



Les métabolismes photosynthétiques : Intérêts pour l'agronomie

Jean-François Morot-Gaudry

Directeur de Recherches Honoraire, INRA, France

Membre de l'Académie d'agriculture de France

Manuscrit révisé le 28 novembre 2014 - Publié le 15 décembre 2014

Résumé : L'activité photosynthétique a été mise en évidence chez les plantes dès la fin du XVIIIème siècle mais la compréhension du mécanisme biochimique de l'assimilation photosynthétique du carbone issu du CO₂ atmosphérique n'a été comprise qu'au milieu du XXème siècle par M. Calvin et ses collaborateurs. Ces chercheurs ont mis en évidence que le carbone du CO₂ atmosphérique est fixé par la ribulose bisphosphate carboxylase / oxygénase (Rubisco) pour donner un composé à trois carbones (PGA), métabolisé ensuite via le cycle de Calvin pour produire des glucides, lipides, acides aminés, etc. Dès la fin des années 1960, l'universalité de ce mécanisme a été remise en cause mettant en lumière chez les plantes une diversité physiologique et métabolique dans les voies d'assimilation du carbone : plantes à métabolisme C₃ et C₄. Les plantes C₃ sont les plantes qui assimilent le carbone photosynthétique via le cycle de Calvin uniquement, alors que les plantes qui manifestent le métabolisme C₄ présentent un métabolisme plus complexe impliquant deux cycles métaboliques fonctionnant en série, le cycle C₄ situé dans le mésophylle foliaire, le tissu le plus externe de la feuille, et le cycle de Calvin (C₃) dans la gaine périvasculaire, le tissu foliaire le plus interne entourant les vaisseaux conducteurs de la sève. Chez les plantes C₄, des acides organiques à quatre atomes de carbone sont d'abord formés dans les cellules du mésophylle après la fixation primaire du carbone atmosphérique (sous forme de bicarbonate) et ces métabolites C₄ (malate notamment) sont transportés dans les cellules de la gaine périvasculaire où, après décarboxylation, le CO₂ libéré est refixé par la Rubisco en composé C₃ (PGA) qui est métabolisé ensuite en différents métabolites via le cycle de Calvin. Le mécanisme biochimique C₄ permet de concentrer le CO₂ au niveau des sites catalytiques de la Rubisco, ce qui en améliore les performances. Une caractéristique importante de la Rubisco est en effet sa capacité à fixer soit le CO₂ soit l'oxygène O₂, réactions compétitives de carboxylation et d'oxygénation. Cette dernière capacité initie une série d'événements physiologiques dans lesquelles la fixation d'oxygène dépendant de la lumière est associée à un métabolisme particulier d'un composé à deux carbones (glycolate) avec émission de CO₂, connu sous le nom de photorespiration. Le mécanisme C₄ permet donc de concentrer le CO₂, aux sites catalytiques de la Rubisco, augmentant ainsi l'activité carboxylase de cette dernière, aux dépens de l'activité oxygénase, et de réduire en conséquence la perte de carbone par photorespiration.

Ces différents mécanismes d'assimilation du carbone à la lumière ont une incidence sur la physiologie et la productivité des plantes. Les plantes de type C₄ (plantes essentiellement tropicales) manifestent, sous fort éclaircissement et température élevée, une activité photosynthétique plus élevée que celle des plantes C₃ (généralement de régions tempérées) et en conséquence un meilleur rendement dans la production de biomasse et une efficacité accrue de l'utilisation de l'eau et de l'azote. Par conséquent, les biologistes ont proposé de transformer les plantes C₃ de grandes cultures en plante C₄, en particulier le riz, plante de type C₃. Jusqu'à présent, les tentatives de surexpression et de transfert de gènes ont montré des succès limités. Cependant, de nouvelles contributions de la génétique et de la génomique permettent d'envisager de nouvelles approches et à long terme des possibilités de

transformation des plantes C3 en C4, riz notamment, en variétés plus productives. L'aspect le plus important est d'identifier et transférer et/ou de surexprimer les gènes nécessaires à l'installation de la photosynthèse C4 dans le riz, dans lequel l'activité photosynthétique des feuilles est souvent insuffisante pour alimenter tous les grains.

Dans cet article, nous présentons les métabolismes C3 et C4, les avantages des plantes qui les expriment, et, nous porterons une attention particulière au problème de la photorespiration, phénomène responsable d'une perte importante de carbone photosynthétique par les plantes C3. Nous évoquerons les tentatives récentes des biologistes qui envisagent de transformer les plantes C3 de grande culture en plante C4, riz notamment.

Summary: The photosynthetic activity has been demonstrated in plants from the late eighteenth century. Understanding the biochemical mechanism of photosynthetic carbon assimilation from atmospheric CO₂ was made just after the Second World War by M. Calvin et al. In the majority of plants CO₂ is fixed by ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) in the Calvin cycle to generate a three-carbon compound (hence the name C3 plants). Rubisco, the primary CO₂-fixing enzyme in C3 plants, is a poor catalyst of CO₂ at current atmospheric conditions. It has a tendency of using CO₂ as well as O₂ as substrate. Rubisco's oxygenase activity requires the recycling of phosphoglycolate in the photorespiratory pathway, resulting in energy cost and loss of previously fixed CO₂ (a loss of up to 25 % of the fixed CO₂ in ambient air).

By the late 1960 the universality of the Calvin cycle has been questioned highlighting a diversity of biochemical pathways of carbon assimilation by plants such as maize, sugar cane, sorghum, etc. These plants compartmentalize photosynthetic reactions between two leaf tissues, mesophyll and bundle-sheath. Mesophyll cells surrounding bundle-sheath cells in concentric circles around veins possess a CO₂ concentrating mechanism, by which atmospheric CO₂ is bound to C4-carbon compounds and shuttled from the mesophyll cells where the prefixation of bicarbonate occurs via phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPcase) into the bundle-sheath cells, where the bound carbon is released again as CO₂ and enters the Calvin cycle. Thus, in C4 plants the efficiency with which CO₂ is supplied to Rubisco is increased through the addition of this C4 shuttle, reducing photorespiration, which starts with the competitive inhibition of CO₂ fixation by O₂ at the active site of Rubisco. In consequence, C4 plants display a better capability to assimilate carbon under high irradiance and temperature and better crop productivity in comparison to C3 plants such as rice, wheat, potatoes, etc. Moreover, C4 crops compared to C3 crops increase water and nitrogen use efficiency, especially in hot and dry climates.

Therefore, biologists have proposed to transform by genetic engineering C3 crop plants into C4 plants. Hitherto, attempts of overexpression and gene transfer have shown limited success. However, new contributions of genetics and genomics make possible to consider new approaches and long term possibility of transforming the rice into a more productive C4 plant. Most important aspect is identifying and transforming the genes necessary to install C4 photosynthesis in rice, in which the photosynthetic activity of leaves are until now inadequate to fill the larger number of florets.

In this article we present the metabolism C3 and C4, benefits, and particularly we consider the problem of photorespiration phenomenon responsible for a significant loss of photosynthetic carbon, especially in C3 plants. In this review there will be a focus on biochemical and physiological consequences of the overexpression of the C4-cycle genes in C3

plants, bearing in mind that C4-cycle enzymes are present in C3 plants. Most important aspect is identifying and transforming the genes necessary to install C4 photosynthesis into rice. Many projects are underway within the C4 Rice Consortium, including physiological phenotyping screening of rice mutants for characteristics of C4 leaf anatomy and to introduce the genes of C4 photosynthesis in rice. Subsequently, C4 photosynthesis can be transferred to elite rice varieties with better agronomic attributes, by conventional breeding.

1 - Qu'est-ce que la photosynthèse ?

La photosynthèse, synthèse à la lumière, est un processus caractéristique du monde végétal (mousses, fougères, algues et plantes supérieures) mais rencontré aussi chez certaines bactéries et certains protistes, permettant à ces organismes de collecter l'énergie électromagnétique de la lumière puis de la convertir en énergie chimique utilisable pour réaliser la biosynthèse de leur propres constituants moléculaires. Le terme photosynthèse aurait été utilisé la première fois par W. Pfeffer et Charles Barnes à la fin du 19^{ème} siècle.

Les produits végétaux assurent ensuite l'alimentation des animaux herbivores, nourriture des carnivores et finalement de celle des humains. Il va de soi que l'aspect agronomique du processus et son importance dans l'économie humaine sont de tout premier ordre. Augmenter les rendements des cultures en agissant sur le processus photosynthétique a été une préoccupation constante des scientifiques (Lin *et al.*, 2014) et des agronomes (Caemmerer *et al.*, 2012).

Par la photosynthèse les organismes vivants captent l'énergie solaire et la transforment en énergie chimique, sous forme de molécules réductrices et «énergétiques» qu'ils utilisent ensuite pour fixer le carbone du dioxyde de carbone CO₂ de l'atmosphère. Ils élaborent des chaînes carbonées élémentaires puis des molécules organiques plus complexes indispensables au déroulement du métabolisme des êtres vivants. Les végétaux sont des organismes autotrophes, phototrophes, c'est-à-dire capables de fabriquer et synthétiser leur matière organique à partir d'eau, de dioxyde de carbone, d'éléments minéraux et de l'énergie du soleil.

La photosynthèse est un phénomène cellulaire qui se déroule au niveau des feuilles dans des organites intra-cellulaires de l'ordre du micromètre, les chloroplastes. Les événements photosynthétiques primaires, la capture de la lumière et sa transformation en énergie chimique, se réalisent au niveau de structures moléculaires de l'ordre de l'angström (Å), c'est-à-dire 10⁻¹⁰ m. En revanche, les surfaces de capture de l'énergie solaire, feuille et canopée, représentent des étendues qui peuvent être très importantes (forêts boréales et amazoniennes par exemple). La photosynthèse implique à la fois des structures qui se situent dans l'infiniment petit (10⁻¹⁰ m) et d'autres dans de grandes dimensions (km²). Il en est de même du pas de temps, de la femtoseconde (10⁻¹⁵ s) pour les mécanismes atomiques, à l'année, le siècle pour certains arbres.

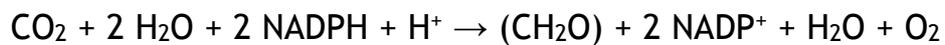
La photosynthèse est aussi un phénomène massif, à l'échelle de la planète, à l'origine de la formation d'une grande partie de la biomasse de la planète, incluant la biomasse qui s'est accumulée et transformée au cours des périodes géologiques sous forme de gaz naturel et de pétrole et de charbon. La photosynthèse est également à l'origine de l'oxygène atmosphérique O₂ nécessaire à la respiration de la majorité des organismes vivants menant une vie aérobie et de la couche d'ozone stratosphérique qui absorbe la majeure partie du rayonnement UV solaire.

En fixant le CO₂ atmosphérique, la photosynthèse contribue également à recycler le dioxyde de carbone et à réduire l'effet de serre. La photosynthèse est donc responsable des modifications de l'environnement qui ont rendu possible la vie aérobie (respiration en présence d'oxygène) sur notre planète.

Les organismes photosynthétiques assimilent environ 110-120 milliards de tonnes de carbone en biomasse chaque année. Le flux d'énergie capté par la photosynthèse à l'échelle planétaire est immense, approximativement 100 térawatts, ce qui est environ de 8 à 10 fois plus élevé que la consommation énergétique moyenne mondiale intégrée sur un an. Si le potentiel énergétique du soleil est toutefois colossal, il est peu exploité. Les végétaux ne récupèrent en fait qu'un millième de cette source d'énergie.

2 - Les deux phases de la photosynthèse

La photosynthèse se caractérise classiquement par deux types de réactions : les réactions primaires et les réactions métaboliques. Les réactions primaires (ou photochimiques) de la photosynthèse conduisent à la production de pouvoir réducteur (Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate ou NADPH + H⁺) et de molécules énergétiques (Adénosine TriPhosphate ou ATP). Les réactions métaboliques (autrefois dénommées improprement réactions sombres) de la photosynthèse utilisent ces composés réducteurs et énergétiques pour la synthèse, après fixation le carbone issu du CO₂, de glucides simples, les premières molécules ou assimilats du métabolisme photosynthétique, à l'origine de toutes les autres composés, lipides, acides aminés notamment.



La photosynthèse se déroule dans des organites cellulaires verts, les chloroplastes, localisés dans le limbe des feuilles, le tissu photosynthétique proprement dit. Les réactions primaires de conversion de la lumière en énergie chimique (pouvoir réducteur et ATP) se déroulent dans les membranes chloroplastiques internes, les thylacoïdes, et les réactions biochimiques de fixation et de métabolisation du carbone dans le milieu interne du chloroplaste, le stroma (Figure 1).

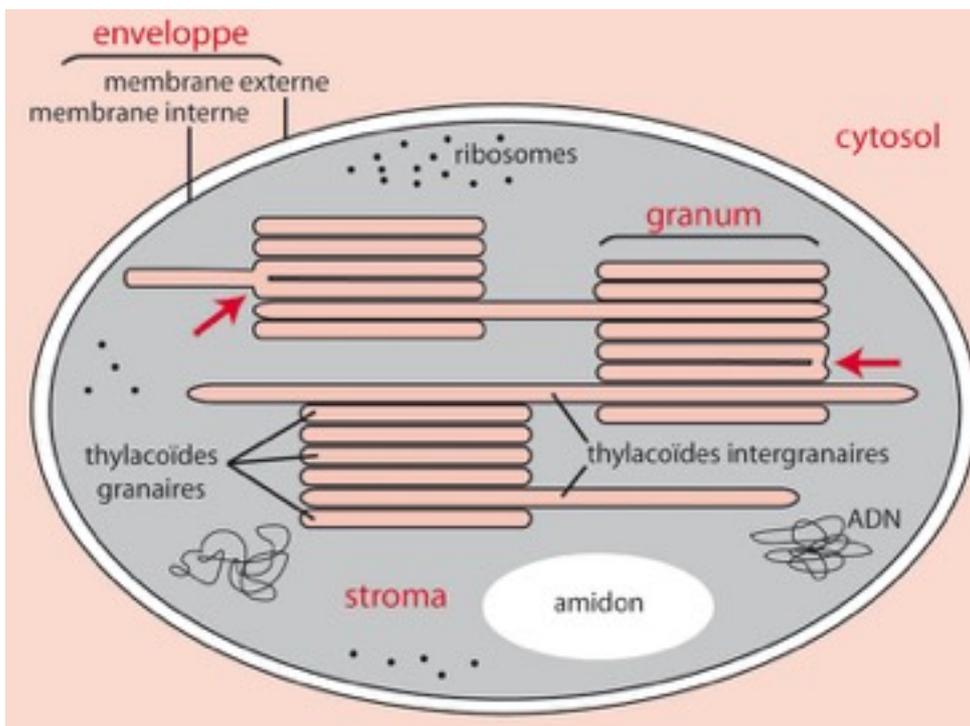


Figure 1. Schéma général d'un chloroplaste entouré de son enveloppe montrant un système membranaire interne très développé, les thylacoïdes intergranaires et les thylacoïdes granaires. Les thylacoïdes peuvent communiquer entre eux (flèches rouges) et délimitent ainsi un espace intérieur (Schéma R Prat, *in* Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

Les organismes photosynthétiques terrestres sont apparus il y a environ 450 millions d'années et durant ce temps leur morphologie, leur anatomie et leur physiologie se sont profondément diversifiés en particulier leurs mécanismes photosynthétiques (Farineau, Morot-Gaudry, 2011).

