



**HAL**  
open science

## La symbiose *Methylobacterium nodulans* / *Crotalaria podocarpa*: Les substances naturelles au service du dialogue moléculaire d'un modèle original.

Adeline Renier, Philippe Jourand, Verena Poinso, Sylvie Rapior

### ► To cite this version:

Adeline Renier, Philippe Jourand, Verena Poinso, Sylvie Rapior. La symbiose *Methylobacterium nodulans* / *Crotalaria podocarpa*: Les substances naturelles au service du dialogue moléculaire d'un modèle original.. *Ecologie* 2010. 1er Colloque d'Ecologie scientifique - Session 49: les Substances Naturelles, point de convergence entre Ecologie Chimique et Chimie Ecologique, Sep 2010, Montpellier, France. Abstract P49/11, p 399., pp.399. hal-04875995

**HAL Id: hal-04875995**

**<https://hal.science/hal-04875995v1>**

Submitted on 9 Jan 2025

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/254864834>

# La symbiose *Methylobacterium nodulans* / *Crotalaria podocarpa* : Les substances naturelles au service du dialogue moléculaire d'un modèle original

Conference Paper · September 2010

CITATIONS

0

READS

184

4 authors, including:



[Philippe Jourand](#)

Institute of Research for Development

89 PUBLICATIONS 1,888 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



[Sylvie Rapior](#)

Université de Montpellier

554 PUBLICATIONS 5,947 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



# La symbiose *Methylobacterium nodulans* / *Crotalaria podocarpa* :

## Les substances naturelles au service du dialogue moléculaire d'un modèle original

A. Renier<sup>1\*</sup>, P. Jourand<sup>1</sup>, V. Poinso<sup>3</sup>, S. Rapior<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM), UMR 113, Campus International de Baillarguet, 34398 Montpellier  
<sup>2</sup>Laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie, UMR 5175 CEFE, Faculté de Pharmacie, 15 av. C. Flahault, 34093 Montpellier  
<sup>3</sup>Laboratoire des Interactions Moléculaires et Réactivité Chimique et Photochimique, UMR 5623, 31 Route de Narbonne, 31062 Toulouse  
 \*renier.adeline@gmail.com

Les plantes appartenant au genre *Crotalaria* sont des légumineuses tropicales formant des symbioses fixatrices d'azote avec des rhizobia du sol du genre *Bradyrhizobium*. Néanmoins des souches de *Methylobacterium* ont été isolées de 3 espèces de *Crotalaria* : *C. glaucooides* (Fig. 1A), *C. perrottetii* (Fig. 1B) et *C. podocarpa* (Fig. 1C), et décrites comme une nouvelle espèce : ***Methylobacterium nodulans*** (Jourand *et al.*, 2004).

