

Diversité fonctionnelle de la racine : mise en évidence et fondements moléculaires

Émile Duhoux, Claudine Franche, Didier Bogusz

Bien que la biodiversité puisse être étudiée à tous les niveaux d'organisation des systèmes biologiques, depuis les complexes moléculaires jusqu'à la biosphère tout entière, cette notion privilégie les approches génétiques et écologiques. Dans une recherche qui donne une place importante à la dynamique des communautés plurispécifiques, Barbault fait appel à la notion de biodiversité fonctionnelle [1]. Cette notion concerne essentiellement les écosystèmes ; il s'agit en fait d'identifier les groupes fonctionnels entre êtres vivants et d'étudier les relations entre ces groupes, particulièrement à l'échelle des réseaux trophiques et des flux énergétiques.

Au niveau de l'espèce, et cette fois dans le cadre général de la physiologie du développement, on peut également envisager une diversité fonctionnelle. Les données récentes de la biologie et de ses approches moléculaires permettent, comme dans l'étude de la diversité fonctionnelle des écosystèmes, d'analyser, au niveau d'un organe cette fois, la nature de cette diversité, les diverses fonctions observées et d'identifier parfois les relations entre les mécanismes moléculaires impliqués.

Nous montrerons, à partir d'exemples empruntés à la racine des plantes supérieures, comment un organe peut, à l'intérieur d'une même espèce, présenter

une véritable variabilité fonctionnelle sous l'influence de facteurs biotiques ou abiotiques.

Mise en évidence d'une diversité fonctionnelle chez les ébauches racinaires adventives de *Sesbania rostrata*

Sesbania rostrata (Fabacées) est une légumineuse tropicale annuelle qui possède sur ses tiges de nombreuses ébauches de racines, disposées tous les 3 à 5 mm suivant 3 ou 4 génératrices de la tige (figure 1). Les ébauches racinaires préformées de *S. rostrata* sont à un stade avancé de différenciation : elles comprennent un méristème racinaire, un cortex, un cordon vasculaire et une coiffe [2]. Ces ébauches racinaires sont cependant dépourvues de coiffe et on n'y trouve ni zone d'élongation ni poils absorbants.

Ces structures constituent de petits massifs extrusifs où chaque apex racinaire préformé perce la tige de la plante au niveau d'un dôme épidermique (figure 1).

Divers travaux ont montré que, selon les conditions de milieu, les ébauches racinaires d'une telle tige présentent une diversité fonctionnelle tout à fait originale qui peut se traduire par trois types d'évolution différents (figure 1).

• En présence d'eau, les ébauches se développent en racines adventives typiques plus ou moins ramifiées. Ce premier type d'évolution morphogénétique a lieu aussi bien dans les conditions naturelles, où la partie basale de la tige est périodiquement submergée dans des mares temporaires, que dans des conditions expérimentales, où les tiges coupées sont immergées dans l'eau [2]. La longueur des racines adventives produites est variable et dépend de leur position le long de la tige et de l'intensité lumineuse reçue par la plante. L'utilisation de traceurs radioactifs ^{86}Rb et ^{134}Cs a montré que ces structures racinaires jouent un rôle dans l'absorption minérale de la plante [3].

• En culture *in vitro* et en absence de régulateurs de croissance, les ébauches racinaires d'explants de tige de *S. rostrata* peuvent former des bourgeons adventifs [4]. Il s'agit là d'une véritable conversion de l'apex, où la partie basale du méristème racinaire est reprogrammée dans la voie morphogénétique qui conduit à la différenciation d'un bourgeon. Ce bourgeon s'allonge ensuite pour donner un rameau latéral feuillé.

• En présence d'*Azorhizobium caulinodans*, microsymbiote spécifique, l'ébauche racinaire se transforme en nodule chlorophyllien fixateur d'azote atmosphérique. Dans ce cas, l'initiation du méristème nodulaire a lieu à la base de l'ébauche racinaire [5], puis les massifs méristématiques envahis par les rhizobia confluent pour constituer un nodule aérien de 3 à 8 mm de diamètre. Chaque ébauche racinaire peut évoluer en nodule fixateur d'azote ; la tige est donc parfois recouverte de nodules aériens et

É. Duhoux, C. Franche, D. Bogusz : IRD-GeneTrop, BP 5045, 911, avenue Agropolis, 34032 Montpellier cedex, France.

Tirés à part : É. Duhoux

cette abondance de nodules explique le fort potentiel fixateur d'azote de *S. rostrata*.

Avec cet exemple, nous avons vu qu'un même organe, l'ébauche racinaire de la tige du *S. rostrata*, présente une diversité fonctionnelle tout à fait remarquable. Ce type de plasticité phénotypique est observé assez souvent chez les plantes soumises à des conditions d'environnement différentes. Dans le cas du *S. rostrata* il est intéressant de noter que ces différentes évolutions sont possibles à partir d'un organe de la même plante. De plus, pour une même structure, le nodule, il a été démontré l'existence d'une certaine variabilité fonctionnelle. En effet, chez *S. rostrata* la nature déterminée ou indéterminée des nodules matures semble être induite par l'éthylène [6]. Les nodules fixateurs d'azote sont généralement classés en deux grands groupes : les nodules indéterminés et déterminés. On admet généralement que pour une plante donnée existe un seul type de nodule. Les nodules indéterminés ont une forme oblongue formée par un méristème apical persistant, tandis que les nodules déterminés de forme arrondie ont une activité méristématique transitoire. Dans cet exemple, la structure

du nodule peut évoluer, en fonction des conditions environnementales, soit vers un type déterminé, soit vers un type indéterminé, ce qui suggère là encore une grande plasticité anatomique et fonctionnelle du nodule.