3 - Réactions primaires de la photosynthèse : capture des photons et leur conversion en énergie chimique

La lumière est absorbée par les pigments photosynthétiques, les chlorophylles de couleur verte et les caroténoïdes de couleur jaune/orangé. Ceci conduit ces molécules dans un état excité d'une durée de vie très brève suivi extrêmement rapidement par un retour à l'état fondamental *via* un processus dit de désactivation.

La désactivation photochimique entre l'état excité et l'état fondamental est un processus de conversion externe de l'énergie d'excitation. Elle traduit l'émission d'électrons, entraînant une variation d'enthalpie libre suffisante pour assurer le transfert d'un électron d'un système d'oxydoréduction à haut potentiel à un système à potentiel plus bas. Les réactions de la photosynthèse sont donc des réactions d'oxydoréduction dans lesquelles des électrons sont échangés entre deux composés (H_2O et CO_2), se présentant chacun sous la forme d'un couple redox. Chaque couple redox présente une forme réduite et une forme oxydée H_2O/O_2 et $C(H_2O)/CO_2$. L'eau, après oxydation, sert de donneur d'électrons et le CO_2 d'accepteur (Figure 2). Le transfert des électrons dans le sens de la réduction du CO_2 nécessite de l'énergie (réaction endergonique).

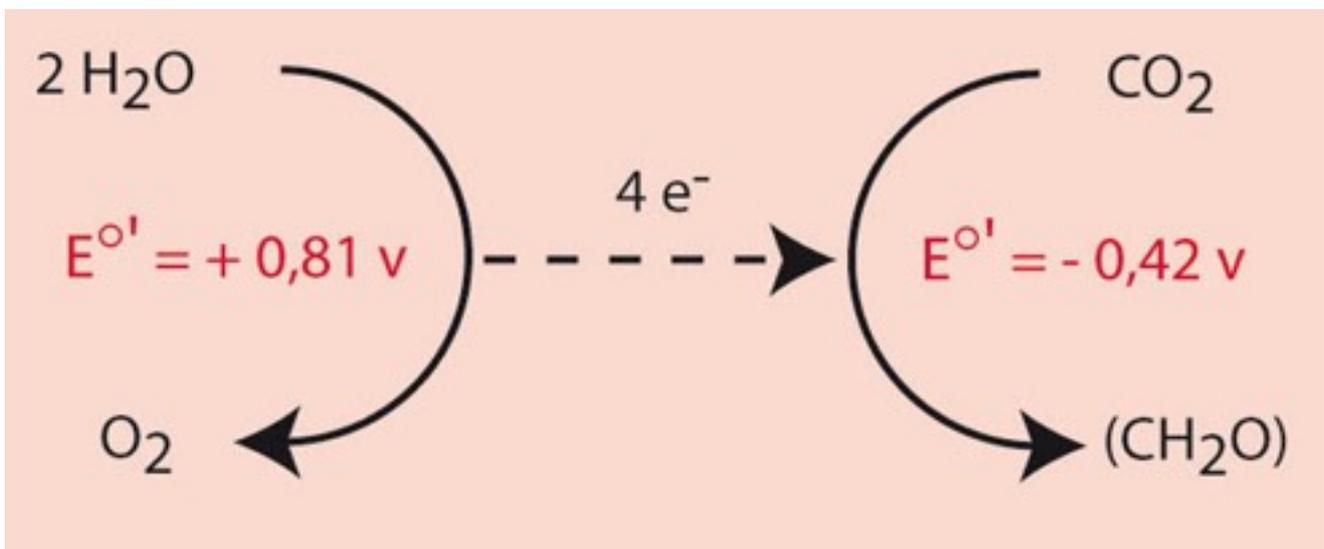


Figure 2. La réaction globale de la photosynthèse correspond à une réaction de transfert d'électrons entre les couples redox formés par l'eau et l'oxygène d'une part, le dioxyde de carbone et le carbone réduit dans les sucres d'autre part (Schéma R Prat, *in* Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

La synthèse des molécules énergétiques $NADPH + H^+$ et ATP , issues de la conversion de la lumière en énergie chimique, nécessite le fonctionnement de structures moléculaires membranaires spécifiques : les photosystèmes qui convertissent l'énergie lumineuse en énergie chimique, la chaîne photosynthétique de transfert d'électrons qui assure le transport d'énergie entre les photosystèmes, et l' ATP -synthase nécessaire au processus de couplage chimiosmotique conduisant à la synthèse de l' ATP .

Les photosystèmes sont des unités structurales constituées de complexes protéines/pigments qui permettent la capture et la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique au niveau des membranes des thylacoïdes. Ils sont formés d'antennes et d'un centre réactionnel.

L'antenne, constituée de pigments (chlorophylles, caroténoïdes) enchâssés dans une matrice protéique, draine l'énergie des photons reçus par les molécules de pigments jusqu'à la paire spécialisée de molécules de chlorophylle *a* associée au centre réactionnel.

Le centre réactionnel est un véritable convertisseur d'énergie lumineuse en énergie électrique, se manifestant par une séparation de charge électrique (photochimie). Le transfert d'électron spontané qui s'en suit est dit photo-induit.

Il existe deux systèmes pigmentaires ou photosystèmes PS. L'un, le PSII (centre réactionnel P680⁺) qui absorbe la lumière entre 430 et 680 nm est associé au dégagement de dioxygène et l'autre, le PSI (centre réactionnel P700⁺) absorbe au-delà de 680 (entre 430 et 720 nm) et assure la réduction du NADP en NADPH (Figures 3 et 4).

Le processus d'oxydation de l'eau s'effectue sur la face interne de la membrane du thylacoïde au niveau du PSII. Il assure l'extraction successive des électrons de l'eau et leur transfert au centre réactionnel (P680⁺). Ce processus permet la libération de l'oxygène et des protons dans le lumen des thylacoïdes (Figures 3 et 4).

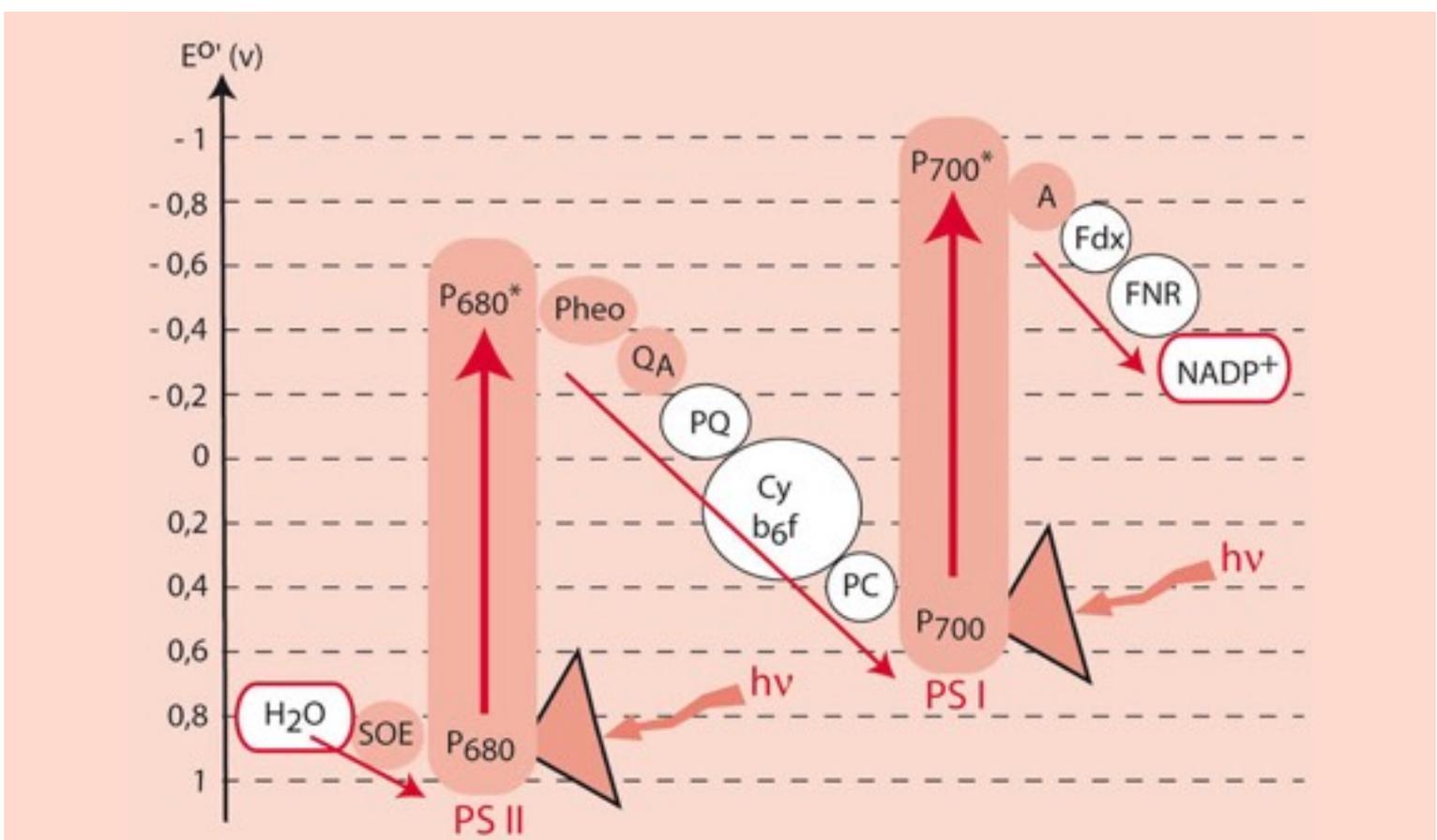


Figure 3. Schéma "en Z", transfert acyclique des électrons. Par le jeu intégré des deux photosystèmes excités par la lumière, le transfert des électrons se réalise de l'eau à l'accepteur final, le NADP⁺ ; A₀, accepteur du PSI ; Cy b₆f, complexe protéique cytochromes ; Fdx, ferrédoxine ; FNR, Ferrédoxine-NADP Réductase ; SOE ou OEC, système d'oxydation de l'eau ; P680, paire spéciale de chlorophylles *a* du PSII ; P700, paire spéciale de chlorophylles *a* du PSI ; PC, plastocyanine ; Pheo, phéophytine ; PSI, Photosystème I ; PSII, photosystème II ; Q_A, Quinone liée au PSII ; PQ, Plastoquinones mobiles (Schéma R Prat, in Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

Le transfert acyclique ou linéaire des électrons se réalise depuis le donneur H₂O jusqu'à l'accepteur final le NADP⁺ et implique l'ensemble des couples redox associés à la chaîne photosynthétique, le fameux schéma en Z (Figures 3 et 4). Son fonctionnement assure la synthèse de pouvoir réducteur, NADPH et d'ATP.

Il existe également un transfert cyclique d'électrons qui a lieu au tour du PSI. Son fonctionnement permet uniquement le transfert de protons et en conséquence une synthèse d'ATP supplémentaire.

À la lumière, la chaîne de transfert des électrons s'accompagne d'un transfert de protons et génère une force proton-motrice Δp qui est utilisée pour diriger en retour un mouvement de protons, du lumen du thylacoïde au stroma, à travers une enzyme membranaire, l'ATP synthase. La phosphorylation de l'ADP en ATP à la lumière est appelée photophosphorylation.

L'ATP synthase, une enzyme de masse moléculaire élevée, est constituée de deux domaines protéiques : un domaine membranaire (CF₀) et un domaine extra-membranaire (CF₁). et fonctionne comme un moteur moléculaire (Figure 4).

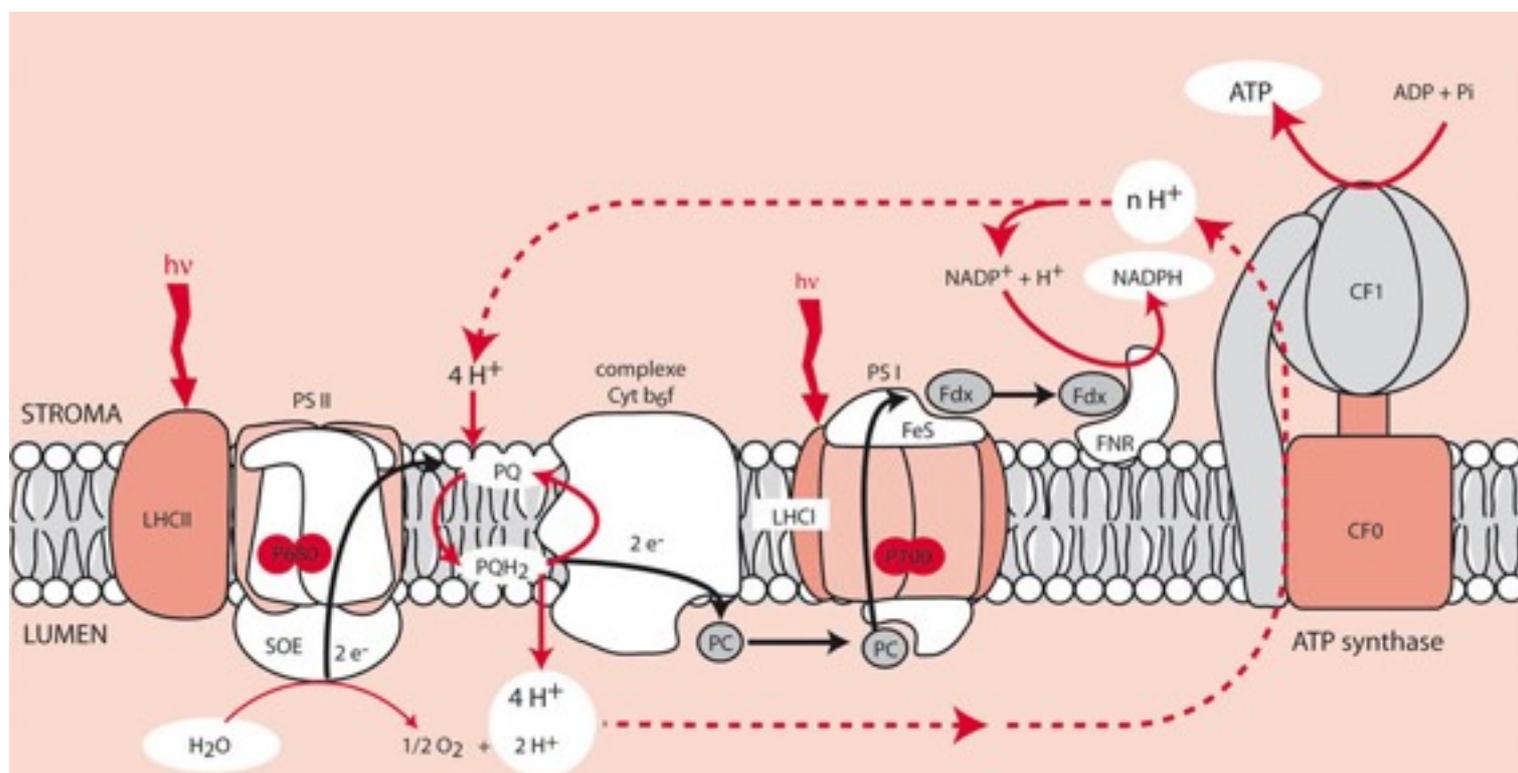


Figure 4. Schéma de transfert d'électrons et de protons dans la membrane chloroplastique. Les photosystèmes et la chaîne de transport des électrons de la membrane des thylacoïdes. : CF₀ domaine membranaire (CF₀) ; CF₁ domaine extramembranaire ; Cyt b₆f, complexe protéique cytochromes ; Fdx, ferrédoxine ; FNR, ferrédoxine-NADP Réductase ; LHCI, Light Harvesting Complexe I (antenne du PSI) ; LHCII, Light Harvesting Complexe II (antenne majeure du PSII) ; SOE ou OEC, système d'oxydation de l'eau ; PC, plastocyanine ; PSI, photosystème I ; PSII, photosystème II ; PQ, plastoquinones ; Q, quinones (Schéma R Prat, *in* Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