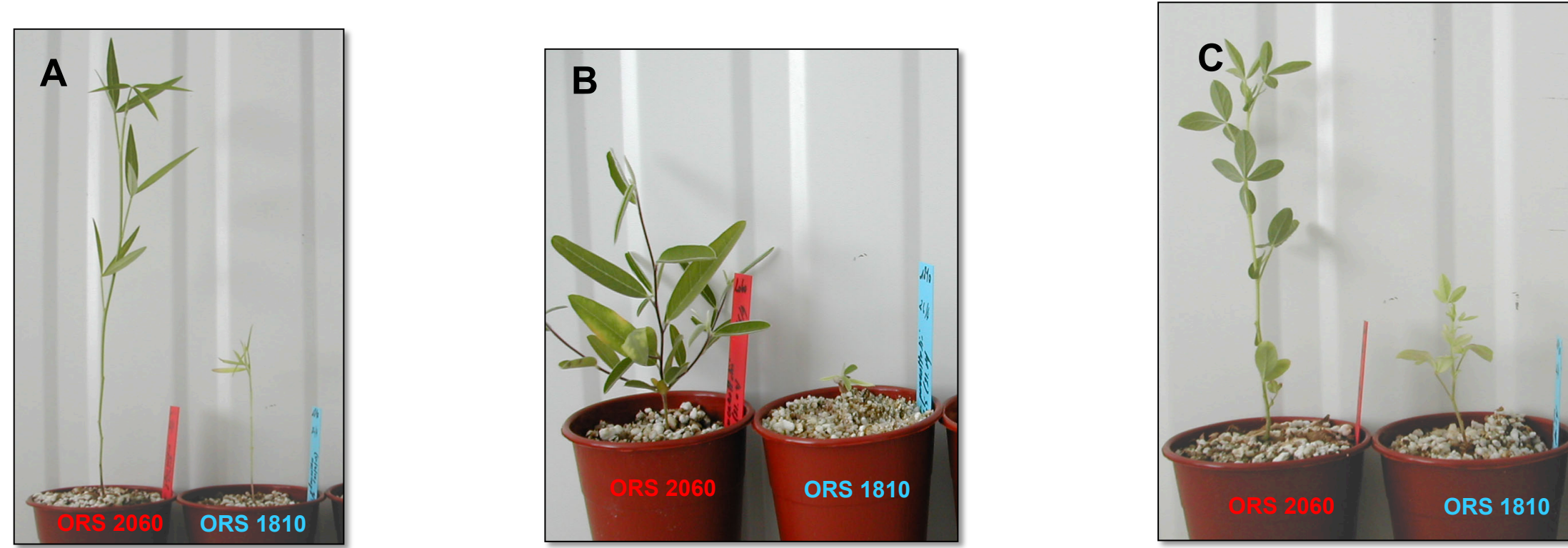


Fig 1. Plants of *Crotalaria* inoculés avec *Methylobacterium nodulans* ORS 2060 ou *Bradyrhizobium* sp. ORS 1810. A: *Crotalaria glaucooides*; B: *C. perrottetii*; C: *C. podocarpa*.

La principale caractéristique de ce partenaire symbiotique bactérien original est sa capacité à oxyder le méthanol, une propriété méthylophique basée sur la présence d'une méthanol déshydrogénase. Durant la symbiose entre *M. nodulans* et *C. podocarpa*, il a été montré que la propriété méthylophique du partenaire bactérien joue un rôle majeur dans le processus de symbiose (Fig. 2, Jourand *et al.*, 2005).