Exemple de diversité fonctionnelle induite par les facteurs abiotiques : les racines protéoïdes ou racines en touffe (RT)

Ce sont des structures racinaires localisées généralement sur les racines latérales qui ont été décrites pour la première fois

[8] sous le nom de racines protéoïdes en raison de leur présence, nombreuse et fréquente, chez les plantes de la famille des Protéacées [9]. On trouve également des racines protéoïdes dans le système racinaire de certaines plantes actinorhiziennes [10] comme *Myrica gale* (Myricacées), *Comptonia peregrina* (Myricacées), dans trois genres des Casuarinacées (*Casuarina*, *Gymnostoma* et *Allocauarina*) et chez d'autres plantes parmi lesquelles plusieurs espèces de lupin (Fabacées). Les RT sont constituées de touffes de radicules à croissance limitée (2 à 50 mm de long) alignées de manière contiguë selon 3 ou 4 génératrices disposées en face des pôles ligneux de la racine mère (figure 2). Une racine latérale peut porter plusieurs RT (figure 2). Chaque RT contient plusieurs dizaines de radicules et le système racinaire global de la plante développe ainsi une multitude de radicules qui augmentent la surface racinaire.

L'intérêt des RT réside également dans leur capacité à excréter de grandes quantités de protons et d'acides organiques (acide malique, acide citrique) qui favorisent l'absorption des éléments peu solubles dans le sol comme le phosphore. On a pu noter que, à mesure que les RT sont formées, la teneur en phosphore et en fer dans les tissus de la plante carencée est restaurée, ce qui supprime ainsi les symptômes de la chlorose ferrique que pouvaient induire les carences des conditions minérales du sol.

Dans l'exemple des racines protéoïdes, on a pu montrer, dans de nombreux cas, que c'est l'influence d'un déséquilibre physiologique (carence en phosphore ou en fer) qui est le facteur responsable de la différenciation de ce nouveau type racinaire en position adventive par rapport au système initial.

Au cours des dernières années, plusieurs équipes ont recherché les gènes de la plante hôte qui sont préférentiellement exprimés dans les racines protéoïdes. Chez *Lupinus albus*, une carence en phosphore des plantes détermine l'induction de telles racines protéoïdes [11]. On note dans les racines protéoïdes une accumulation de transcrits du gène de la phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC), une augmentation de l'enzyme correspondante et de son activité spécifique supérieures à celles des racines normales. Corrélativement les plantes carencées en phosphore excrètent respectivement 40, 20 et 5 fois plus de citrate, de malate et de succinate que les plantes témoins. Ces résultats sug-

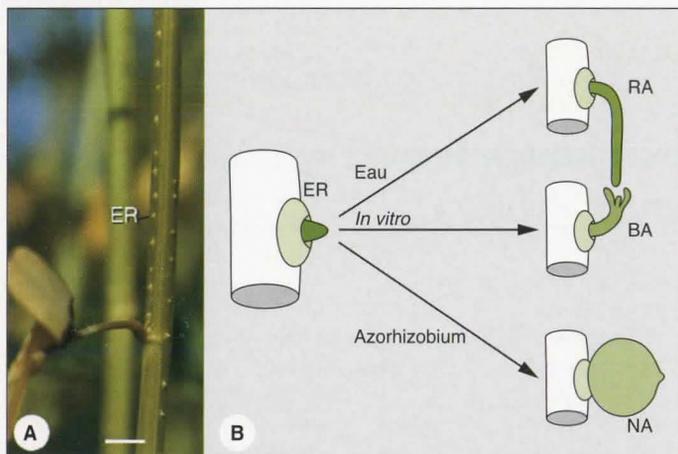


Figure 1. Diversité fonctionnelle chez les ébauches racinaires adventives de *Sesbania rostrata*.

A. La tige de *S. rostrata* porte de nombreuses ébauches racinaires (ER) préformées et disposées sur des lignes verticales. La barre représente 1 cm.

B. Selon les conditions de milieu, les ébauches racinaires de cette tige présentent une variation fonctionnelle tout à fait originale : en présence d'eau, elles se développent en racines adventives typiques (RA) ; en culture *in vitro*, elles se transforment en bourgeons adventifs (BA), et en présence d'*Azorhizobium caulinodans*, l'ébauche racinaire se transforme en nodule aérien chlorophyllien fixateur d'azote (NA).

Figure 1. Functional diversity of *Sesbania rostrata* adventitious primordia roots.

A. *S. rostrata* stem showing several preformed adventitious primordia roots "ER" arranged in vertical lines. Bar = 1 cm.

B. Environmental conditions influence development of adventitious primordia roots : in water, they form typical adventitious roots (RA), *in vitro* culture they develop adventitious buds (BA), and in the presence of *Azorhizobium caulinodans*, root primordium form a chlorophyllous nitrogen fixing nodule (NA).