4 - Réactions biochimiques de la photosynthèse : mécanismes de fixation et de réduction du carbone issu du CO₂

Vers les années 1945, Melvin Calvin, chimiste américain, souhaite comprendre comment le carbone issu du CO₂ est assimilé. M. Calvin possède alors deux alliés techniques de poids, un traceur radioactif, le ¹⁴C qui vient d'être isolé par S. Ruben et M. Kamen en 1941, et les nouvelles techniques de séparation par chromatographie des principaux composés du métabolisme, mises au point quelques années auparavant en Angleterre par les anglais Martin et Synge. Ces deux outils vont permettre à M. Calvin et à ces collaborateurs, AA. Benson et JA. Bassham, de repérer le chemin emprunté par le carbone au cours des différentes réactions biochimiques d'assimilation du carbone photosynthétique (Encadré I).

La tâche est ardue. Calvin et ses collaborateurs Benson et Bassham notamment, utilisant un matériel approprié, observent que le ¹⁴C se retrouve très rapidement dans un acide organique phosphorylé à 3 carbones (C), l'acide phosphoglycérique, PGA en anglais. Ils pensent alors que le PGA devrait être synthétisé à partir d'un composé à 2 C qui serait carboxylé (introduction d'un groupe carboxylique). Logiquement, ils cherchent désespérément un composé en C2 comme accepteur de carbone, mais sans résultat. Ils observent toutefois un composé organique phosphorylé à 5C qui se marque par le ¹⁴C après un temps plus long que le PGA et s'accumule quand on supprime la source de CO₂ alors que le pool de PGA diminue. En arrêtant l'éclairement, ils observent à l'inverse que le PGA reste marqué par le ¹⁴C pendant quelques secondes alors que le produit à 5C disparaît. En rétablissant l'éclairement, la ¹⁴C réapparaît dans le composé à 5C. Après nombreuses discussions et réflexions, ces chercheurs qui étaient d'excellents biochimistes isolent le composé et déterminent sa nature ; l'accepteur de carbone est un composé à 5 carbones, bisphosphorylé, un sucre cétonique, le ribulose bisphosphate ou RuBP. Une carboxylase, la ribulose bisphosphate carboxylase (dénommée Rubisco) catalyse la réaction ; c'est une enzyme présente en très grande quantité dans les organes verts, les feuilles notamment, représentant à peu près 50% des protéines foliaires (Figures 5, 6 et 7) (Encadré II).

Après carboxylation, le produit obtenu à 6 C se scinde en deux pour donner deux molécules de PGA réduites en trioses phosphates : glyceraldéhyde phosphate et dihydroxyacétone phosphate (d'où le nom des plantes C3 attribué aux plantes qui assimilent le carbone exclusivement *via* ce cycle métabolique au cours de la photosynthèse). Cette réaction de réduction nécessite deux molécules de NADP + H⁺ (pouvoir réducteur) et deux molécules d'ATP (molécules phosphorylées, riches en énergie), toutes ces molécules énergétiques étant synthétisées au cours de la phase photochimique. Par une série de réactions d'aldolisation et transcétolisation, les trioses phosphates sont convertis en glucides phosphorylés en C7, C6, C5 et C4. Des kinases et des phosphatases sont impliquées dans ces réactions. En fin de cycle, le ribulose monophosphate obtenu est phosphorylé en ribulose bisphosphate (RuBP), l'accepteur de CO₂ qui est ainsi régénéré. Deux molécules de trioses phosphates peuvent s'unir également pour donner un sucre en C6, glucose par exemple, voie inverse de la glycolyse dont le schéma avait été établi en 1930 par Meyerhof qui étudiait la fermentation (Figure 5). Il apparaît que pour 6 molécules de CO₂ fixées, 5 sont détournées pour le renouvellement du RuBP, l'accepteur de CO₂, et une seule pour la synthèse de métabolite, glucose par exemple (Calvin, 1962).

En 1959, les mécanismes biochimiques de photosynthèse sont identifiés et le "cycle de Calvin-Benson" ou « cycle de réduction des pentoses-phosphates » est établi (Figure 8) ; deux ans plus tard, Melvin Calvin reçoit le prix Nobel de chimie (Farineau et Morot-Gaudry, 2011).

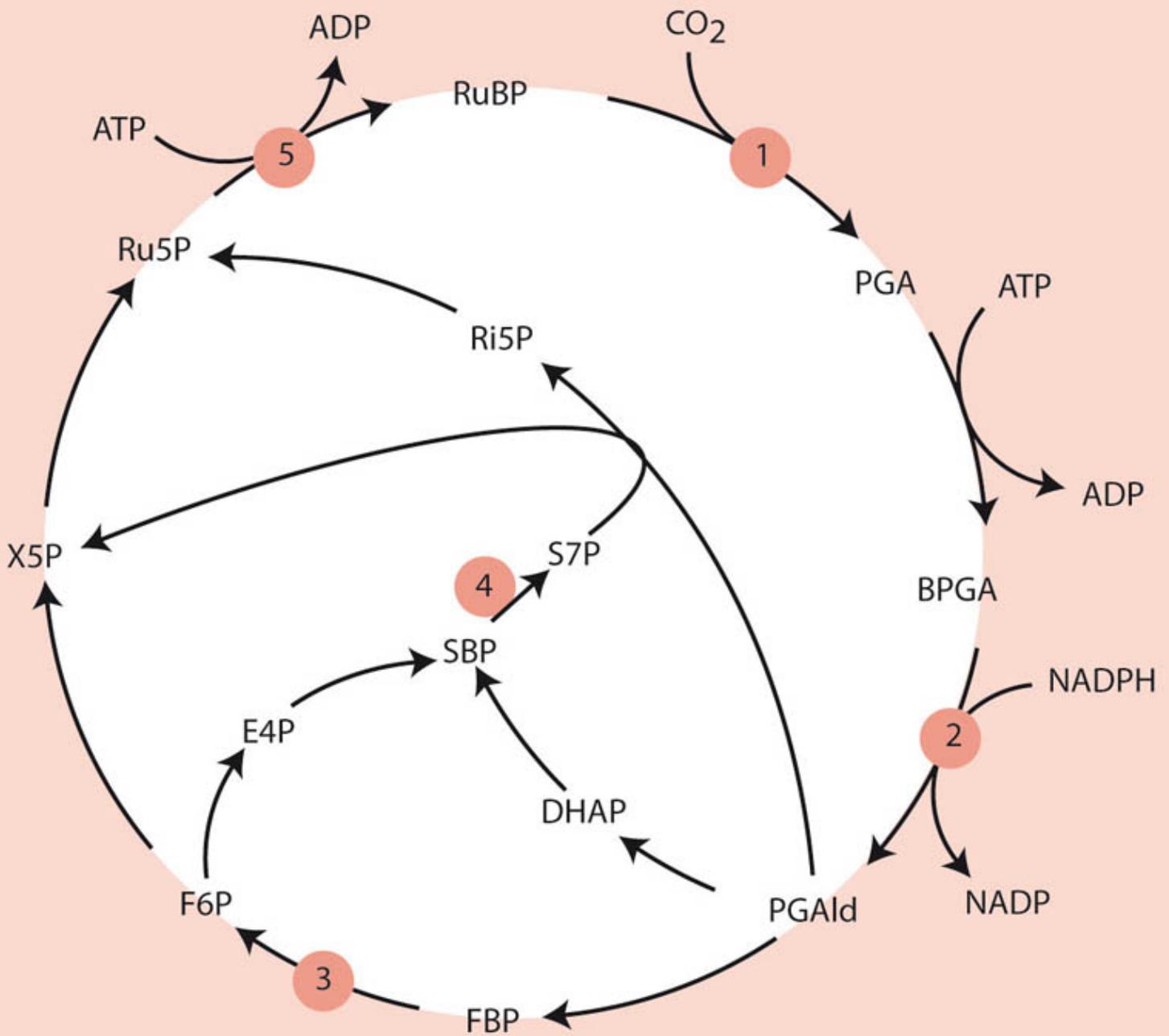


Figure 5. Cycle de Calvin-Benson : PGAld ou GAP, aldéhyde phosphoglycérique ; PGA, acide 3-phosphoglycérique ; DHAP, dihydroxyacétone-phosphate ; ABPG, acide 1,3-bisphosphoglycérique ; E4P, érythrose-4-phosphate ; FBP, fructose-1,6-bisphosphate ; F6P, fructose-6-phosphate ; Ri5P, ribose-5-phosphate ; RuBP, ribulose-1,5-bisphosphate ; Ru5P, ribulose-5-phosphate ; SBP, sédoheptulose-1,7-bisphosphate ; S7P, sédoheptulose-7-phosphate ; X5P, xylulose-5-phosphate, X5P. Les différentes étapes de régulation du cycle de Calvin sont : Rubisco (1), déshydrogénase (2), phosphatases (3 et 4), et kinase (5) (Schéma Roger Prat, *in* Morot-Gaudry, Dunod, 2009)

Deux NADPH et deux ATP sont nécessaires à la réduction de deux molécules de PGA en deux trioses-P et un ATP supplémentaire est nécessaire à la régénération d'un RuBP, l'accepteur de CO₂. Au total, pour réduire une molécule de CO₂, il faut 2 NADPH et 3 ATP.

Encadré I : Les premières expériences de Calvin

Les premières expériences de Calvin et de ses collaborateurs n'ont pas été réalisées sur des feuilles mais sur des algues unicellulaires, plus faciles d'emploi. Des algues unicellulaires (Chlorelles ou *Senedesmus*) sont placées dans un milieu de suspension qui s'écoule du réservoir par un serpentín transparent éclairé et tombe goutte à goutte dans l'alcool bouillant. Quand la photosynthèse est stationnaire sous éclairage à température donnée, du bicarbonate de sodium marqué ($\text{Na}^{14}\text{CO}_3$) est introduit par une seringue dans le milieu de suspension. L'incubation en présence de ^{14}C est limitée au temps pendant lequel la suspension poursuit sa descente dans le serpentín après avoir été injectée (quelques secondes). En fin de course, le matériel végétal est fixé dans l'alcool bouillant (Figure 6).

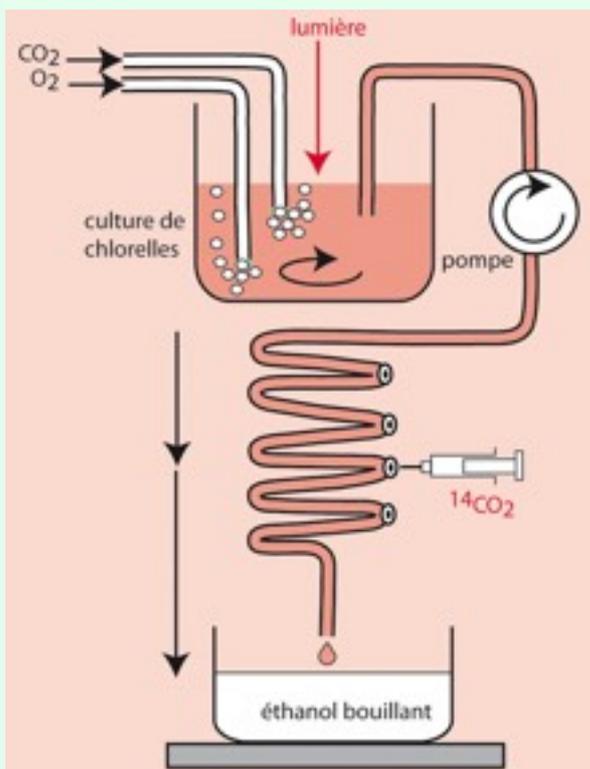


Figure 6. Schéma de l'appareillage utilisé par M. Calvin et ses collaborateurs pour suivre l'incorporation du carbone photosynthétique dans les produits de la photosynthèse (Schéma R Prat, in Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

Les constituants présents dans l'extrait sont séparés par chromatographie bidimensionnelle. Le chromatogramme est ensuite radiographié à l'obscurité. Les taches noires apparues sur le radiochromatogramme indiquent la présence des composés radioactifs qui se sont formés au cours du marquage des algues par le ^{14}C . De façon à identifier ces composés, les radio-chromatogrammes sont comparés à des chromatogrammes colorés par différents réactifs chimiques spécifiques des acides organiques, acides aminés, sucres et composés phosphorylés (Figure 7).

