturelle existant chez les rhizobiums compatibles.

Des études seront menées sur les espèces modèles *M. truncatula* (*Mt*) et un ensemble unique de partenaires rhizobiens compatibles, collectés par le LSTM. L'incidence de la variabilité génétique des rhizobia sur les réponses des structures (taille et nombre des nodules, architecture nodulaire/racinaire) et les fonctions des organes symbiotiques (activité des nodules, apport d'azote) sera étudiée. Cette approche est une première étape vers un projet plus ambitieux, visant à élucider les mécanismes bactériens qui contribuent à l'adaptation de la plante aux fluctuations des facteurs environnementaux.

Actions menées et résultats obtenus :

Le criblage d'une collection de rhizobiums (*S. meliloti* et *S. medicae*) a permis de sélectionner des souches présentant des niveaux d'efficacité à fixer le N₂ en symbiose avec *M. truncatula* inférieurs ou supérieurs à celui de RCR2011. La réponse compensatoire de la plante a été caractérisée chez des plantes nodulées avec chacune de ces souches dans des dispositifs de type split-root. L'effet de la suppression locale de la fixation de N₂ appliquée à une moitié du système racinaire a été étudié sur les racines de la même plante restées fixatrices. Pour les réponses de court terme (4 j), le traitement suppresseur a consisté à remplacer l'air, par un mélange d'argon et d'oxygène. Pour les

réponses de long terme (30 j), la limitation en azote a été obtenue en faisant noduler la moitié du système racinaire avec une souche de *S. meliloti* incapable de fixer le N₂ (mutant fixJ de RCR2011).

Les résultats montrent que le schéma général décrit précédemment pour la symbiose *M. truncatula* –RCR2011 est conservé quelles que soient la souche et son efficacité fixatrice. Dans notre étude, les réponses observées à 30 jours montrent que la plante a compensé totalement la limitation locale du prélèvement d'azote car les biomasses et les teneurs en azote des plantes soumises au traitement sont équivalentes à celles des plantes témoins quelle que soit la souche considérée. Pour toutes les souches la réponse compensatoire à la limitation localisée en azote dépend uniquement de la stimulation du développement nodulaire et non de l'augmentation de l'activité spécifique nodulaire au niveau des racines non traitées (fixatrices d'azote). Les réponses observées sont cohérentes avec un rétrocontrôle négatif systémique exercé par les assimilats N de la plante sur le développement nodulaire. L'ampleur de la réponse adaptative à long terme dépend de l'activité fixatrice de N₂ de la souche : en effet, plus la souche est efficace, plus la réponse compensatoire est importante. Toutefois, la réponse n'est pas uniquement déterminée par le statut N et la demande en N de la plante, mais aussi fortement dépendante de l'efficacité de la souche en interaction avec la plante. En effet, chez les souches peu efficaces, bien que le niveau global de fixation de N soit insuffisant pour satisfaire la demande en N de la plante, le développement nodulaire atteint un seuil. Cela suggère soit une limitation de la réponse par des facteurs nutritionnels (limitation en C, par exemple) ou bien une limitation par les mécanismes liés à l'autorégulation du nombre de nodule (AON) qui semblent être en partie déterminés par la nature de l'interaction symbiotique. Des études avec des plantes cultivées dans une atmosphère enrichie en CO₂ et/ou avec des mutants affectés sur l'AON (mutant hypernodulant) pourraient permettre d'évaluer ces deux hypothèses.

Perspectives :

Diverses études ont montré que la plante-hôte s'associe préférentiellement avec certains génotypes bactériens parmi la diversité génétique disponible dans les populations telluriques, mais des travaux récents indiquent que la structure des populations dans les nodosités change au cours du cycle végétal, varie en fonction de modifications du développement nodulaire et pourrait varier en fonction de contraintes nutritionnelles subies par la plante (Depret et Laguerre, 2008, *New Phytol* 179:224-235 ; Kiers et al., 2007, *Proc. R. Soc. B* 274:3119–3126). Ces résultats suggèrent que les divers composants des populations de rhizobiums peuvent être mobilisés différemment par l'interaction symbiotique en réponse aux conditions environnementales ou au développement de la plante et ainsi contribuer à la plasticité de l'adaptation de la plante à un environnement fluctuant pour la fourniture en N. Nos travaux en cours ont donc maintenant pour objectif de déterminer si la plante, en fonction de sa demande en azote, est capable de sélectionner les bactéries les plus efficaces pour la formation des nodosités et/ou de favoriser la croissance des nodosités existantes formées par les souches les plus efficaces. A plus long terme, et selon les résultats obtenus, il est envisagé de développer un projet visant à décrypter les bases moléculaires de ces réponses adaptatives.

Financement total par Agropolis Fondation : 8 840 € (frais de fonctionnement)

Catégorie(s) de soutien : soutiens divers (soutiens à des projets exploratoires, risqués et innovants)

Durée du projet : 1^{er} octobre 2008 – 31 décembre 2009

Mots clés : symbiose – azote – bactéries fixatrices d'azote – rhizobia – *Medicago truncatula* –