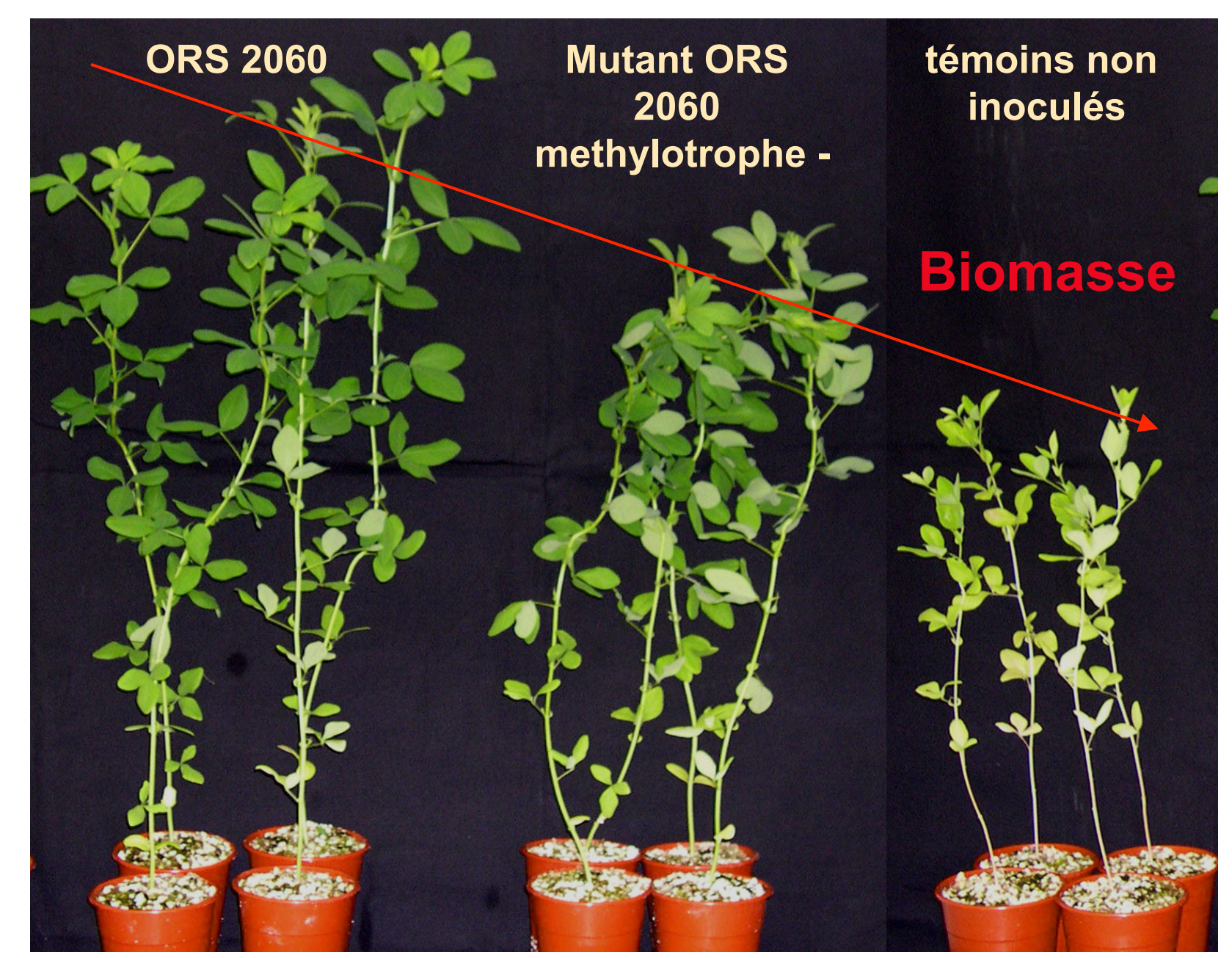
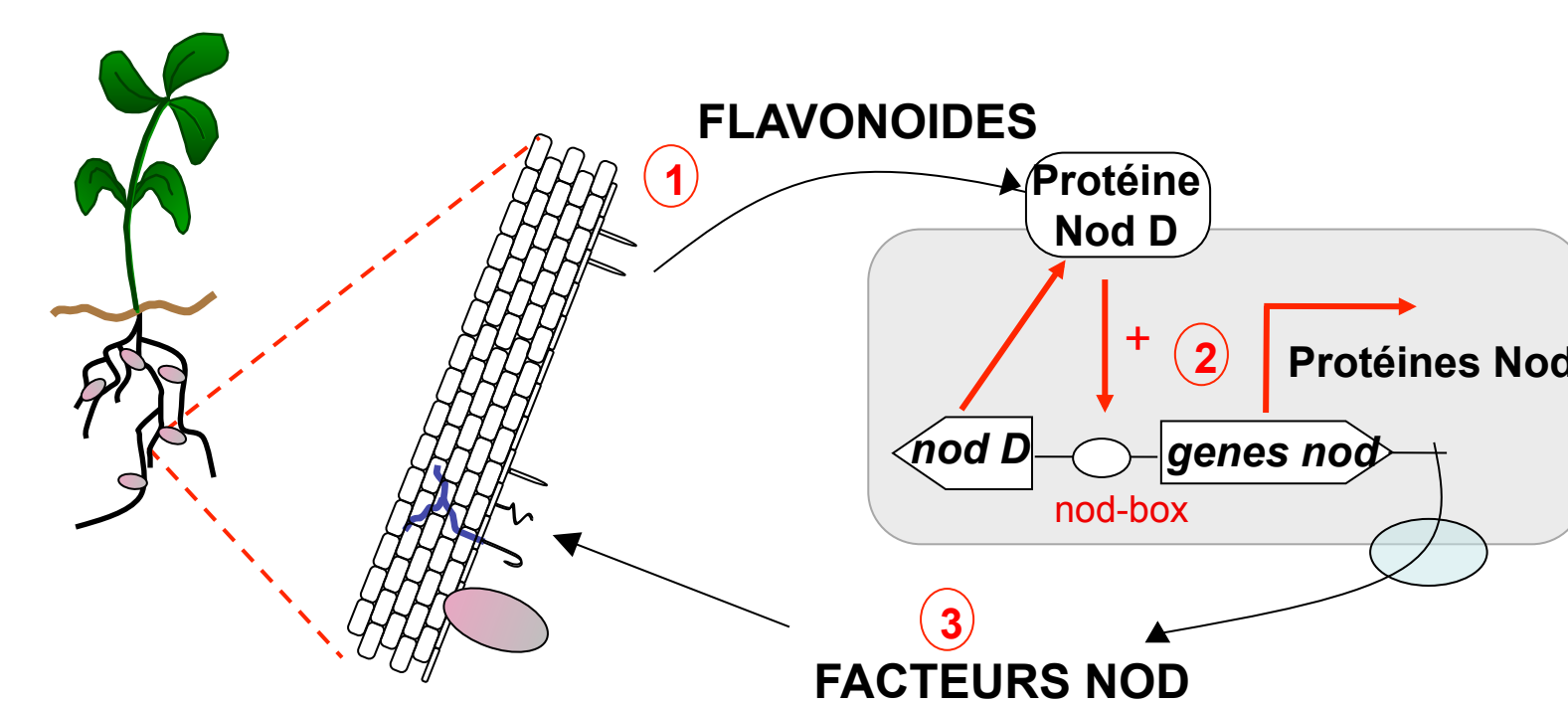