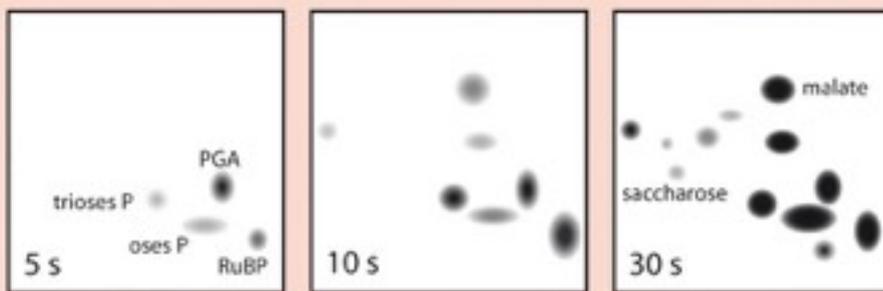


Figure 7. Auto-radiogrammes des composés photosynthétiques marqués par le ^{14}C après séparation par chromatographie bidimensionnelle, Schéma R Prat, in Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

Ce cycle de réduction du carbone se déroule entièrement dans le stroma du chloroplaste et comporte trois étapes principales : (i) l'incorporation du CO_2 sur le ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) suivie de la synthèse d'acide phosphoglycérique (PGA), (ii) la réduction du PGA en trioses-phosphates et (iii) la régénération du RuBP (Figure 8).

Les produits de la photosynthèse, les assimilats, sont transportés et distribués dans toute la plante par le système conducteur qui conduit la sève élaborée, le phloème, qui est parallèle au système qui assure la conduction de la sève brute, le xylème. Le transport à longue distance de la sève élaborée nécessite que les assimilats (saccharose, acides aminés principalement) des organes sources, les feuilles, soient chargés dans le complexe conducteur par un mécanisme de chargement actif et sélectif, puis déchargés en continu dans les organes receveurs : graines, fruits, racines et tiges tubérisées (Farineau et Morot-Gaudry, 2011).

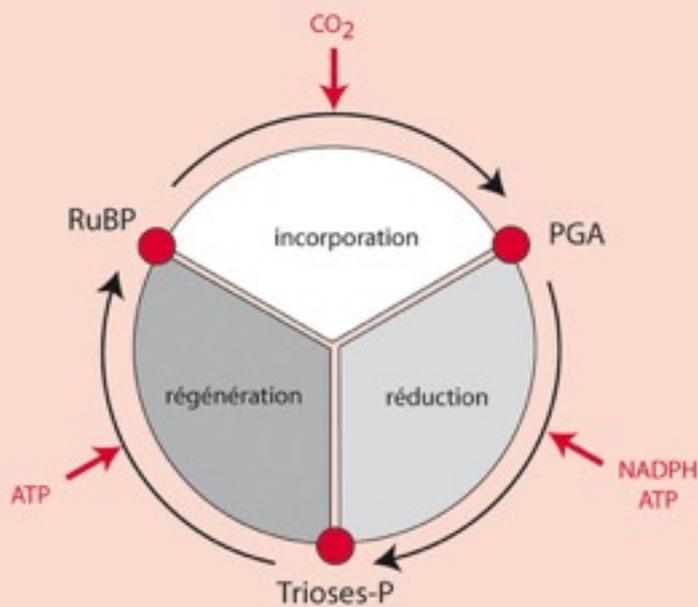


Figure 8. Cycle simplifié de Calvin-Benson montrant les étapes d'incorporation et de réduction du carbone photosynthétique conduisant à la formation d'acide phosphoglycérique (PGA) et de trioses-phosphates et à la régénération de l'accepteur de CO₂, le ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) (Schéma Roger Prat, *in* Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

5 - La photorespiration et la Rubisco

Dans les années 1920, Otto Warburg, un célèbre biologiste allemand qui reçut le prix Nobel, observe que si on abaisse de 20 à 2% la teneur en dioxygène O₂ de l'air (contenant 0,035% de CO₂), la vitesse d'assimilation nette du CO₂ est multipliée par un facteur de 1,5 à 2: c'est l'effet Warburg. Les fortes tensions d'oxygène inhibent donc la prise de carbone. Dans les années 1970, suite à des expériences de marquage à l'aide d'isotope de l'oxygène (¹⁸O₂), Bowes, Lorimer, Ogren et Tolbert observent que la ribulose bisphosphate carboxylase, l'enzyme qui fixe le dioxyde de carbone, est capable également de fixer le dioxygène (Lorimer, 1981 ; Ogren, 1984 ; Tolbert, 1997).

La ribulose bisphosphate carboxylase exerce donc en plus de son activité carboxylase une deuxième activité appelée oxygénase, d'où le nom de Rubisco (Ribulose bisphosphate carboxylase oxygénase) attribué à cette enzyme bifonctionnelle (Encadré II). Il a été montré ultérieurement que CO₂ et O₂ sont en compétition au niveau des sites catalytiques de la Rubisco. En présence d'une concentration élevée de CO₂, la Rubisco fonctionne uniquement comme carboxylase aboutissant, par fixation de CO₂, à la synthèse de deux molécules de PGA, à l'origine des sucres phosphorylés formés par le cycle de réduction des pentoses ou cycle de Calvin-Benson.



En revanche, en présence d'une forte concentration en O₂ et d'une faible concentration en CO₂, la Rubisco donne naissance à une molécule de PGA et à une molécule de phosphoglycolate (P-glycolate) désphosphorylé rapidement en glycolate.



De fait, le CO₂ et l'O₂ sont impliqués dans deux activités antagonistes ; le CO₂ favorisant la fonction carboxylase de la Rubisco et l'O₂ la fonction oxygénase manifestée par la photorespiration. La photorespiration est un mécanisme catabolique qui consomme de l'oxygène et libère du CO₂, manifestant ainsi une oxydation des substrats photosynthétiques, c'est-à-dire apparemment un gaspillage de ces substrats.

Le premier produit de la photorespiration, le P-glycolate, est métabolisé *via* un chemin métabolique complexe (cycle photorespiratoire ou de Tolbert) qui implique la coopération de trois organites cellulaires, le chloroplaste, le peroxyosome, et la mitochondrie (Tolbert, 1997). Le recyclage du glycolate a un coût énergétique non négligeable et est producteur de CO₂. Toutefois, grâce au déroulement de la voie du glycolate, une grande partie du carbone issu de la photorespiration est finalement récupérée, limitant ainsi la perte trop grande de carbone photosynthétique (Figures 9 et 10).

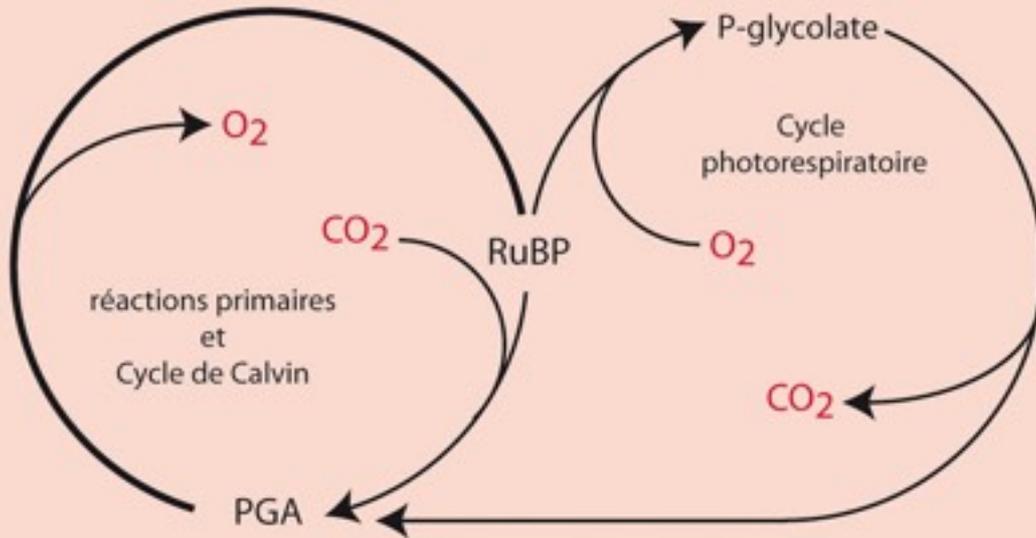


Figure 9. Relation entre cycle photosynthétique et cycle photorespiratoire. PG, phosphoglycolate ; PGA, 3-phosphoglycérate ; RuBP, ribulose-1-5 bisphosphate (Schéma Roger Prat, *in* Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

Le fonctionnement du cycle de Calvin-Benson conduit à la consommation de CO₂, à la libération de O₂ et à la synthèse nette de matière organique. A l'opposé, le fonctionnement du cycle photorespiratoire consomme de l'oxygène mène à la libération de CO₂ et à la perte de matière carbonée (Farineau, Morot-Gaudry, 2011).

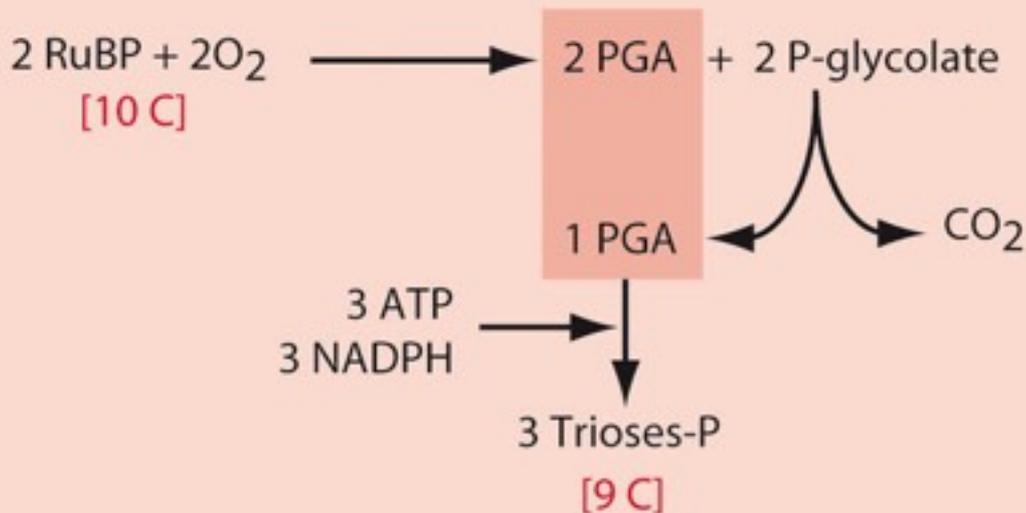


Figure 10. Bilan du carbone organique dans la photorespiration. L'ensemble du processus photorespiratoire (oxygénation du RuBP + voie du glycolate) (Schéma Roger Prat, *in* Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

La photorespiration s'exprime surtout chez les plantes de type de photosynthèse C3, essentiellement d'origine tempérée (blé, orge, tomate, laitue, pomme de terre, arbres...). Les plantes de type C3, ne pouvant pas réduire l'activité de la fonction oxygénase, ont recyclé le plus efficacement possible le premier produit de la photorespiration, le phosphoglycolate qui est de ce fait métabolisé à moindre perte de carbone par le cycle oxydatif photorespiratoire (Cycle de Tolbert). Dans ces conditions, un seul carbone est éliminé pour quatre carbones entrant dans le cycle photorespiratoire. À 25°C, dans les conditions d'environnement normal, c'est-à-dire 21% d'oxygène et 0,035% de CO₂, le rapport entre vitesse de carboxylation et d'oxygénation est voisin de 2,5, c'est-à-dire que l'émission de CO₂ photorespiratoire correspond à peu près à 20% de l'assimilation photosynthétique de CO₂.

6 - Différentes stratégies élaborées par les végétaux pour réduire la photorespiration : découverte des plantes de type C4.

La fonction oxygénase qui est une fonction catalytique intrinsèque de la Rubisco, n'aurait été révélée, au cours des temps géologiques, qu'après augmentation de la concentration en O₂ et diminution importante de la concentration en CO₂ dans l'atmosphère ; cette dernière est supposée s'être produite plusieurs fois au cours des périodes géologiques à la fin de l'Oligocène, période semi-aride avec des teneurs en CO₂ faibles et plus particulièrement à la jonction des ères secondaire et tertiaire. De ce fait, la compétition entre CO₂ et O₂ au niveau des sites catalytiques de la Rubisco est devenue inévitable, l'évolution n'ayant pas éliminé la fonction oxygénase. Devant cette situation, les organismes photosynthétiques ont adopté plusieurs stratégies.

Les bactéries photosynthétiques (Cyanobactéries notamment), les algues unicellulaires vertes et les plantes aquatiques, ont développé des mécanismes de concentration de bicarbonate HCO₃⁻ (pompes à HCO₃⁻), converti par des anhydrases carboniques en CO₂ aux sites de carboxylation de la Rubisco, favorisant ainsi l'activité carboxylase aux dépens de l'activité oxygénase. Par exemple chez les cyanobactéries existent des micro-compartiments bactériens, les carboxysomes, formés d'une coque protéique polyédrique d'environ 80 à 140 nm de diamètre, qui encapsulent des anhydrases carboniques et des enzymes Rubisco. Ces organites permettent de concentrer le dioxyde de carbone aux sites de carboxylation de la Rubisco et de favoriser ainsi l'activité carboxylase de la machinerie photosynthétique. De nombreuses algues, ainsi que les plantes terrestres de l'embranchement des Anthocérotes (sortes de Bryophytes), disposent également de sous-organites, des micro-compartiments appelés pyrénoides, présents dans leurs chloroplastes pour y concentrer le dioxyde de carbone autour de la Rubisco. Le contenu (matrice) de ces pyrénoides est essentiellement constitué de Rubisco et est souvent traversé par des thylacoïdes qui se prolongent dans le stroma du chloroplaste.

Plus tardivement, des plantes supérieures (Angiospermes mono et dicotylédones), généralement d'origine tropicale comme le maïs et la canne à sucre, ont réalisé la même stratégie mais en compartimentant leur métabolisme photosynthétique en deux cycles localisés dans deux compartiments différents des tissus foliaires. Ces observations ont été réalisées essentiellement dans les années 1960 où l'universalité du cycle de Calvin-Benson a été remise en cause. Il est observé, chez certaines plantes tropicales, maïs, canne à sucre, sorgho, mil, amarante, atriplex, que le premier composé incorporant le carbone du CO₂ à la lumière n'est pas l'acide 3-phosphoglycérique (PGA), mais des acides dicarboxyliques à 4 carbones (acide malique, acide

Encadré II : La Rubisco

La Rubisco est une enzyme multimérique de poids moléculaire élevé (550 kDa), localisée dans le stroma des chloroplastes où elle représente 50% des protéines solubles. La Rubisco est de ce fait l'enzyme la plus importante quantitativement de la planète et constitue la principale réserve d'azote organique pour les cellules végétales photosynthétiques.