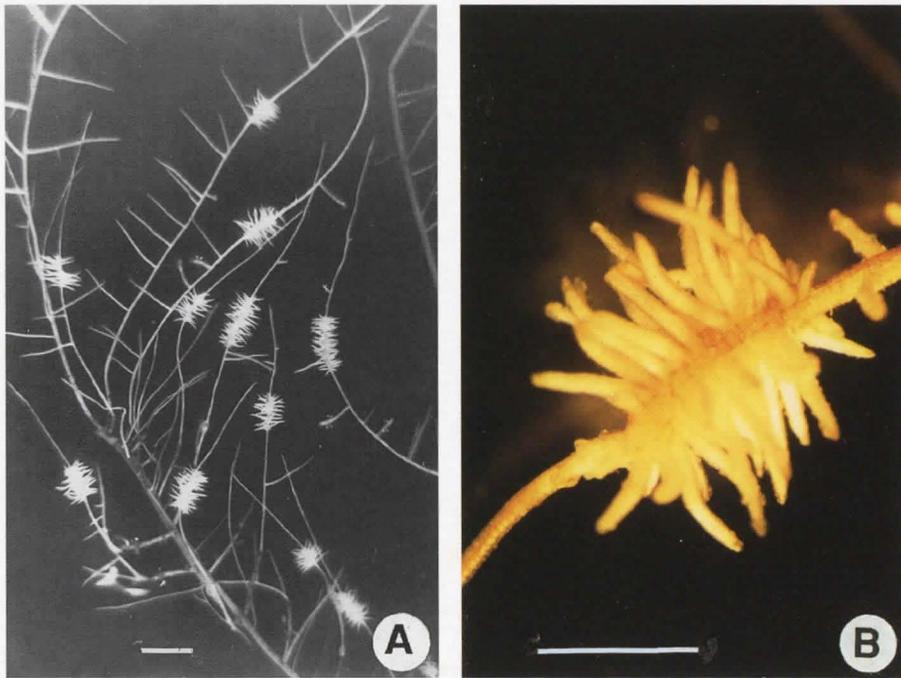


Figure 2. Racines protéoïdes ou racines en touffe de *Casuarina glauca* cultivé sur milieu nutritif dépourvu de fer et de phosphore.
A. Vue générale du système racinaire : la longueur des touffes atteint 1 à 2 cm de long (photo M. Arahou).
B. Détail montrant les radicelles d'une touffe, alignées selon 3 génératrices de la racine. Barre = 1 cm.

Figure 2. Cluster roots of *Casuarina glauca* grown in nutrient medium deprived of iron and phosphorus.
A. Root system : general view of 1-2 cm-root clusters.
B. Detail of cluster roots. Rootlets are arranged along 3 vertical lines of the main root. Bar = 1 cm.

gèrent que la régulation du gène de la PEPC est de type transcriptionnel et induite par la carence en phosphore.

Exemple de diversité fonctionnelle induite par un micro-organisme : le nodule actinorhizien

Les plantes actinorhiziennes constituent le second groupe de plantes importantes capables de fixer l'azote moléculaire. Les nodules actinorhiziens sont des structures coralloïdes composées de multiples lobes nodulaires. Contrairement aux nodules des légumineuses, qui sont des organes nouveaux, les nodules des plantes actinorhiziennes sont considérés comme des racines adventives modifiées [12, 13]. En effet, comme pour une raci-

ne latérale ou adventive, les primordia des lobes nodulaires sont initiés dans les cellules du péricycle, toujours à l'opposé des pôles de protoxylème. Le lobe nodulaire possède également une structure typique de racine avec une vascularisation centrale, entourée d'un endoderme, d'un cortex et d'un périderme (figure 3). Seuls certains massifs cellulaires du cortex sont envahis par les hyphes du microsymbiote *Frankia* où a lieu la fixation d'azote. Le tissu cortical comprend un mélange de cellules infectées et de cellules non infectées. Dans un lobe donné, la croissance et l'invasion du microsymbiote ont lieu de manière acro-pète. Les cellules du parenchyme cortical se présentent selon un gradient de telle sorte que les cellules les plus récemment envahies par *Frankia* sont celles qui sont situées le plus près du méristème. On peut distinguer ainsi quatre zones dans le lobe : une zone apicale méristématique (zone I), une zone de jeunes cellules infectées (zone II), une zone de cellules infectées matures (zone III) et, enfin,

une zone sénescence observée seulement dans les nodules âgés (zone IV).

D'un point de vue moléculaire, l'analyse d'une banque d'ADNc de nodules de *Casuarina glauca* a montré que la grande majorité des gènes exprimés dans les nodules le sont également dans les racines non infectées [14] (tableau).

Comme chez les légumineuses, certains gènes de la plante hôte sont préférentiellement ou exclusivement exprimés dans les nodules de plantes actinorhiziennes. Ainsi, chez *C. glauca*, les gènes *cg12*, qui code pour une protéase à sérine de la famille des subtilisines [15], *ag164* et *agNt84* sont spécifiquement exprimés dans les jeunes cellules du cortex en cours d'infection par *Frankia* [16]. Ces gènes codent pour des protéines qui pourraient lier des ions métalliques comme le molybdène ou le cobalt connus pour intervenir dans la symbiose. Lorsque le nodule est mature, la plante doit fournir au microsymbiote une source d'énergie et de carbone pour assurer le fonctionnement symbiotique. Des gènes impliqués dans le métabolisme carboné sont alors surexprimés dans le nodule comme celui de la PEPC, celui de la glutamine synthétase ou l'acétylornithine transaminase [17].