Fig 2. Comparaison de croissance à 5 semaines de plants de *Crotalaria podocarpa* inoculés avec la souche de *Methylobacterium nodulans* sauvage ORS 2060 et une souche mutante méthylophique négative.

Classiquement la symbiose entre les rhizobia du sol et les légumineuses a été décrite comme un processus multi-étapes régit par des substances naturelles produites par les deux partenaires : ① exsudation de composés phénoliques, principalement flavonoïdes, capables d'induire ② la transcription des gènes nod bactériens menant à la biosynthèse du signal bactérien, les facteurs de nodulation ③, polymère de N-glucosamine substitués.

N.B. : une symbiose dite « Nod factor independent » sans l'intervention de facteurs Nod a été décrite (Giraud *et al.*, 2007).



### Quelles sont les substances naturelles impliquées dans la mise en place de la symbiose entre *Methylobacterium nodulans* et *Crotalaria podocarpa* ?

#### ... des flavonoïdes inducteurs capables d'induire l'expression des gènes de nodulation

Pour suivre l'expression des gènes de nodulation, six flavonoïdes ont été testés sur leur capacité à induire le promoteur du gène *nodA* d'une souche recombinée *M. nodulans* ORS2060 *nodA-LacZ* (Fig. 3, Renier *et al.*, 2008).

Profil d'hydroxylation des flavonoïdes testés :					
	3	5	7	3'	4'
APIGENINE	—	OH	OH	—	OH
LUTEOLINE	—	OH	OH	OH	OH
KAEMPFEROL	OH	OH	OH	—	OH
QUERCÉTINE	OH	OH	OH	OH	OH
GENISTÉINE	—	OH	OH	—	OH
DAIDZÉINE	OH	OH	OH	—	OH