La Rubisco est constituée chez tous les organismes à photosynthèse oxygénique d'un ensemble de huit grandes sous-unités appelées L (large subunits) de 51 à 58 kDa chacune, et de huit petites sous-unités S (small subunits) de 12 à 18 kDa chacune. L'ensemble présente une forme tonneau, les 8 grandes sous-unités (2x4), L étant au centre et les petites (2x4S) aux extrémités. Les grandes sous-unités portent les sites catalytiques. Les petites sous-unités qui sont nécessaires à son fonctionnement ont un rôle encore mal connu.

Préalablement aux réactions de catalyse (carboxylation et oxygénation), la Rubisco doit être modifiée dans sa conformation par la rubisco activase, et activée par le CO₂ en présence de magnésium.

Les huit grandes sous-unités L (475 acides aminés) de la Rubisco ont pour origine le chloroplaste. Elles sont codées en effet par de l'ADN chloroplastique circulaire portant un seul gène *rbcL*, sans intron, donc de nature procaryotique. Les grandes sous-unités sont très conservées d'une espèce à une autre (80 % d'homologie).

En revanche, les huit petites sous-unités S (120 acides aminés), sont codées par le génome nucléaire et sont traduites en protéines dans le cytosol. Les gènes nucléaires, appelés *rbcS* (6 à 12), présentent des introns ; ils sont donc de nature eucaryotique. En général, la structure des gènes des petites sous-unités S est beaucoup moins bien conservée que celle des grosses sous-unités L ; elle varie beaucoup entre espèces. Les petites sous-unités S, portent de plus un peptide de transit (6 à 57 acides aminés) qui permet leur adressage au chloroplaste entouré d'une membrane double (Farineau, Morot-Gaudry, 2011).

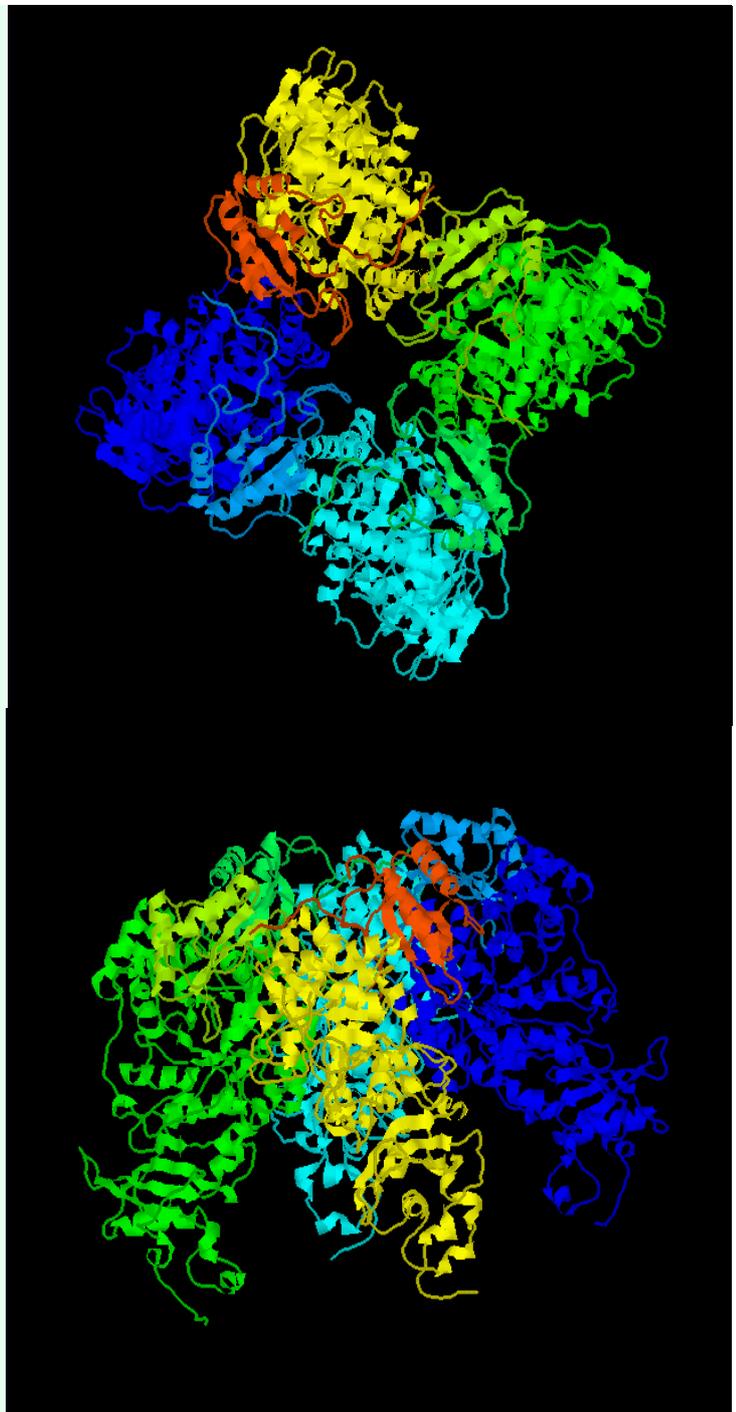


Figure 11. Structure tridimensionnelle de la Ribulose 1,5-Bisphosphate Carboxylase/ Oxygénase

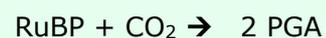
Synonyme : Rubisco; carboxydismutase; Ec : 4.1.1.39

Origine : Epinard (*Spinacia oleracea*)

L'unité fonctionnelle (~0,6 Mda) est formée de 8 chaînes lourdes (52 kDa) ci dessus en jaune ou vert, et 8 chaînes légères (24 kDa), en rouge par exemple.

La Rubisco, qui constitue généralement le tiers des protéines foliaires chez les plantes est la protéine la plus abondante de la planète..

Elle permet la fixation du CO₂ atmosphérique sur le ribulose bis phosphate, en produisant 2 molécules d'acide phosphoglycérique ; elle est à l'origine de la formation des chaînes carbonées :



aspartique) ; d'où le nom de plantes C4 donné à ces plantes, en comparaison aux plantes C3 qui n'utilisent que le cycle de Calvin-Benson pour assimiler le carbone au cours de la photosynthèse (Hatch et Slack, 1966, 1970). De plus, les plantes C4 présentent généralement une anatomie foliaire caractérisée par deux types de tissus, le mésophylle, le tissu le plus externe, et la gaine périvasculaire, le tissu le plus interne qui entoure les faisceaux conducteurs (Figures 12 et 13). Les cellules du mésophylle renferment de petits chloroplastes à l'aspect granaire typique. Les cellules de la gaine périvasculaire contiennent de gros chloroplastes souvent riches en grains d'amidon qui peuvent présenter un nombre réduit de grana, ayant pour conséquence une absence d'activité du photosystème II (PSII) génératrice de pouvoir réducteur. La paroi des cellules de la gaine est épaisse, subérisée mais percée de plasmodesmes, sortes de connexions qui traversant la paroi cellulaire, reliant ainsi les membranes plasmiques et les cytoplasmes des cellules adjacentes qui forment alors un compartiment continu, le symplasma. Les plasmodesmes facilitent la communication entre cellules et tissus (Laetsch, 1974).

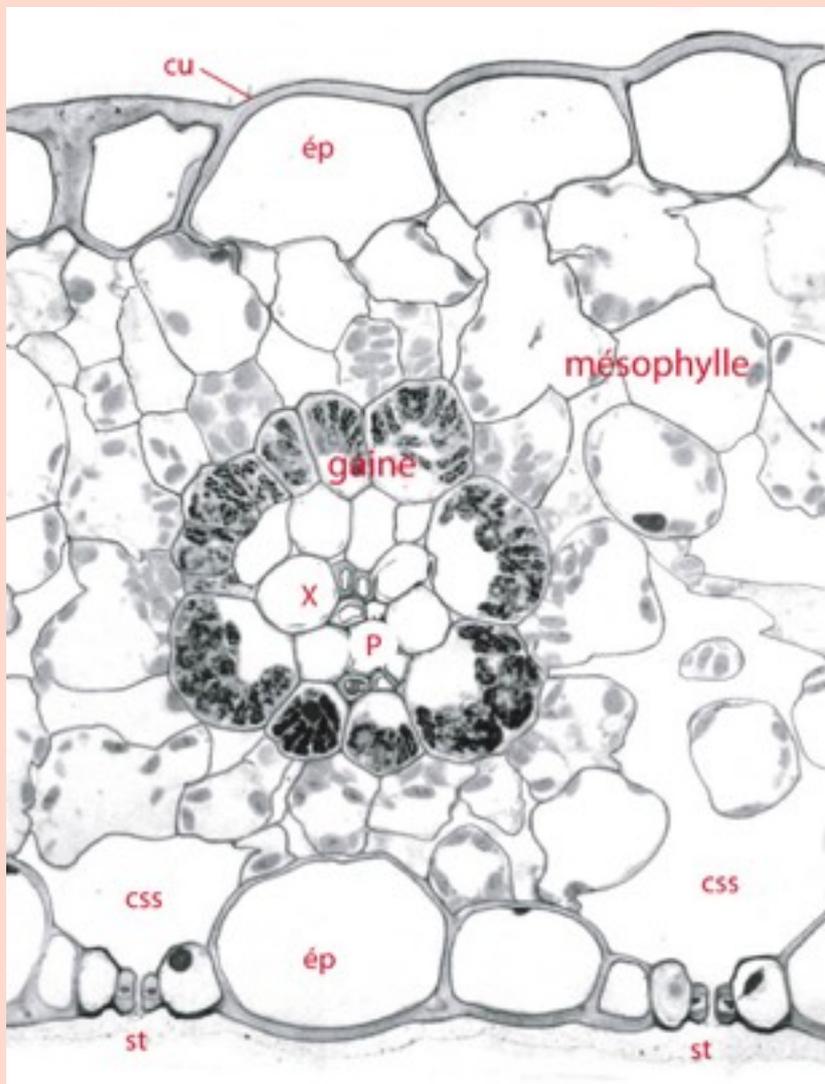


Figure 12. Représentation schématique d'une feuille de maïs. On observe, de la périphérie au centre, l'épiderme (ép) recouvert de la cuticule (cu), le mésophylle, chlorophyllien (les cellules n'ont pas été représentées), puis les cellules de la gaine périvasculaire. css, chambre sous-stomatique ; p, phloème ; st, stomates ; v, vaisseaux (Schéma Roger Prat, *in* Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

Suite aux travaux de deux chercheurs australien et néozélandais, Hatch et Slack (1966, 1970), il est montré que le CO_2 atmosphérique (sous forme de bicarbonate HCO_3^-) est tout d'abord fixé très efficacement par des carboxylases spécifiques les phosphoenolpyruvate carboxylases (PEPcases) localisées dans le tissu le plus externe à la feuille, le mésophylle. Le carbone est alors stocké sous forme de molécules organiques à 4 carbones, essentiellement malate et aspartate. Ces molécules sont ensuite transportées et décarboxylées dans un tissu plus interne à la feuille, la gaine périvasculaire. Dans les chloroplastes de ce tissu est localisée la Rubisco,

seconde enzyme de carboxylation, commune aux plantes C₃ et C₄, qui se trouve ainsi placée dans un environnement très enrichi en CO₂, suite à la décarboxylation efficace des intermédiaires C₄. La tension en CO₂ peut être ainsi augmentée de 5 à 10 fois aux sites catalytiques de l'enzyme. Dans ces conditions la fonction carboxylase est nettement favorisée et l'activité photosynthétique accrue. En revanche, l'activité oxygénase y est très réduite. Elle se manifeste généralement par aucune émission de CO₂ à l'extérieur, étant donné que les PEPcases du mésophylle piègent le peu de CO₂ qui tenterait de s'échapper et le réintègre immédiatement dans le métabolisme de la feuille.

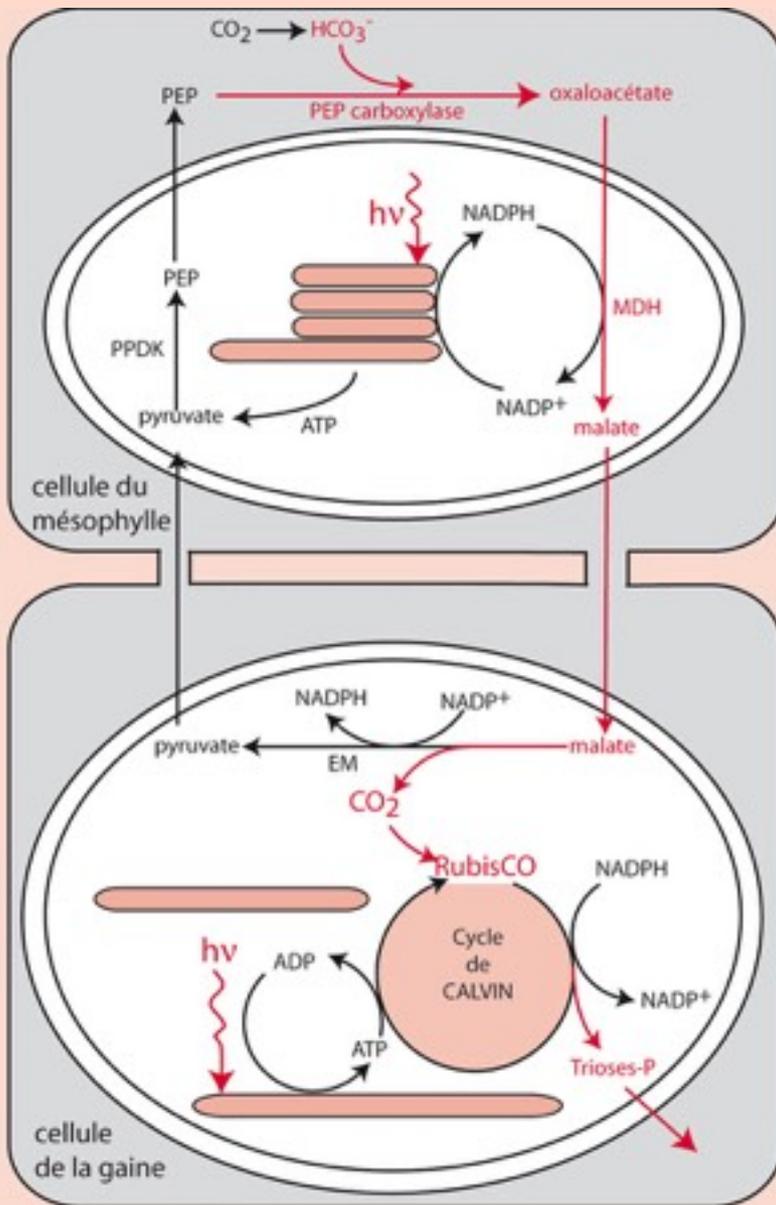


Figure 13. Schéma du métabolisme photosynthétique C₄ : En haut, fixation du carbone par la phosphoénolpyruvate carboxylase (PEPcase) et sa métabolisation dans les composés C₄ (malate notamment) et, en bas, décarboxylation du malate et intégration du carbone photosynthétique par la RubisCO dans les composés du cycle de Calvin-Benson.