Différents mécanismes sont rencontrés dans les nodules actinorhiziens pour gérer la teneur en oxygène qui, lorsqu'elle est élevée, inhibe le complexe nitrogénasique responsable de la conversion de l'azote moléculaire de l'air. L'hémoglobine, protéine de transport de l'oxygène, a été isolée chez *C. glauca*. Un gène d'hémoglobine symbiotique de *C. glauca* a été caractérisé et ses transcrits sont présents en grande quantité dans les cellules infectées de la zone III de fixation [18]. Une expression plus faible de ce gène est également détectée dans les jeunes cellules infectées de la zone II. Ce gène n'est pas exprimé de manière spécifique dans le nodule (tableau). Comme chez les légumineuses, il a été proposé que l'hémoglobine réduirait la pression partielle d'oxygène et permettrait donc l'expression des gènes de la nitrogénase.

L'expression de *Cg CHS1* (chalcone synthase) étudiée par hybridation *in situ* dans les nodules de *Casuarina glauca* montre que les transcrits sont détectés tout spécialement à l'apex du lobe nodulaire dans des cellules spécialisées qui accumulent des flavanes (figure 3B). L'accumulation massive de ces polyphénols se réalise de manière très ordonnée et conduit à une compartimentation tissulaire dans le nodule [19]. Les mêmes

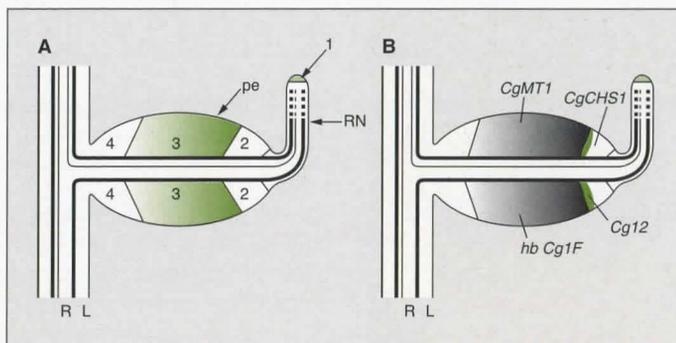


Figure 3. Structure d'un lobe nodulaire de *C. glauca* et localisation spatiale comparée de l'expression de quelques gènes de la plante hôte dans la racine et dans le lobe nodulaire.

A. Les nodules actinorhiziens sont constitués de lobes nombreux et regroupés. Chacun des lobes possède une structure anatomique de racine adventive sans coiffe, d'un périderme (pe) superficiel et, dans le cas de *Casuarina*, d'une racine nodulaire à l'extrémité du lobe. Les racines nodulaires sont dépourvues de *Frankia*. Le parenchyme cortical est infecté par le microsymbiote *Frankia* et présente une différenciation selon quatre zones différentes : 1) zone méristématique ; 2) zone d'infection ; 3) zone de fixation ; 4) zone de sénescence. RL, racine latérale.

B. Plusieurs gènes *CgMT1* (métallo-thionéine), *CgCHS1* (chalcone synthase) sont exprimés dans les lobes nodulaires et dans les racines non infectées. D'autres comme *Cg12* (protéase à sérine) et *hb-Cg1F* (hémoglobine symbiotique) sont exprimés uniquement dans le lobe nodulaire.

Figure 3. Structure of *C. glauca* nodule lobe and spatial localization of plant genes expression in the root and the nodule lobe.

A. Actinorhizal nodules are composed of closely packed nodule lobes. The structure of each lobe is similar to that of an adventitious root without root cap. An uninfected root emerges from the tip of each *C. glauca* nodule lobe. Zonation of the cortex with four different zones can be defined : 1) meristematic zone ; 2) infection zone ; 3) fixation zone ; 4) senescent zone. RL, lateral root.

B. Several genes *CgMT1* (metallothioneine), *CgCHS1* (chalcone synthase) are expressed in both nodule lobes and uninfected roots, whereas *Cg12* (serine protease) and *hb-Cg1F* (symbiotic hemoglobin) are specifically expressed in nodule lobes.

Tableau

Étude comparée de l'expression de quelques gènes de la plante hôte dans la racine non infectée et le lobe nodulaire du *Casuarina glauca*

Gènes étudiés	Racine non infectée	Racine symbiotique (lobe nodulaire)
Métallothionéine <i>Cg MT1</i>	++	++
Chalcone synthase <i>Cg CHS1</i>	+	+
Hémoglobine symbiotique <i>Hb-Cg1F</i>	-	+
Protéase à sérine <i>Cg12</i>	-	+

Comparative study of host genes expression in root and nodule lobe of *Casuarina glauca*

molécules sont observées également dans la racine non infectée mais en plus petite quantité que dans le nodule. Ces résultats indiquent que le microsymbiote induit le métabolisme des flavonoïdes préexistant dans les racines ; le gène *Cg CHS1* est exprimé dans les cellules spécialisées du nodule qui accumulent des flavanes.

En conclusion, d'un point de vue moléculaire, l'analyse de banques d'ADNc de nodules de *C. glauca* a montré qu'une large majorité des gènes exprimés dans les racines l'étaient également dans les nodules. Il semble donc que le programme génétique qui conduit à la formation et au fonctionnement du nodule actino-

rhizien est, en partie, être dérivé du programme génétique de la racine. L'actinomycète *Frankia* possède la particularité d'induire un nouveau type de rhizogénèse qui peut être qualifiée de symbiotique.