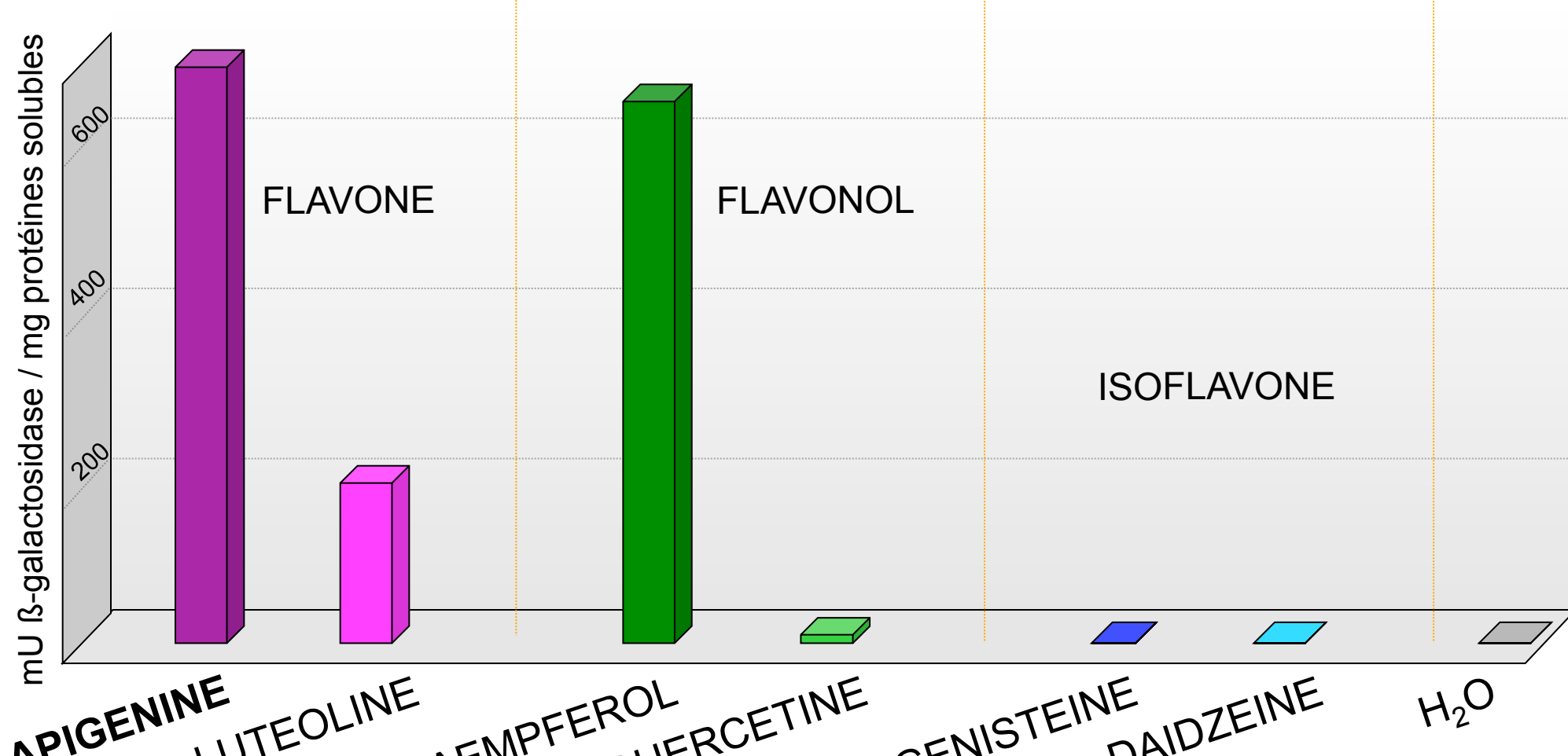


Fig 3. Niveau d'induction du gène *nodA* de la souche *M. nodulans* recombinée par différents flavonoïdes.

**Apigénine** et **kaempférol** sont les meilleurs inducteurs du gène *nodA* de la souche ORS 2060.

L'addition d'une hydroxylation en C-3 n'affecte pas l'induction.

La **lutéoline** possède une capacité inductrice 3 fois moindre que l'**apigénine**. La **quercétine** quant à elle n'a pas de capacité inductrice en comparaison avec le **kaempférol**.

L'ajout d'un groupement hydroxyl en C-3' réduit voire annule la capacité à induire le promoteur du gène *nodA*.

La **génistéine** et le **daidzéine** en comparaison avec l'apigénine et le kaempférol ne sont pas capables d'induire les gènes *nod* de *Methylobacterium nodulans*.

L'attachement du cycle C en C-3 annule la capacité inductrice des flavonoïdes.

#### IDENTIFICATION ... des gènes de nodulation

Une région d'ADN de 7,13-kb montrant une hybridation positive avec le gène *nodA* de *M. nodulans* ORS 2060 a été complètement séquencée (Fig. 4). L'analyse de la séquence nucléotidique révèle l'existence de six gènes de nodulation entiers et deux séquences partielles (Renier *et al.*, 2008).