Cas des plantes à malate déshydrogénase décarboxylante à NADP⁺ chloroplastique (maïs, canne à sucre par exemple): le cycle comprend quatre étapes : **1**) fixation primaire du CO₂ externe (HCO₃⁻) par la PEP carboxylase (PEPcase) dans les cellules du mésophylle, suivie de la réduction de l'oxaloacétate en malate par la malate déshydrogénase à NADP (MDH) ; **2**) transports du malate dans les cellules de la gaine périvasculaire ; **3**) décarboxylation du malate en pyruvate et CO₂ par l'enzyme malique à NADP (EM), puis fixation secondaire du CO₂ par la RubisCO et conversion en sucres par le cycle de Calvin-Benson dans les cellules de la gaine périvasculaire ; **4**) transport du pyruvate dans le mésophylle et régénération du PEP par la pyruvate orthophosphate dikinase, le phosphoénol pyruvate (PEP) étant l'accepteur primaire de CO₂ (Schéma R Prat, *in* Morot-Gaudry, Dunod, 2009).

Par leurs propriétés, les plantes de types C₄, certaines Poacées ou Graminées (sorgho, mil, maïs, canne à sucre, miscanthus ou herbe à éléphant, switchgrass ou *Panicum virganum*, *Spartina*, *Chloris gayana*), certains carex (Famille des Cypéracées), atriplex et amarantes (famille des Amaranthacées), certaines euphorbes (famille des Euphorbiacées), etc., sont bien adaptées aux climats chauds et peuvent supporter les faibles concentrations en CO₂ atmosphériques. Elles ne se rencontrent que chez les angiospermes où elles ne représentent à peu près 3% des membres (environ 8.000 membres dans 17 familles de plantes terrestres). Ensemble, les Poacées et les Cyperacées représentent environ 80% du nombre total d'espèces C₄. Les plantes de types C₃, la majorité des espèces végétales, sont répandues sur tous les continents et sont bien adaptées aux

zones tempérées à quelques exceptions près. Les plantes C3 cultivées les plus communes sont le blé, l'orge, l'avoine, le seigle, le riz, la tomate, la pomme de terre, le tabac, le coton, le soja, le pois, etc. et la totalité des espèces ligneuses à notre connaissance.

Les plantes crassulescentes (dites improprement plantes grasses, Cactées, Broméliacées dont l'ananas) ont développé un type de stratégie analogue, mais au lieu de compartimenter leur métabolisme photosynthétique dans l'espace, elles l'ont fractionné dans le temps. Elles assimilent le CO₂ la nuit et synthétisent un acide C4, le malate, qu'elles stockent dans leurs vacuoles. De jour, elles décarboxylent le malate et fixent le CO₂ libéré pour assurer le fonctionnement du cycle de Calvin-Benson. Ce mécanisme original réparti dans le temps leur permet de survivre dans des conditions de sécheresse extrême, ouvrant leurs stomates de nuit et les fermant de jour, évitant ainsi toute perte excessive d'eau (Farineau, Morot-Gaudry, 2011).

7 - À quoi sert la photorespiration et peut-on la supprimer?

7-1 La photorespiration a-t-elle une utilité ?

Dans les conditions normales d'environnement la photorespiration permet de recycler à moindre coût le phosphoglycolate, produit inévitablement par la Rubisco, en présence de 21% d'oxygène et 0,035% de CO₂. Dans les conditions d'environnement difficiles, cas de stress hydrique, sous fort éclaircissement, par exemple, la photorespiration favoriserait la survie de la plante. Dans ces conditions en effet, les stomates se ferment et aucun échange n'a lieu entre la feuille et l'atmosphère. En conséquence, la concentration en CO₂ intra-foliaire baisse et s'approche de zéro. Le métabolisme photosynthétique s'arrête alors et le drainage des charges photosynthétiques, non utilisées pour la formation de pouvoir réducteur NADPH et d'ATP nécessaires au déroulement du cycle de Calvin-Benson, ne se fait plus. La dissipation thermique de l'excès d'énergie au niveau du photosystème II devient difficile et des désordres graves au niveau des membranes photosynthétiques et des pigments apparaissent ; c'est ce qu'on appelle le phénomène de photoinhibition de la photosynthèse. Grâce à l'activité photorespiratoire qui est exacerbée dans les conditions de faible CO₂, la concentration intra-foliaire en CO₂, se maintient au point de compensation pour le CO₂, le point Γ , (correspondant à 50-80 μl de CO₂/litre), c'est-à-dire à un état d'équilibre entre émission et fixation du CO₂. La photorespiration produit alors un minimum de CO₂ pour que le fonctionnement du cycle de Calvin-Benson ait lieu. Dans ces conditions, la photorespiration et la photosynthèse consomment de l'énergie et assurent un fonctionnement minimal de la chaîne de transfert d'électrons permettant ainsi à l'appareil photosynthétique, essentiellement au niveau du photosystème II, de dissiper, sous forme thermique, les excès d'énergie sans conséquences néfastes sur sa structure. Ces hypothèses ne sont que partiellement confirmées (Farineau, Morot-Gaudry, 2011).

7-2 Peut-on supprimer ou tout au moins réduire l'activité photorespiratoire tout en augmentant les rendements ?

En 1976, deux physiologistes agronomes nord-américains, Quebedeaux et Hardy (1975), ont montré que la croissance et la productivité de sojas, cultivés sous faible tension d'oxygène (5%) est plus élevée que dans l'air normal. Des cultures où la tension de CO₂ a été augmentée ont confirmé ces résultats. Ne serait-il pas intéressant alors de réduire, voire supprimer la photorespiration. Jusqu'à présent les tentatives réalisées pour favoriser la fonction carboxylase aux dépens de la fonction oxygénase, soit par voie génétique, soit par emploi d'inhibiteurs ou

d'activateurs chimiques du métabolisme, sont restées quasiment vaines. De plus, la culture de plantes sous fortes tensions de CO₂, si elle accroît au moins transitoirement l'activité photosynthétique, ne conduit pas toujours à des productions de matière sèche élevée. D'autres régulations de la photosynthèse et du développement peuvent intervenir et provoquer des effets négatifs sur la production d'organes récoltables comme les graines et les grains.

La photorespiration existe donc et reste jusqu'à présent incontournable. L'élévation de la teneur en CO₂ de l'atmosphère au cours des prochaines décennies sera peut-être le moyen le plus efficace pour la réduire et augmenter en conséquence le rendement des récoltes. Il faut toutefois supposer que l'élévation de température, qui sera la conséquence de cette modification de l'atmosphère, ne soit pas trop élevée et ne perturbe pas de manière dramatique la météorologie de la planète (Farineau, Morot-Gaudry, 2011).

Récemment toutefois, des essais de manipulations génétiques de l'enzyme Rubisco ont apporté quelques espoirs pour modifier l'activité de cette enzyme chez les plantes. Des chercheurs (Lin *et al.*, 2014) ont essayé d'introduire dans des tabacs une Rubisco fonctionnelle de la cyanobactérie *Synechococcus elongatus* PCC7942 (Se7942). Ils ont inséré aux carboxysomes cyanobactériens les gènes de la grande et des petites sous-unités de l'enzyme Se7942 de la cyanobactérie en combinaison avec les gènes codant les protéines chaperonnes correspondantes RbcX associées à une protéine interne, CcmM3. Dans ces conditions, la Rubisco Se7942 et le complexe CcmM35 miment alors la construction des systèmes de carboxylations des carboxysomes cyanobactériens. Les lignées de tabac transgéniques obtenues contenant ces constructions manifestent une activité photosynthétique par unité d'enzyme Rubisco plus efficace que celles des plantes témoins. Ces essais représentent une étape importante et encourageante vers l'amélioration de la photosynthèse des plantes (Lin *et al.*, 2014).

8 - Intérêt des plantes de type C4 par rapport aux plantes C3

Les plantes de type C4 possèdent des caractéristiques anatomiques et métaboliques spécifiques (Syndrome C4). Du fait de l'acquisition d'un mécanisme C4, concentrant aux sites catalytiques de la Rubisco le CO₂, les plantes de type C4 présentent une activité photosynthétique plus élevée que les plantes C3, en particulier sous fort éclairage et température élevée. Cette forte capacité photosynthétique, dans des conditions climatiques données, est due à plusieurs caractères du syndrome C4. Premièrement, les enzymes PEPcases des cellules mésophylliennes fixent efficacement le carbone atmosphérique même dans des conditions où la concentration en CO₂ dans l'environnement est faible (250-350 µL/L par exemple). Deuxièmement, la capacité de concentrer le CO₂ aux sites catalytiques de la Rubisco réduit fortement l'activité photorespiratoire, en particulier en milieu bien ensoleillé et chaud où l'activité photorespiratoire des plantes C3 est exacerbée. De ce fait le syndrome C4 permet de réduire la quantité d'enzyme Rubisco pour une activité photosynthétique optimale et d'économiser ainsi beaucoup d'azote pour le déroulement de leur métabolisme photosynthétique. De même il permet de limiter les pertes d'eau, les plantes C4 étant capables de fixer beaucoup de carbone sous faible teneur en CO₂ en n'ouvrant que partiellement leurs stomates. Enfin l'organisation en manchons des tissus foliaires favorise les échanges de métabolites photosynthétiques entre tissus tout en limitant les pertes de CO₂ et d'eau. Rappelons que les plantes de type C3 perdent par transpiration 97 % de l'eau absorbée par les racines alors que les plantes de type C4 en

perdent beaucoup moins (réduction des pertes de 30 à 50%). On considère qu'il faut en moyenne 500 litres d'eau pour élaborer un kilo de farine de blé alors qu'il n'en faut que 350 litres environ pour fabriquer un kilogramme de farine de maïs (Farineau et Morot-Gaudry, 2011).

Toutes ces caractéristiques conduisent à une plus grande efficacité photosynthétique globale et une meilleure productivité des plantes de type C4, en particulier sous les climats chauds et bien ensoleillés, savanes et prairies tropicales notamment. Rappelons enfin que ce type de photosynthèse est responsable de 30 % de la fixation du carbone terrestre mondial, même si seulement moins de 5 % des espèces végétales utilisent cette voie C4.

Après la mise en évidence du type de photosynthèse C4 en fin des années 1960, les scientifiques et améliorateurs ont été intéressés par la possibilité d'intégrer par voie génétique et/ou par transgénèse le système de photosynthèse C4 dans les céréales telles que le riz et le blé qui utilisent le métabolisme C3 moins productif. De telles transformations pourraient apporter des avantages certains de rendement tout en économisant l'eau et en valorisant l'azote, tout au moins dans certaines conditions environnementales. C'est ce que nous allons étudier dans la suite de cet article.

9 - La diversité de la photosynthèse de type C4

Dans le contexte évolutif, il a été observé que la transition de photosynthèse C3 à C4 s'est produite de façon indépendante au cours de l'évolution dans plus de 60 taxons de plantes différentes. Elles se rencontrent aussi bien chez les monocotylédones que chez les dicotylédones. Chez les monocotylédones, les plantes C4 sont répandues essentiellement chez les Poacées (ou Graminées) et les cypéracées ; le maïs, la canne à sucre, le sorgho, le mil, la panique (*Echinochloa crus-galli*), certains carex par exemple, sont des plantes de photosynthèse de type C4 alors que le riz, le blé, l'avoine, l'orge, sont de type C3. Chez les dicotylédones, beaucoup de plantes sont C3 et quelques-unes sont C4 (rencontrées essentiellement chez les Amaranthacées, Euphorbiacées (certains atriplex et amarantes). Signalons aussi que dans un même genre, *Panicum* et *Atriplex* par exemple, peuvent exister à la fois des espèces C4 (*Panicum capillare* et *Atriplex rosea*) et des espèces C3 (*Panicum commutatum*, *Atriplex hastata* et *Atriplex prostrata*). Des croisements entre *Atriplex* de différents types de photosynthèse ont d'ailleurs été obtenus et ont donné des plantes plus ou moins intermédiaires entre C3 et C4 mais sans avoir toutefois transféré les caractères C4 fonctionnels aux plantes C3 (Björkman *et al.* 1971 ; Brown and Bouton, 1993 ; Sage, 2004 ; Oakley *et al.* 2014).

Il existe également quelques espèces de plantes rencontrées chez les graminées (du genre *Panicum*: *P. milioides*) ou chez des dicotylédones (genre *Moricandia*, famille des Brassicacées) qui présentent des caractéristiques intermédiaires entre celles des plantes C₃ et C₄. Chez ces plantes, l'activité photorespiratoire est faible ; les valeurs du point de compensation Γ pour le CO₂, c'est à dire la concentration en CO₂ atmosphérique pour laquelle l'activité fixatrice de CO₂ compense exactement le rejet photorespiratoire, est alors peu élevées, situées entre 10-30 $\mu\text{L/L}$. Ces plantes présentent des structures anatomiques semblables à celles des plantes C4. On y observe la présence d'une gaine périvasculaire entourée de cellules mésophylliennes mais toutes les cellules chlorophylliennes des deux types cellulaires renferment de la Rubisco (enzyme spécifiquement localisée dans les cellules de la gaine périvasculaire chez les plantes de type

vraiment C4). L'activité PEPcarboxylase plus élevée que chez les plantes C3 reste toutefois inférieure à celle des plantes C4. Ces plantes sont sans doute des témoins de l'évolution des plantes C3 vers les C4. Ces intermédiaires C3-C4 présentent un intérêt pour envisager l'introduction de caractères C4 chez les plantes de photosynthèse de type C3 (Rawsthorne, 1992 ; Brown and Bouton, 1993).

10 - Complexité des plantes de type C4

Le problème de la transition C3 vers C4 est complexe pour nombreuses raisons présentées dans l'Encadré III).

Encadré III : Régulations métaboliques

Si le sens et la position d'équilibre des réactions biochimiques dépendent de la thermodynamique, les enzymes qui les accélèrent sont régulées par de nombreux mécanismes, d'installation rapide, très sensibles et peu coûteux en énergie, permettant de s'adapter rapidement aux modifications de l'environnement.