La diversité fonctionnelle pourrait partager, pour partie, des voies de signalisation communes

La plupart des plantes supérieures ont l'aptitude à former, avec des champignons de l'ordre des Glomales, une association symbiotique nommée endomycorhize à arbuscules (*Arbuscular Mycorrhiza* = AM). Le champignon progresse dans les cellules de l'hôte où il forme des arbuscules ; cette association est bénéfique pour la nutrition minérale de la plante. Contrairement aux AM, seulement un groupe de plantes, les légumineuses, est capable de s'associer de manière symbiotique avec *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium* et *Sinorhizobium* (appelés collectivement *Rhizobium*) pour former un nodule fixateur d'azote.

Dans ces légumineuses, il a été montré au cours de ces dernières années que les symbioses endomycorhizienne et avec *Rhizobium* utilisaient une partie commune d'une voie de transduction pour aboutir soit à la différenciation d'une endomycorhize, soit d'un nodule fixateur d'azote (figure 4).

En effet, beaucoup de mutants de pois et de vesce, incapables d'entrer en symbiose avec *Rhizobium* (Nod⁻), ne forment pas non plus de mycorhizes (Myc⁻) [20, 21]. Pour au moins 21 des 45 mutants connus, la mutation d'un seul gène serait responsable des phénotypes Myc⁻ et Nod⁻. Par ailleurs, des mêmes gènes de nodulines (*MsENOD12*, *MsENOD40*, *ENOD5* et *ENOD12*) sont exprimés dans les deux types d'association symbiotique [22, 23]. Enfin, un gène d'hémoglobine (leghémoglobine *VfLb29*) est exprimé dans les racines de *Vicia faba* au cours

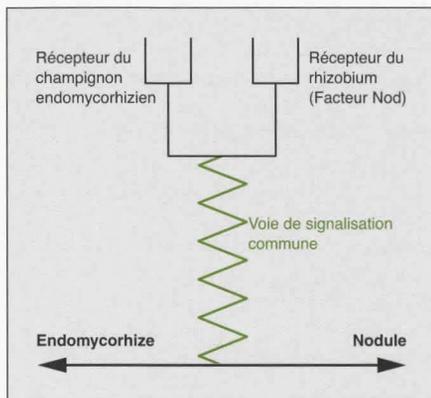


Figure 4. Conservation des voies de transduction qui conduisent chez les légumineuses à la formation de nodules et d'endomycorhizes. Des mutants *Nod⁻* et *Myc⁻* de plusieurs légumineuses, ainsi que l'induction de l'expression de plusieurs gènes de la plante hôte (voir texte) suggèrent qu'une voie de signalisation commune (en vert) pourrait être partagée par les deux types d'association symbiotique.

Figure 4. Evolutionary conservation of legume nodules and endomycorrhizae developmental pathway. *Nod⁻* and *Myc⁻* legume mutants together with the expression of several host plant genes suggest a common transduction pathway (green color) for the two types of symbioses.

de la nodulation et également lorsque ces racines sont placées au contact du champignon endomycorhizien *G. fasciculatum* [24]. Dans les symbioses mycorrhiziennes le rôle de l'hémoglobine symbiotique n'est pas connu ; l'expression du gène *VfLb29* suggère que les facteurs de transcription impliqués dans l'expression des gènes de l'association mycorrhizienne peuvent contrôler également l'expression de gènes clés des symbioses fixatrices d'azote.

Au vu de ces résultats, on a donc suggéré qu'une partie de la voie de signalisation utilisée par les rhizobia et les champignons endomycorhiziens était commune (figure 4). Sachant que plus de 80 % des plantes forment des mycorhizes avec les champignons endomycorhiziens et que cette symbiose est probablement la plus ancienne (environ 400 millions d'années [25]), on peut penser que, au cours de l'évolution, la symbiose avec *rhizobium* a pu exploiter une partie du programme génétique déjà impliqué dans la symbiose avec les AM, pour la modifier ensuite vers une voie nouvelle qui conduit à la formation d'un nodule fixateur d'azote.

Summary

Functional diversity of roots : evidence and molecular bases

E. Duhoux, C. Franche, D. Bogusz

The diversity of living creatures is related to genetic diversity based on nucleic acid properties. Genetic diversity enables a population to adapt to its environment and respond to natural selection. Genetic diversity generally allows a species to respond to changes in specific environments. We address the question of how genetic diversity should be recognized at the organ level. We consider evolutionary changes within species and examine how genetic variation at molecular levels enables roots to adapt to biotic and abiotic factors.

*We illustrate the phenotypic plasticity observed with plant roots, as an adaptation to changing environmental conditions. In the tropical legume *Sesbania rostrata*, adventitious root primordia along the stem can give rise to nitrogen fixing nodules, adventitious rootlets or adventitious buds, depending on biotic and abiotic signals (Fig. 1). Several plant species, including *Casuarina glauca* can produce cluster roots in phosphorus and iron deficient soils. In response to the nutrient status in the environment, cluster roots are considered to be an effective adaptation mechanism in enhancing phosphorus uptake (Fig. 2). Actinorhizal symbioses illustrate the capacity of lateral roots to become symbiotic. Actinorhizal nodules are initiated in the pericycle as lateral roots, and have root-like anatomy. Genes involved in nodule development therefore might have been recruited via lateral root development (Fig. 3; Table 1).*

Furthermore, recent studies indicate that common host genes are involved in both rhizobial and mycorrhizal interactions, suggesting a common signal-transduction cascade between legume and endomycorrhizal symbiosis (Fig. 4).