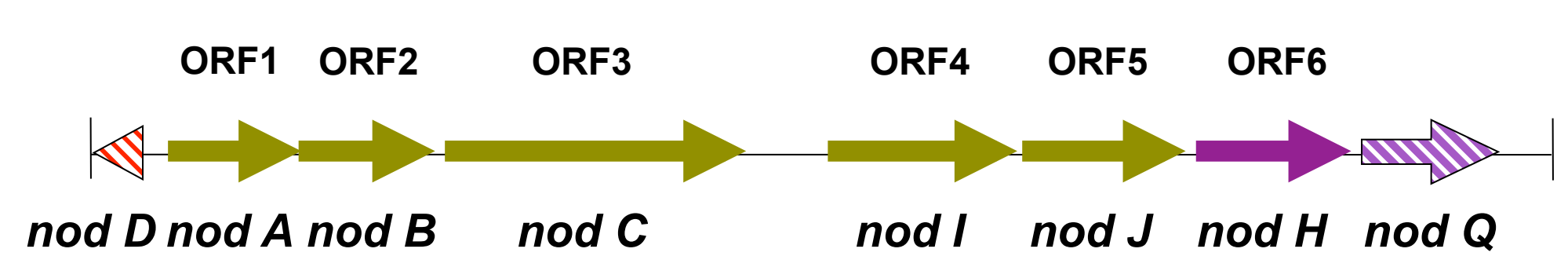


Fig 4. Organisation des gènes de nodulation au sein du fragment d'ADN 7,13-kb Xmal de *Methylobacterium nodulans* ORS 2060. Les gènes *nod* spécifiques en violet et les gènes de régulation en rouge. Les séquences partielles sont indiquées par des hachures.