Outre les systèmes classiques de régulation de l'activité des enzymes par la concentration en substrats (réponses à effet coopératif de type Michaelis-Menten ou de type sigmoïdal), par des effecteurs de type allostérique (activateurs ou inhibiteurs), ou par les modifications de pH (augmentation de plus d'une unité pH dans le stroma des chloroplastes lors du passage de l'obscurité à la lumière), il existe des systèmes de régulation des enzymes des tissus chlorophylliens plus spécifiques (mais non exclusifs) : ce sont les régulations réversibles de type covalent, qui modifient les paramètres cinétiques des enzymes. Ces modifications post-traductionnelles, sont des régulations extrêmement efficaces, de type tout ou rien, comme la réduction des ponts disulfure (Farineau, Morot-Gaudry, 2011).

aminés chez les deux types de plantes, C3 et C4. La malate déshydrogénase à NADP (NADP-MDH) réduit l'oxaloacétate en malate non seulement dans le métabolisme photosynthétique C4 mais également dans les cellules des deux types de plantes C3 et C4, où elle est impliquée dans le maintien de l'équilibre cellulaire des systèmes rédox et de pH. Enfin, la pyruvate orthophosphate dikinase (PPDK) est non seulement une enzyme du métabolisme C3 et C4 mais également une enzyme qui à partir du pyruvate synthétise le PEP

Le métabolisme C4 implique plusieurs enzymes compartimentées dans des tissus foliaires différents. Ces enzymes se retrouvent également dans les tissus foliaires des plantes C3. Ces iso-enzymes communes aux deux types de plantes manifestent des activités, des régulations, des localisations et des expressions différentes (Häusler *et al.* 2002). Prenons par exemple le cas de quatre enzymes qui jouent un rôle prépondérant dans le cycle photosynthétique C4. Les activités PEPcases présentent des activités plus faibles chez les plantes C3 que chez les C4. Les PEPcases sont non seulement impliquées dans la capture photosynthétique du CO₂ chez les plantes C4 mais également dans le métabolisme général des plantes C3 et C4 : reprise du CO₂ respiratoire, synthèse de malate nécessaire à la régulation ionique et du pH (pouvoir tampon) lors de la réduction des nitrates et durant la régulation de l'ouverture stomatique, synthèse des squelettes carbonés utilisés dans les voies de synthèse des acides aminés (cycle anapleurotique), etc. Il en est de même de l'enzyme malique à NADP (NADP-ME), qui décarboxyle le malate en pyruvate. Cette enzyme intervient également dans l'élaboration des substrats carbonés des acides

(phosphoénolpyruvate), intermédiaire intervenant dans la synthèse du shikimate, précurseur des acides aminés aromatiques, que les plantes soient de type C4 ou C3. De plus, toutes ces enzymes se retrouvent non seulement dans les feuilles mais également dans des organes non photosynthétiques comme les fruits et les graines.

L'expression de ces enzymes varie également au cours de l'évolution de la feuille. Prenons le cas de la Rubisco. Les gènes *rbcS*, nucléaires (au nombre de 4-5), codent les petites sous-unités S de l'enzyme et le gène L chloroplastique code les grandes sous-unités L (Encadré II). Il a été observé chez les maïs étiolés, ayant donc été cultivés à l'obscurité complète (ou même dans la partie la plus jeune des feuilles de maïs cultivés à la lumière), que les ARN transcrits codant les sous-unités S et L de la Rubisco sont détectés à la fois dans les cellules foliaires du mésophylle et de la gaine périvasculaire, mais sont 10 fois plus abondants dans les tissus de la gaine. Après exposition à la lumière, les feuilles verdissent et la machinerie photosynthétique se met en place. Dans ces conditions, la production de transcrits pour les sous-unités S et L apparaît toujours fortement stimulée dans les cellules de la gaine, mais les transcrits codant ces sous-unités L et S disparaissent dans le mésophylle après exposition à la lumière (Sheen et Bogorad, 1985 ; Sheen, 1999). Ces transformations s'accompagnent dans la gaine de la disparition des empilements membranaires qui permettent l'activité du photosystème II (Brangeon, 1973).

L'anatomie foliaire est-elle une condition absolument nécessaire au fonctionnement d'un métabolisme photosynthétique de type C4 ? Dans les feuilles de riz, comme chez les autres graminées C3, on peut observer dans les feuilles un tissu mésophyllien important et un parenchyme périvasculaire pauvre en cellules qui sont plus petites que celles des plantes C4 et présentent moins de chloroplastes. Les feuilles de riz présentent donc des modifications structurales voisines de celles des plantes de type C4 tout en manifestant un métabolisme C3. À l'inverse, les anatomies caractéristiques C3 et C4 ne sont pas toujours observées chez les plantes à métabolisme photosynthétique de type C4. Par exemple, certaines plantes aquatiques submergées *Hydrilla verticillata*, *Egeria dens* et *Elodea canadensis* ne présentent pas d'anatomie foliaire typique des plantes de type C4, mais expriment cependant un métabolisme photosynthétique de type C4. Chez un chénopode terrestre halophyte *Borszowia aralocaspica*, exprimant un métabolisme de type C4, il n'a été observé également qu'un seul type cellulaire foliaire. Dans ces cellules toutefois les enzymes de type C4 peuvent être compartimentés différemment entre les différents organites cellulaires (Häusler *et al.*, 2002). Ce type de photosynthèse C4 non compartimenté dans la cellule reste cependant une exception.

11 - L'introduction de la machinerie de photosynthèse C4 dans une plante C3, le riz notamment.

Quels sont les arguments qui amènent les chercheurs à tenter l'introduction de gènes de photosynthèse de type C4 dans les plantes de type C3, le riz notamment (von Caemmerer *et al.*, 2012 ; Karki *et al.*, 2013) ? Nous avons vu que les enzymes PEPcases sont communément répandues dans les tissus biologiques qu'ils soient C3 ou C4 (activité anapleurotique par exemple) et présentent nombreuses isoformes. De ce fait, les chercheurs ont essayé depuis nombreuses années de surexprimer les PEPcases dans les tissus foliaires de riz pour en augmenter l'activité photosynthétique et en améliorer à terme la productivité (Ku *et al.* 1999).

Encadré IV La transgénèse

Les progrès de la biologie moléculaire ont permis de modifier directement *in planta* l'expression des gènes codant les principales enzymes intervenant dans le métabolisme. Généralement, les scientifiques ont soit sur-exprimé, soit sous-exprimé des gènes (systèmes sens ou antisens). Parfois, ils ont modifié la régulation de l'expression des gènes, rendant par exemple des systèmes inductibles constitutifs et vice versa. Les scientifiques ont aussi introduit de nouvelles enzymes dans des compartiments cellulaires où elles étaient absentes ou modifié les propriétés catalytiques ou de régulation des enzymes déjà présentes. Ils ont étudié les conséquences de ces manipulations génétiques sur le fonctionnement des plantes et apprécié la perte de telle ou telle activité enzymatique sur le flux de carbone photosynthétique.

Ces approches moléculaires du métabolisme ont été formalisées et quantifiées par l'application de la théorie du contrôle métabolique (Kascer et Burns, 1973). Cette théorie consiste à établir une corrélation entre une modification de flux de carbone par exemple et un changement de quantité et en conséquence d'activité d'une ou de plusieurs enzymes du métabolisme photosynthétique. A partir de ces données on peut calculer la valeur d'un coefficient de contrôle de flux CJ :

$$CJ = \frac{\delta J/J}{\delta E/E} = \delta J/J / \delta E/E$$

où $\delta E/E$ est la variation de la quantité et de l'activité d'enzyme et $\delta J/J$ est celle du flux de la voie métabolique étudiée. Si l'enzyme détermine la totalité du flux, la quantité ou l'activité de l'enzyme est proportionnelle au flux métabolique ; dans ce cas l'enzyme contrôle complètement le flux et la valeur du coefficient de contrôle est égale à 1. Si à l'inverse l'enzyme n'exerce aucun contrôle sur le flux, la valeur du coefficient de contrôle est égale à 0. Tous les cas intermédiaires sont possibles.

Si cette théorie est séduisante, elle doit être utilisée avec précaution. Il faut connaître la quantité d'enzyme active dans l'environnement cellulaire et tissulaire considéré, ce qui n'est pas aisé (problèmes des cosubstrats, activateurs, inhibiteurs et effecteurs de toute sorte). Il en est de même pour la mesure de flux *in vivo*. Il est également nécessaire de savoir si les modifications de l'expression des gènes ne s'accompagnent pas d'effets pléiotropiques dans la plante. Si oui, l'application de la théorie du contrôle métabolique devient délicate. De plus si le système étudié est complexe, les imprécisions dans les méthodes de mesure s'accumulent et on se heurte vite à des difficultés insurmontables. Toutefois, même si ces approches expérimentales sont périlleuses, on peut utiliser la théorie du contrôle métabolique, en connaissant les limites de la méthode, car elle permet de mieux comprendre la complexité des régulations métaboliques.

L'usage des plantes transgéniques pour étudier le contrôle du métabolisme du carbone issu de la photosynthèse est un outil intéressant car il permet de modifier, directement *in planta*, dans un organe ou compartiment cellulaire donné, l'expression d'un gène codant une enzyme importante du métabolisme. Cependant, c'est dans les conditions où l'enzyme devient le principal facteur limitant que l'on peut observer des résultats significatifs. En effet, très souvent, l'activité de l'enzyme que l'on souhaite modifier est bien supérieure à l'activité minimale requise. De plus, il existe de nombreuses iso-enzymes qui peuvent prendre le relais de la catalyse quand une des iso-enzymes, dans un compartiment cellulaire donné, a une activité réduite, ou est bloquée. Ainsi, les modifications de l'expression des gènes codant des enzymes du métabolisme ne procurent pas toujours les résultats attendus et difficiles à interpréter au niveau des régulations physiologiques (Farineau, Morot-Gaudry, 2011).

Ils ont fait de même avec d'autres enzymes du métabolisme C4 citées précédemment. Jusqu'à présent les tentatives pour introduire un gène de métabolisme C4 dans le riz ont certes abouti à des résultats intéressants mais ne correspondant pas tout à fait aux souhaits escomptés (Häusler 2002).

Pour que le système de photosynthèse C4 puisse être introduit efficacement dans les feuilles de plante C3, il semble indispensable qu'il faille introduire non seulement les gènes des PEPcases C4 mais également les gènes de tous les enzymes nécessaires au fonctionnement C4, un peu plus d'une dizaine : phosphoénolpyruvate carboxylase (PEPcase), malate déshydrogénase à NADP (NADP-MDH), pyruvate orthophosphate dikinase (PPDK), anhydrase carbonique, etc.). De plus, il serait souhaitable *a priori*, même si on observe des plantes à fonctionnement C4 sans anatomie foliaire avec deux types de tissus, de respecter la compartimentation spatiale des enzymes photosynthétiques entre cellules du mésophylle dans la partie la plus externe de la feuille et les cellules de de gaine dans la partie la plus externe de l'organe foliaire. C'est une affaire complexe de biologie synthétique.

Les feuilles de riz, qui manifestent des modifications structurales et enzymatiques voisines de celles des plantes de type C4, seraient donc des candidates favorables à leur éventuelle transformation en plantes à métabolisme de type C4. Le problème est toutefois plus complexe qu'il ne paraît. Le système de photosynthèse C4, impliquant deux sites métaboliques compartimentés dans deux types de tissus, fonctionnant en parfaite coordination, suppose également la présence d'un réseau de communication dense et approprié (présence importante de plasmodesmes en autre) et de transporteurs métaboliques spécifiques, nécessaires à l'efficacité des échanges intercellulaires, entre chloroplastes, mitochondries et cytosol par exemple, et intertissulaires, entre cellules du mésophylle et de la gaine périvasculaire (Brutnell *et al.*, 2010 ; Kajala *et al.*, 2011 ; Lekshmy, 2013). Des transporteurs candidats ont été identifiés récemment par Friso *et al.*, (2010) dans les tissus foliaires de maïs (OAA/malate antiport OMT1, transporteurs dicarboxyliques DiT1 et DiT2 et PEP/phosphate translocateur PPT1). Signalons enfin que des mutants de riz (obtenus par mutagenèse), manifestant une anatomie foliaire favorable à l'introduction d'un système C4 de photosynthèse, ont été découverts récemment (Lekshmy, 2013).

Des approches de génomique essaient depuis peu d'identifier les gènes régulateurs spécifiques des métabolismes C3 et C4 en vue de révéler des gènes candidats du ou des « commutateurs - C3 - C4 » qui pourraient être introduits par transgénèse chez le riz (Langdale, 2011 ; Miyao *et al.*, 2011 ; Covshoff *et al.*, 2012). Le monoxyde d'azote NO, « molécule signal » très connue chez les plantes et les animaux, pourrait être également impliqué dans la régulation des processus photosynthétique C3 et C4 (Sakhare A, 2014). Enfin, des chercheurs indiens ont découvert récemment chez le riz un système de gènes régulateurs sous la dépendance du facteur de transcription HYR (Higher Yield Rice) qui permet d'augmenter l'efficacité du métabolisme photosynthétique et la productivité de la plante dans différentes conditions de culture et en particulier dans les conditions de contraintes hydriques et de températures élevées. Ils montrent que le facteur HYR est un « régulateur maître » qui activerait directement des gènes du métabolisme du carbone photosynthétique et des « cascades de facteurs de transcription » et d'autres systèmes de régulation génique intervenant dans les mécanismes morpho-physiologiques de la plante (Ambavaram *et al.*, 2014).

Tout espoir n'est pas perdu. Des chercheurs chinois ont montré qu'il existe aussi des riz hybrides qui, comparés aux riz traditionnels cultivés en Chine, se révèlent très productifs suite à une augmentation de l'activité photosynthétique (Wang *et al.* 2006). Les deux hybrides « super-riz » sélectionnés, Liangyoupeijiu et Hua-un 3 par exemple, accumulent 18 à 34% plus de matière sèche dans la même période de temps par unité de surface foliaire équivalente que les riz traditionnels. Les chercheurs chinois d'après les résultats obtenus en 2006 concluent qu'une plus grande efficacité d'une part de l'utilisation de l'énergie lumineuse (feuilles épaisses à port érigé, meilleur rendement quantique) et de l'assimilation du CO₂ d'autre part (meilleure activité de carboxylation et activité élevée d'enzymes de type de métabolisme C₄ : PEPcases, Rubisco, pyruvate phosphate dikinase (PPDK), malate déshydrogénase à NADP (NADP-MDH), enzyme malique à NADP (NADP-ME), sont les principales propriétés avancées pour expliquer les rendements plus élevés des hybrides « super-riz », Liangyoupeijiu et Hua-un 3 (Wang *et al.*, 2006).