Since recent phylogenetic studies suggest a single origin for the predisposition to form nitrogen fixing symbiosis within the Rosid I clade (Fig. 5), it can be considered that the genetic information of species belonging to this clade is a resource that could be useful to extend the root nodulation capacity.

Cahiers Agricultures 2000 ; 9 : 293-9.

La diversité fonctionnelle au niveau de l'espèce peut-elle être considérée comme une ressource génétique ?

Pour tenter de répondre à cette question, nous considérons la question des plantes possédant des nodules fixateurs d'azote. Une étude récente de phylogénie moléculaire a montré que toutes les angiospermes qui ont l'aptitude à former des nodules fixateurs d'azote sont réunies dans un unique clade, celui des Rosid I [26]. Ce résultat suggère que toutes ces plantes possèdent un ancêtre commun. Par ailleurs, ce clade inclut des plantes

non nodulées (figure 5), ce qui indique que l'ancêtre commun ne devait pas être lui-même symbiotique mais devait posséder une certaine prédisposition à la symbiose. Plusieurs travaux [26-28] ont suggéré que la capacité de former des nodules au niveau des racines se serait réalisée de manière indépendante plusieurs fois au cours de l'évolution.

Dès lors, on peut suggérer que l'ancêtre commun de ce clade et l'ensemble des plantes qui le constitue présentent des prédispositions à réaliser cette fixation symbiotique de l'azote. En ce sens, l'ensemble de ces plantes constitue un pool génétique qui peut être considéré comme une ressource génétique si on souhaite transférer l'aptitude à noduler vers d'autres plantes.

À la lumière des résultats obtenus au cours de la dernière décennie à propos de l'interaction plantes-micro-organismes, il apparaît de plus en plus que les protéines spécifiquement accumulées (nodulines) au cours de la formation et

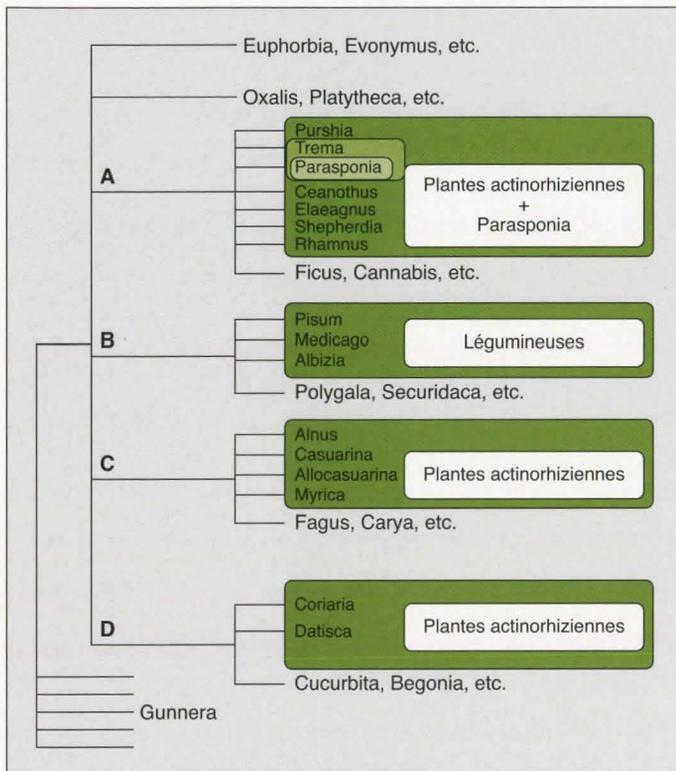


Figure 5. Résultats d'études de phylogénie moléculaire indiquant que toutes les plantes qui réalisent une symbiose nodulaire fixatrice d'azote appartiennent à un même clade (Rosid I) [26, 28].

Figure 5. Results of molecular phylogeny studies indicating that all plants with nodular nitrogen fixing symbiosis belong to the same clade (Rosid I) [26, 28].

du fonctionnement du nodule, possèdent leurs homologues non symbiotiques (hémoglobines, glutamine synthétase, sucrose synthase, etc.). Les gènes symbiotiques spécialisés correspondants ont pu apparaître après duplication d'un gène ancestral comme cela a été montré pour l'hémoglobine chez les légumineuses et les plantes actinorhiziennes [29]. Par ailleurs, il a été montré [30, 31] que les mécanismes de régulation des gènes d'hémoglobine entre légumineuses et Casuarinacées étaient conservés. Ces résultats suggèrent une conservation des facteurs de transcription responsables de la différenciation des tissus nodulaires dans les différents systèmes fixateurs d'azote. La conservation des mécanismes de régulation des gènes symbiotiques intervenant chez les légumineuses et les plantes actinorhiziennes conforte l'hypothèse d'une origine évolutive commune des symbioses fixatrices d'azote [26].