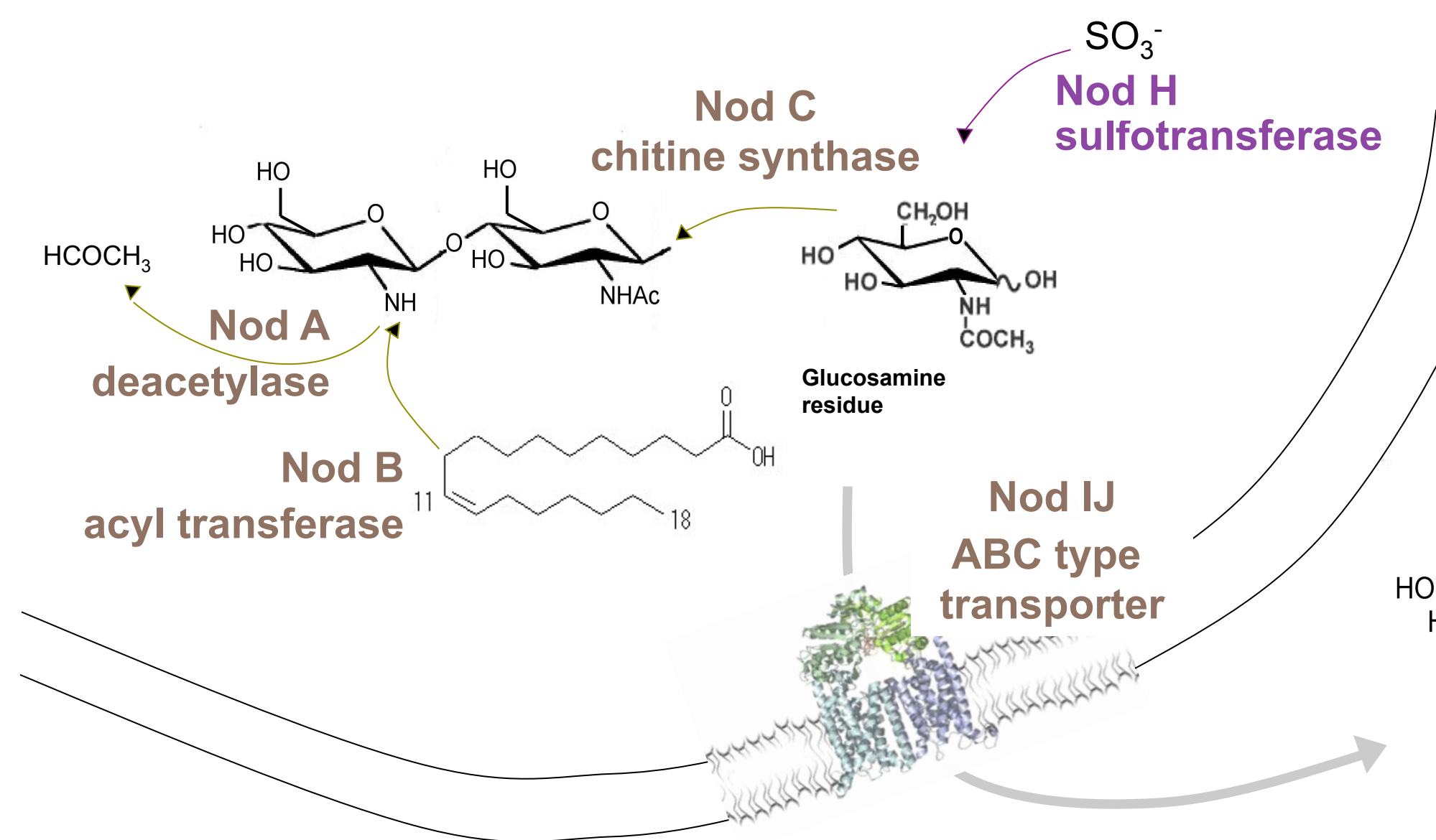
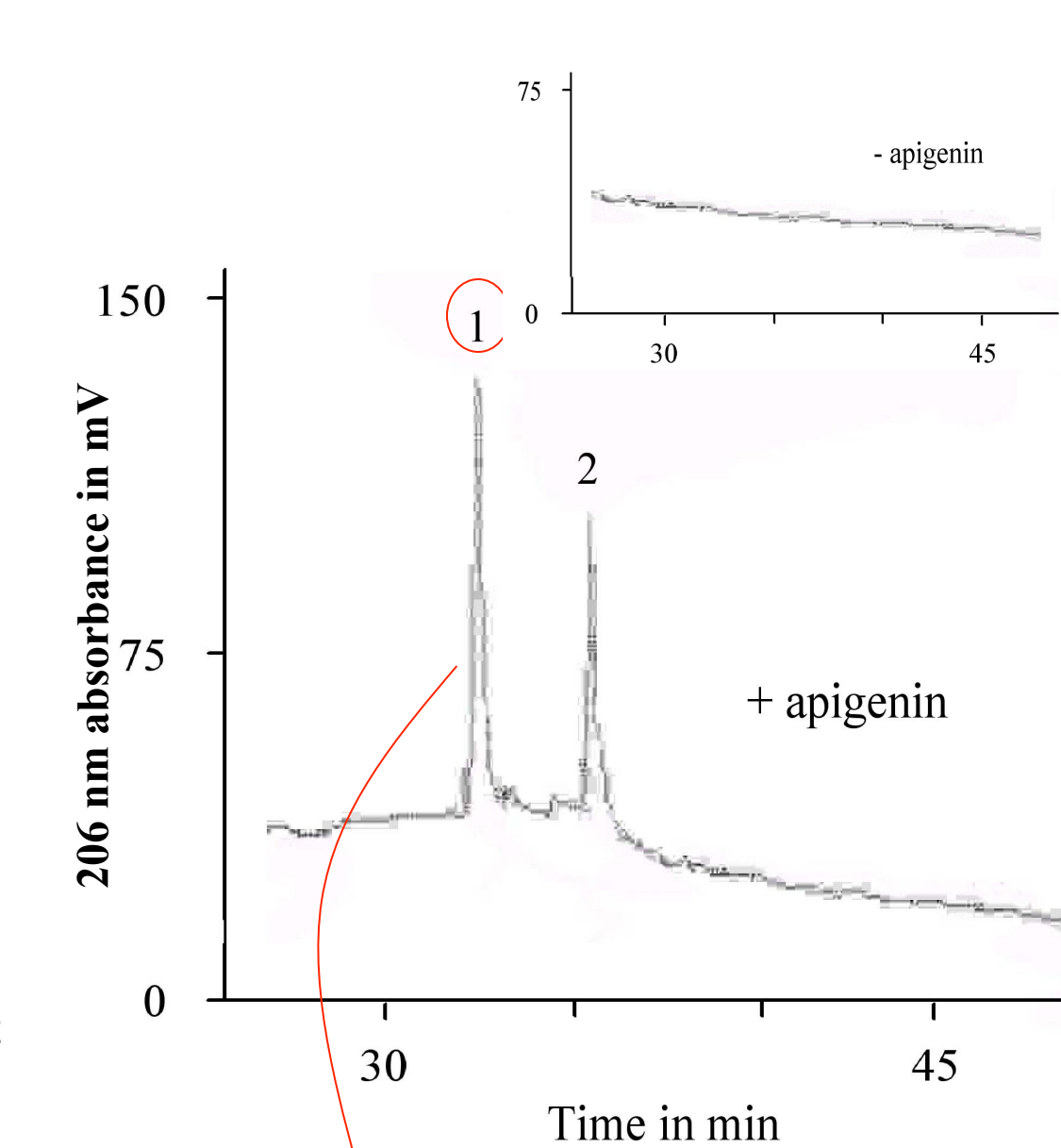


Fig 5. Fonctions des protéines Nod codées par les gènes présents sur le fragment Xmal.

