



Nutrition minérale des plantes : aspects moléculaires

Jean-François Morot-Gaudry

Directeur de Recherches Honoraire, INRA, France

Manuscrit révisé le 15 octobre 2012 - Publié le 28 octobre 2013

Manuscrit complété le 4 janvier 2016

Résumé : Les racines font l'objet d'un nouvel intérêt. Les approches moléculaires et de génomique ont permis d'identifier et d'isoler les principaux gènes impliqués dans les mécanismes d'assimilation des éléments minéraux, potasse, phosphate, azote, fer et oligoéléments sans oublier l'eau. Ces nouvelles technologies ont également permis de comprendre comment les racines se développent et de repérer les gènes responsables de leur forme dans différents environnements et tout au cours de leur développement. Ces approches ont concerné également les associations racines/micro-organismes (champignons et bactéries), souvent sous la forme de symbiose, c'est-à-dire association étroite à bénéfice mutuel (mycorhizes et bactéries fixatrices d'azote gazeux).

Les techniques de génétique classique et de transgénèse ont permis de transférer ces gènes dans les plantes de grandes cultures et d'en améliorer leur capacité à assimiler les ions minéraux, permettant soit de réduire les apports externes de fertilisants, soit de les cultiver sur des milieux défavorisés, tout en assurant des rendements économiquement acceptables. Il est désormais possible de cibler les gènes d'intérêt impliqués dans les mécanismes de nutrition minérale et de créer des plantes à la demande.

Beaucoup d'inconnues persistent toutefois et des efforts de recherche sont à poursuivre car les régulations biologiques sont extrêmement complexes et l'introduction d'un gène unique dans le génome d'une plante n'amène pas obligatoirement au but escompté. Cependant, les premiers résultats obtenus sont encourageants et on peut espérer à terme obtenir par les techniques modernes de génétique des plantes plus économes en intrants et capables de se développer sur des sols relativement pauvres en éléments minéraux. Ceci est conforme à une agriculture durable, économiquement rentable et respectueuse de l'environnement, à une période où les besoins en nourriture de la planète augmentent et où la disponibilité en terres arables reste à peu près constante.

Mineral nutrition of plants: molecular aspects

Summary: Roots are the subject of renewed interest. Molecular approaches and genomic data have enabled the identification and isolation of genes involved in the main assimilation pathways of the minerals, potassium, phosphate, nitrogen, iron and trace elements, as well as water. These new technologies have also increased our understanding of how roots grow and have identified the genes responsible for the development of root structure in different environments. Other approaches have also included root associations with fungi and bacteria, often in the form of symbioses with mutual benefit, such as mycorrhizae and nitrogen-fixing bacteria. Classical genetics and modern molecular techniques have allowed the transfer of genes into field crops in order to improve their ability to take up mineral ions. Such gene transfers could result in a reduction in the external input of fertilizers, or cultivation on low nutrient soils, thus ensuring acceptable yields and reasonable economic returns. It is now possible to target genes of interest involved in the regulation of mineral nutrition and create plants on demand. However, many unknowns remain and research effort needs to continue, as biological regulation mechanisms are extremely complex and the introduction of a single gene into the genome of a plant does not necessarily lead to the desired goal. However, the first results are encouraging and it is hoped that it will be possible to obtain new plants that have reduced mineral inputs and are able to grow on relatively poor soils. This is consistent with sustainable agriculture that is economically profitable and environmentally responsible, at a time when the world demand for food is rising and the availability of arable land remains constant.