Il apparaît donc (figure 5) une sorte de parenté des mécanismes génétiques au sein des Rosid I, clade qui constitue une véritable ressource génétique au sens classique du terme. Deux remarques s'imposent en guise de conclusion. Tout d'abord, on peut faire l'hypothèse qu'il devrait être plus facile, dans un premier temps, de tenter de transférer l'aptitude à la nodulation dans les plantes non

nodulantes du groupe des Rosid I, plutôt que d'essayer des groupes très lointains comme les Monocotylédones. Ensuite, si *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) constitue une plante modèle intéressante dans l'étude des processus généraux des voies de transduction du développement et des voies métaboliques, ce modèle apparaît nettement moins adapté à l'étude des systèmes symbiotiques. En effet, les Brassicaceae n'ont pas l'aptitude à développer des symbioses mycorhiziennes. Par conséquent, l'utilisation d'autres modèles (*Medicago truncatula* pour les légumineuses et *Casuarina glauca* comme modèle d'arbre actinorhizien) pourrait constituer une alternative intéressante pour étudier la part du génome impliquée dans ces symbioses. Un programme important de génomique fonctionnelle et comparative sur *M. truncatula* a été soumis à la National Science Foundation aux États-Unis et un projet de génomique intégrée a été retenu conjointement par l'INRA et le CNRS en France [Journet EP, comm. pers.]. Ces différents projets ont pour objectifs la recherche systématique de mutants symbiotiques, le séquençage massif d'ADNC/EST symbiotique et l'identification du protéome symbiotique, la création d'une banque de mutants d'insertion, la cartographie fine du génome,

ainsi que l'exploitation d'une banque génomique *Bacterial Artificial Chromosome* (BAC). Le caractère systématique de ces approches devrait fournir de nombreuses informations nouvelles sur la part du génome impliquée dans les endosymbioses avec des micro-organismes. Au delà de l'identification des gènes végétaux symbiotiques, des retombées importantes peuvent en être attendues sur le développement végétal d'une manière générale et sur l'origine de la plasticité fonctionnelle de la racine ■

Remerciements

Nous remercions vivement R. Barbault d'avoir accepté de relire ce texte.

Références

1. Barbault R. *Biodiversité*. Paris : Hachette, 1997.
2. Duhoux E, Dreyfus B. Nature des sites d'infection par le *Rhizobium* de la tige de la légumineuse *Sesbania rostrata* Brem. *C R Acad Sci* 1982 ; 294 : 407-11.
3. Spencer-Barreto MM, Gagnaire J, Plebin R, et al. Les mamelons caulinaires de *Sesbania rostrata*, développement en racines adventives et rôle dans l'absorption minérale. *Oecol Plant* 1989 ; 10 : 411-22.
4. Spencer-Barreto MM, Duhoux E. Root to shoot conversion on *Sesbania rostrata* Brem. stem explants. *J Exp Bot* 1994 ; 45 : 1851-7.
5. Duhoux E. Ontogenèse des nodules caulinaires du *Sesbania rostrata* (Légumineuses). *Can J Bot* 1984 ; 62 : 982-94.
6. Fernandez-Lopez M, Goomachtig S, Gao MS, et al. Ethylene-mediated phenotypic plasticity in root nodule development on *Sesbania rostrata*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 12724-8.
7. Dommergues Y, Duhoux E, Diem HG. *Les arbres fixateurs d'azote*. Cirad, Espaces 34, FAO, IRD, 1999 : 499.
8. Purnell HM. Studies of the family Proteaceae. I. Anatomy and morphology of the roots of some Victorian species. *Aust J Bot* 1960 ; 8 : 38-50.
9. Lamont B. Specialized roots on non-symbiotic origin in heathlands. In : Specht RL, ed. *Heathlands and related shrublands of the world*. B. Analytical studies. Amsterdam : Elsevier, 1981 : 183-95.
10. Diem HG. Les mycorhizes des plantes actinorhiziennes. *Acta Bot Gallica* 1996 ; 143 : 581-93.
11. Johnson JF, Vance CP, Allan DL. Phosphorus deficiency in *Lupinus albus*. Altered lateral root development and enhanced expression of phosphoenolpyruvate carboxylase. *Plant Physiol* 1996 ; 112 : 31-41.
12. Pawlowski K, Bisseling T. Rhizobial and actinorhizal symbioses : what are the shared features ? *Plant Cell* 1996 ; 6 : 1899-913.
13. Franche C, Laplaze L, Duhoux E, et al. Actinorhizal symbioses : recent advances in plant molecular and genetic transformation studies. *Crit Rev Plant Sci* 1998 ; 17 : 1-28.

14. Bogusz D, Franche C, Gherbi H, et al. La symbiose *Casuarina-Frankia* : approche moléculaire du rôle de la plante-hôte. *Acta Bot Gallica* 1996 ; 143 : 621-35.

15. Pawlowski K. Nodule specific gene expression. *Physiol Plant* 1997 ; 99 : 617-31.

16. Laplaze L, Ribeiro A, Franche C, et al. Characterization of a *Casuarina glauca* nodule-specific subtilisin-like protease gene, a homolog of *Alnus glutinosa ag12*. *Mol Plant Microbe Interact* 2000 ; 13 : 113-7.

17. Guan C, Ribeiro A, Akkermans ADL, et al. Nitrogen metabolism in actinorhizal nodules of *Alnus glutinosa* : expression of glutamine synthase and acetylornithine transaminase. *Plant Mol Biol* 1996 ; 32 : 1177-84.