#### ... de la structure du facteur Nod produit par *M. nodulans* ORS 2060

Dans le but de produire des facteurs Nod, la croissance de *M. nodulans* ORS 2060 a été réalisée en présence d'apigénine.



Après induction, les facteurs Nod sont extraits du surnageant de culture et purifiés. Les analyses HPLC révèlent la présence de 2 fractions (Fig. 6, Renier *et al.*, 2008), ensuite analysées en LC/MS.

Fig 6. Profil HPLC des extraits produits à partir des surnageants de culture de *M. nodulans* ORS 2060 induite ou non par de l'apigénine.

Le composé présent dans la fraction 1 est un polymère en DP5 de N-glucosamine substitué par un sulfate à l'extrémité réductrice, et par une chaîne d'acyl en C<sub>18:1</sub> (acide vaccénique) ou C<sub>16:0</sub> (acide palmitique) en proportion 10/1 à

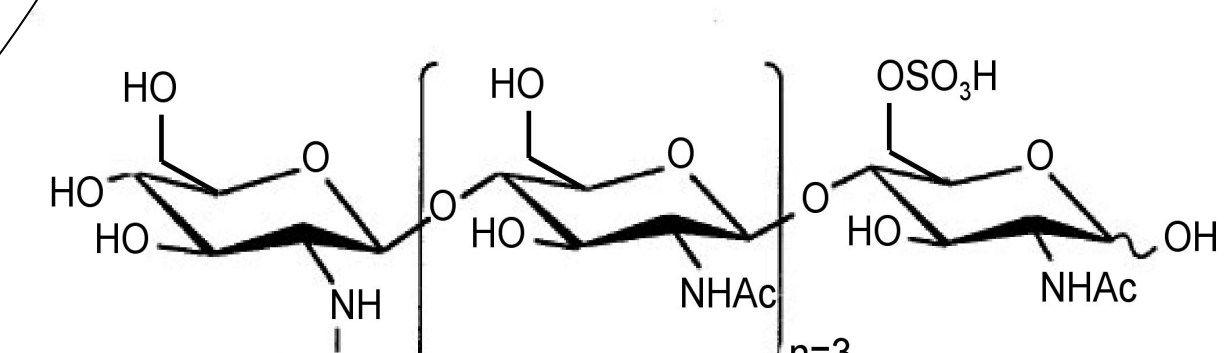


Fig 7. Structure du lipo-chito-oligosaccharide produit par *M. nodulans* ORS 2060.

l'extrémité non réductrice (Fig. 7, Renier *et al.*, 2008). Aucun facteur Nod n'a été identifié dans la fraction 2.

Les substances naturelles jouent des rôles clés dans de nombreux processus biologiques.

Au cours de la symbiose fixatrice d'azote entre la bactérie du sol *Methylobacterium nodulans* et la légumineuse *Crotalaria podocarpa*, elles jouent le rôle de molécules signales réciproques produites par les deux partenaires symbiotiques.

Ainsi, *C. podocarpa* exsude des flavonoïdes. *In vitro* l'apigénine et le kaempférol (habituellement connu comme répresseur) apparaissent être les meilleurs inducteurs des gènes de nodulation de *M. nodulans*. Par ailleurs, la bactérie est capable de distinguer les différentes formes de flavonoïdes : une hydroxylation en C-3' réduit de façon drastique le niveau d'induction, et l'attachement du cycle C en C-3' l'annule totalement.

En réponse à la perception de ces flavonoïdes, *M. nodulans* produit une molécule spécifique de nature lipo-chito-oligosaccharidique, identifiée comme étant Nod Mn-V(C<sub>18:1</sub>,S), permettant le déclenchement des différentes étapes successives nécessaires à la mise en place d'une symbiose efficace.