Encadré V : Le riz C₄ à l'IRRI (Philippines)

Paul Quick, chercheur à l'IRRI (Institut international de recherche sur le riz, organisation internationale non-gouvernementale dont le siège se trouve à Los Baños et disposant de représentations dans dix pays), signale que « *si le syndrome C₄ a évolué indépendamment soixante-deux fois au cours des périodes géologiques, cela veut dire que ça ne doit pas être si difficile à faire* ». En « éliminant » les gènes un par un, lui et ses collègues ont identifié systématiquement tous les gènes responsables de la photosynthèse chez *Setaria viridis*, une petite herbacée en C₄ à croissance rapide. Si tous les gènes qu'ils ont découverts sont aussi présents dans les plantes de type C₃, ils ne sont pas utilisés de la même façon. P. Quick et son équipe espèrent comprendre quels sont les mécanismes moléculaires chez le riz qui devraient permettre d'activer les gènes exprimant le métabolisme C₄. « *Il faudra au moins quinze ans pour y arriver, estime-t-il. Nous en sommes à la quatrième année.* » S'ils réussissent, les mêmes techniques pourraient améliorer la productivité des pommes de terre, du blé et d'autres plantes de type C₃. Ce serait une chance sans précédent pour la sécurité alimentaire ; en théorie, les rendements pourraient augmenter de 50 %.

OGM : une nouvelle révolution verte pour nourrir la planète ? Publié le 17 novembre 2014 Tags : Alimentation . OGM.

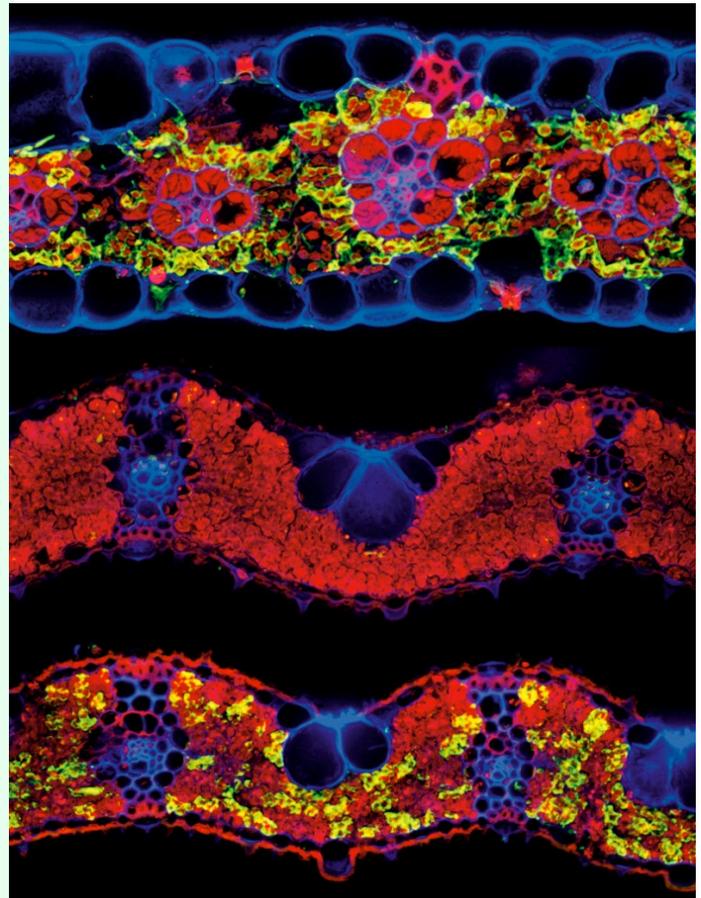


Figure 14. Sur la coupe transversale agrandie d'une feuille de maïs (en haut), les protéines de la photosynthèse apparaissent en vert fluo. Le riz ordinaire (au centre) n'en fabrique aucune, contrairement à du riz OGM (en bas).

Photo extraite du web novembre 2014.
<http://www.nationalgeographic.fr/13531-ogm-une-nouvelle-revolution-verte-pour-nourrir-la-planete/>

12 - Conclusion

En conclusion on peut dire que la grande avancée des plantes de photosynthèse C4 est de présenter des caractères physiologiques et agronomiques intéressants en particulier sous fort éclairage et température élevées : meilleure productivité et économie d'eau et d'azote. Ceci est dû essentiellement au mécanisme efficace de fixation primaire du carbone atmosphérique par les PEPcases de mésophylle sous forme de composés C4, de leur transfert efficace aux cellules de la gaine périvasculaire où ils sont décarboxylés (malate notamment) ce qui augmente en conséquence la concentration de CO₂ aux sites catalytiques de la Rubisco. Dans les cellules de la gaine périvasculaire, l'activité carboxylase de la Rubisco se trouve ainsi favorisée aux dépens de l'activité oxygénase. De plus la structure en manchons emboîtés les uns dans les autres facilite les échanges (nombreux plasmodesmes) tout en limitant les pertes d'eau et empêche toute fuite de CO₂ issu d'une quelconque photorespiration *via* les PEPcases du mésophylle. Enfin, la structure C4, rendant plus efficace l'activité carboxylase de la Rubisco, permet à la plante de limiter les quantités de cette enzyme (enzyme de haut poids moléculaire contenant beaucoup d'azote) dans ses tissus et d'économiser ainsi une grande quantité d'azote. Ce sont des atouts intéressants à une époque où les fertilisants azotés, dont l'usage est contraint pour de raisons environnementales, sont chers et où des changements climatiques importants capables de modifier la température et la pluviométrie se révèlent.

Après les premiers essais d'hybridation de plantes C3/C4 d'un même genre en début des années 1970 et les essais plus récents de transgénèse (surexpression de gènes de PEPcases par exemple), les généticiens et les physiologistes, faute des résultats spectaculaires, sont restés un temps sur leur déception et n'ont pas poursuivi les recherches sur la transformation des plantes C3 en C4. Les nouvelles générations de chercheurs, plus optimistes peut-être et surtout bénéficiant des avancées de la génomique et des nouvelles méthodes de transformation des plantes, s'attaquent à nouveau à ce grand projet, transformer génétiquement les plantes C3 de grand intérêt agronomique en plantes C4, plus productives et plus économes en intrants. La tâche est difficile mais vaut la peine d'être entreprise. C'est un énorme défi. Les chercheurs les plus raisonnables et optimistes pensent qu'il sera possible d'obtenir un riz C4 plus ou moins fonctionnel dans les prochaines années mais que la création d'un riz C4 vraiment efficace, cultivable en champs, demandera encore une bonne quinzaine d'années. De grands consortiums de biologie végétale (IRRI notamment) sont engagés dans cette recherche, car le riz est une des plantes les plus consommées directement par les humains. Ce type d'approche pourrait être étendu ensuite à d'autres graminées de grande culture comme le blé, l'orge, la pomme de terre, etc. pour en améliorer la production, en particulier dans les régions chaudes (dans les régions subtropicales ou méditerranéennes par exemple) où les manques d'eau au cours de la végétation peuvent apparaître suite aux changements climatiques attendus (Covshoff and Hibbert, 2012 ; Miyao *et al.*, 2011).

Remerciements

L'auteur remercie les Editions Dunod qui l'ont autorisé à reproduire dans cet article plusieurs illustrations extraites du livre « Biologie végétale, tome II: Croissance et Développement » Editions Dunod (2009), 216 pp. L'auteur remercie également J-C Pernollet et J-L Prioul qui ont accepté de relire et corriger ce texte et ont apporté de nombreuses suggestions pertinentes.

Bibliographie

- Ambavaram M.M.R., Krishnan S.B.A., Ramegowda V., Batlang U., Rahman L., Baisakh N. and Pereira A. (2014). Coordinated regulation of photosynthesis in rice increases yield and tolerance to environmental stress. *In Nature Communications*, DOI 10.1038/ncomms 6302,13 pp.
- Björkman O., Nobs M., Pearcy R., Boynton J., Berry J. (1971). Characteristics of hybrids between C3 and C4 species of *Atriplex*. In: Hatch MD, Osmond, CB, Slatyer RO, eds. *Photosynthesis and Photorespiration*. New York: Wiley-Interscience Publishing, 105-119.
- Brangeon J. (1973). Effect of irradiance on granal configurations of *Zea mays* bundle sheath chloroplasts. *Photosynthetica* 7: 365-372.
- Brown R.H. and Bouton J.H. (1993). Physiology and genetic of interspecific hybrids between photosynthetic types. *R. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44 : 435-456.
- Brutnell, T.P., Wang L., Kerry Swartwood K., Goldschmidt A., Jackson D., Zhu X-G, Kellogg E., and Van Eck J. (2010). *Setaria viridis* : A Model for C4 Photosynthesis. *The Plant Cell*, Vol. 22: 2537-2544.
- Calvin M. (1962). The path of carbon in photosynthesis. *Science* 135: 879-889.
- Covshoff, S. and Hibberd J.M. (2012). Integrating C4 photosynthesis into C3 crops to increase yield potential. *Current Opinion in Biotechnology* 23: 209-214.
- Farineau J., Morot-Gaudry J-F. (2011). *La Photosynthèse: Processus Physiques, Moléculaires et Physiologiques*. Editions INRA, 403 pp.
- Friso, G., Majeran, W., Huang, M., Sun, Q., and van Wijk, K.J. (2010). Reconstruction of metabolic pathways, protein expression, and homeostasis machineries across maize bundle sheath and mesophyll chloroplasts: Large-scale quantitative proteomics using the first maize genome assembly. *Plant Physiol.* 152: 1219-1250.
- Häusler R., Hirsch H-J., Kreuzaler F., and Peterhänsel C. (2002). Overexpression of C4-cycle enzymes in transgenic C3 plants: a biotechnological approach to improve C3 photosynthesis. *J. Exp. Bot.* 53: 591-607.
- Hatch M.D. and Slack C.R. (1966). Photosynthesis by sugarcane leaves; A new carboxylation reaction and the pathway of sugar formation. *Biochem J.* 101: 103-111.
- Hatch M.D. and Slack C.R. (1970). Photosynthetic CO₂-fixation pathways. *Ann.Rev. Plant Physiol.*21: 141-162.
- Kajala, K., Brown, N.J., Williams, B.P., Borrill, P., Taylor, L.E., and Hibberd, J.M. (2011). Multiple *Arabidopsis* genes primed for recruitment into C4 photosynthesis. *Plant J.* <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04769>.
- Karki S., Rizal G. and Quick W.P. (2013). Improvement of photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) by inserting the C4 pathway. <http://www.thericejournal.com/content/6/1/28>
- Ku M. S. B., Agarie S., Nomura M., Fukayama H., Tsuchida H., Ono K., Hirose S., Toki S., Miyao M., Matsuoka M. (1999). High-level. Expression of maize phosphoenolpyruvate carboxylase in transgenic rice plants. *Nat. Biotech.* 17: 76-81.
- Laetsch W.M. (1974). The C4 syndrome: a structural analysis. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 25: 27-52.
- Langdale J. A. (2011) C4 Cycles: Past, Present, and Future Research on C4 Photosynthesis. *Plant Cell.* 23: 3879-3892.
- Lekshmy S. (2013). Conversion of C3 to C4 Plants : The Case of C4 Rice. *Biotech Articles* (Articles Online), 3 pp.
- Lin M.T., Occhialini A., Andralojc P.J., Parry M.A.J., Hanson M.R. (2014). A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops. *Nature* 513: 547-550.
- Lorimer G.H. (1981). The carboxylation and oxygenation of ribulose 1,5-bisphosphate: The primary events in photosynthesis and photorespiration. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 32: 349-383.

- Miyao M., Masumoto C., Miyazawa S., H. Fukayama H. (2011). Lessons from engineering a single-celled C4 photosynthetic pathway into rice. *J. Exp. Bot.* 62: 3021-3029.
- Morot-Gaudry J-F. (2009). *Biologie Végétale : Nutrition et Métabolisme*. Editions Dunod, 216 pp.
- Oakley J.C., Sultmanis S., Stinson C.R., Sage T.L., Sage R.F. (2014). Comparative studies of C3 and C4 Atriplex hybrids in the genomics era: physiological assessments. *J. Exp. Bot.* 65 : 3637-3647.
- Ogren W.L. (1984). Photorespiration/ pathways, regulation, and modification? *Annu. Rev. Plant Physiol.*, 35: 415-442.
- Quebedeaux B. and Hardy R.W.F. (1975). Reproductive Growth and Dry Matter Production of *Glycine max* (L.) Merr. in Response to Oxygen Concentration. *J.Plant. Physiol.*163: 529-537.
- Quick P. (2014). <http://www.nationalgeographic.fr/13531-ogm-une-nouvelle-revolution-verte-pour-nourrir-la-planete/>
- Wang Q. Zhang Q., Fan D., Lu C. (2006). Photosynthetic light and CO₂ utilization and C₄ traits of two novel super-rice hybrids. *J. Plant Physiol.* 163: 529-537.
- Rawsthorne S. (1992). C3-C4 intermediate photosynthesis: linking physiology to gene expression. *Plant J.* 2: 267-274.
- Sage R.F. (2004). The Evolution of C4 Photosynthesis. *New Phytologist*, 161: 341-370.
- Sakhare A. (2014). NO Signaling Molecule in Plants. *Biotech Articles* (Articles Online) 4 pp.
- Sheen J. (1999). C4 gene expression . *Ann. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol.* 50 : 187-218.
- Sheen J.Y., Bogorad L. (1985). Differential expression of the ribulose phosphate carboxylase large subunit gene in bundle sheath and mesophyll cells of developing maize leaves is influenced by light. *Plant Physiol.* 79: 1072-1076.
- Tolbert N.E. (1997). The C2 oxydative photosynthetic carbon cycle. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 1-25.
- von Caemmerer S., Quick W. P., Furbank R. T. (2012). Development of C4 Rice: Current Progress and Future Challenges. *Science* 336 : 1671-1672.

Ouvrages à consulter :

- G. Ducreux (2002). *Introduction à la Botanique*. Editions Belin-Sup, 256 pp.
- J. Farineau et JF Morot-Gaudry (2011). *La photosynthèse : processus physiques, moléculaires et physiologiques*. Editions QUAE, 403 pp.
- J-F. Morot-Gaudry *et al.* (2009). *Biologie végétale, tome I : Nutrition et métabolisme*. Editions Dunod, 214 pp.
- B. SAUGIER (2013). *Production agricole et ressources naturelles : vers une agriculture plus écologique. Potentiels de la Science pour l'avenir de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement*, Académie d'Agriculture de France, 22 pp. <http://www.academie-agriculture.fr/groupe-de-reflexion/potentiels-de-la-science-pour-lavenir-de-lagriculture-de-lalimentation-et-de>
- L. Taiz et E. Zeigler (2006). *Plant Physiology* (4^{ème} édition) Sinauer Associates, Inc, Publishers, 764 pp.