18. Gherbi H, Duhoux E, Franche C, et al. Cloning and expression of a full-length hemoglobin cDNA and *in situ* localization of the corresponding mRNA in *Casuarina glauca* root nodules. *Physiol Plant* 1997 ; 99 : 608-16.

19. Laplaze L, Gherbi H, Frutz T, et al. Flavan-containing cells delimit *Frankia*-infected compartments in *Casuarina glauca* nodules. *Plant Physiol* 1999 ; 121 : 113-22.

20. Duc G, Trouvelot A, Gianinazzi-Pearson V, et al. First report of non-mycorrhizal mutants (Myc⁻) obtained in pea (*Pisum sativum* L.) and faba bean (*Vicia faba* L.). *Plant Sci* 1989 ; 60 : 215-22.

21. Oianinazzi-Pearson V, Dumas-Gaudot E, Gollette A, et al. Cellular and molecular defense-related root responses to invasion by arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phyt* 1996 ; 133 : 45-57.

22. Van Rhijn P, Fang Y, Galili S, et al. Expression of early nodulin genes in alfalfa mycorrhizae indicates that signal transduction pathways used in forming arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium*-induced nodules may be conserved. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 5467-72.

23. Albrecht C, Geurts, R, Lapeyrie F, et al. Endomycorrhizae and rhizobial Nod factors both require *SYM8* to induce the expression of the early nodulin genes *PsENOD5* and *PsENOD12A*. *Plant J* 1998 ; 15 : 605-14.

24. Frühling M, Roussel H, Gianinazzi-Pearson, et al. The *Vicia faba* leghemoglobin gene *vLb29* is induced in root nodules and in roots colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum*. *Mol Plant Microbe Interact* 1997 ; 10 : 124-31.

25. Remy W, Taylor TN, Hass H, et al. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994 ; 91 : 11841-3.

Résumé

La source ultime de la diversité biologique réside dans la variabilité inscrite dans le patrimoine génétique des organismes. La diversité génétique naturelle, caractéristique de tout être vivant, permet à une espèce de s'adapter et de répondre à des changements de son environnement. Ainsi, l'adaptabilité de chaque individu déterminée par son génotype est exprimée par une certaine plasticité phénotypique morpho-physiologique. Nous proposons d'envisager la diversité génétique au niveau d'un organe, la racine, au travers de quelques exemples pris chez les Angiospermes. Les exemples qui suivent permettent d'illustrer comment une variation génétique au niveau moléculaire conduit aux modifications physiologiques de la racine lorsqu'elle est soumise aux contraintes biotiques et abiotiques de son milieu. Dans la légumineuse tropicale *Sesbania rostrata*, les ébauches racinaires de la tige, en position adventive, sont capables d'évoluer selon leur environnement en nodules fixateurs d'azote en présence de l'*Azorhizobium* spécifique, en racine adventive typique ou bien en bourgeon adventif, lorsqu'un segment de tige est placé en culture *in vitro*. Chez plusieurs espèces de la famille des *Casuarinacées*, le système racinaire peut former des structures très diverses selon leur environnement. Au contact de l'actinomycète spécifique *Frankia*, des nodules fixateurs d'azote (actinorhizes) sont initiés, en présence d'une carence en phosphore et en fer, des racines en touffes « *cluster roots* » se développent et, enfin, en présence de champignons endo ou ectomycorhiziens, des structures nouvelles apparaissent qui sont les mycorhizes.

Les résultats obtenus ces dernières années chez les légumineuses suggèrent que certains gènes communs de la plante hôte seraient impliqués à la fois dans l'interaction mycorhizienne et l'association plante-*Rhizobium*, suggérant par là le partage d'une voie de transduction commune dans les deux types d'interaction.

Enfin, le regroupement des plantes pouvant développer des nodules fixateurs d'azote au sein d'un même clade permet de penser que cet ensemble constitue une véritable ressource génétique au sens classique du terme, appliquée ici à la plasticité phénotypique d'un organe, la racine.

26. Soltis DE, Soltis PS, Morgan DR, et al. Chloroplast gene sequence data suggest a single origin of the predisposition for symbiotic nitrogen fixation in angiosperm. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995 ; 92 : 2647-51.

27. Roy A, Bousquet J. The evolution of the actinorhizal symbiosis through phylogenetic analysis of host-plants. *Acta Bot Gallica* 1996 ; 143 : 635-51.

28. Swensen S. The evolution of actinorhizal symbioses : evidence for multiple origins of the symbiotic association. *Am J Bot* 1996 ; 83 : 1503-12.

29. Appleby CA, Bogusz D, Dennis ES, et al. A role for haemoglobin in all plant roots? *Plant Cell Environ* 1988 ; 11 : 359-67.

30. Jacobsen-Lyon K, Jensen EO, Jorgensen J, et al. Symbiotic and non-symbiotic hemoglobin genes of *Casuarina glauca*. *Plant Cell* 1995 ; 7 : 213-22.

31. Franche C, Diouf D, Laplaze L, et al. The soybean (*lbc3*), *Parasponia* and *Trema* hemoglobin gene promoters retain their symbiotic and nonsymbiotic specificity in transgenic *Casuarinaceae*. Implications for the evolution of hemoglobin genes and root nodule symbioses. *Mol Plant Microbe Interact* 1998 ; 11 : 887-94.