1 Les racines

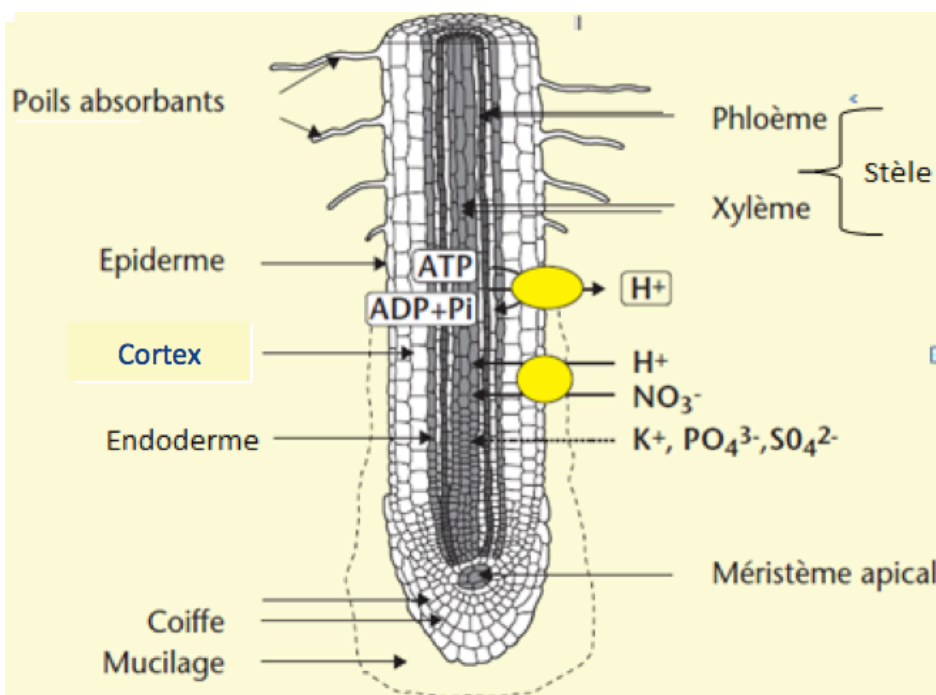
Les racines, organes généralement souterrains, non seulement ancrent le végétal à son substrat mais assurent également l'alimentation de la plante en eau et en éléments nutritifs. Les plantes ne pouvant pas, par définition, se déplacer comme un animal, les racines leur permettent d'aller au-devant de leur nourriture, dans un environnement donné. Les racines ont aussi d'autres fonctions comme la synthèse et la mise en réserve de molécules indispensables pour le développement du végétal.

Dans les champs, les *racines* forment un enchevêtrement très dense. Sous un pied de maïs, on a pu comptabiliser par exemple 15 à 30 km de racines. D'une manière générale, suivant le type de plante, de sol, de conditions environnementales et de culture, ce sont entre 20 000 et 100 000 km de racines qui cheminent sous un hectare de sol. Les racines peuvent aussi améliorer ces performances d'exploration du sol en s'associant à des organismes du sol : bactéries,

champignons et autres invertébrés. L'association symbiotique entre des champignons et le système racinaire (mycorhizes) ou celle qui implique des bactéries fixatrices d'azote et les racines des légumineuses ou fabacées (formation de nodosités) améliorent grandement le prélèvement du phosphore et de l'azote. Dans ce dernier cas, les bactéries (Rhizobiacées) sont même capables de réduire directement l'azote de l'air.

Figure 1. Coupe longitudinale de la racine.

La jeune racine se caractérise par une structure tissulaire concentrique caractéristique ; du centre à l'extérieur : le cylindre central ou stèle, entouré par le péricycle (non représenté), collé à l'endoderme qui sépare le cylindre central du cortex ou parenchyme cortical et l'épiderme ou rhizoderme. La pointe de la racine se termine par une coiffe entourée de mucilage. La surface de contact des racines avec le sol peut être très significativement augmentée par la



différenciation de poils absorbants (structure unicellulaire de 6 à 8 mm de longueur sur 10 à 15 µm d'épaisseur), à partir de certaines cellules rhizodermiques situées à la pointe des racines. Ces structures très denses (500 à 2 000 par cm²) jouent surtout un rôle crucial pour l'absorption de sels minéraux. Elles constituent l'interface entre la plante et le sol (Morot-Gaudry et al. 2007).

2 La nutrition minérale de la plante

La nutrition minérale de la plante concerne l'ensemble des mécanismes impliqués dans le prélèvement, le transport, le stockage et l'utilisation des ions minéraux nécessaires au métabolisme et à la croissance de la plante. Rappelons que la fonction de nutrition minérale représente une originalité majeure du monde végétal. Dans les écosystèmes terrestres, les plantes sont la principale voie d'entrée des ions minéraux nutritifs dans la biosphère et les chaînes alimentaires qui conduisent à l'homme. Autrement dit, ces ions quittent le monde minéral du sol pour entrer dans le monde vivant au moment où ils sont prélevés par les systèmes d'absorption de la membrane plasmique des cellules racinaires. On parle alors d'autotrophie à l'azote, au soufre, au fer, etc. Les connaissances acquises dans ce domaine sont utilisées pour gérer au mieux la fertilisation des cultures, de façon rationnelle et durable.

Les performances hydrominérales du système racinaire des plantes cultivées peuvent être améliorées, soit en jouant sur les capacités d'absorption, de stockage et de synthèse des racines, soit en modifiant la structure et la morphologie du chevelu racinaire, soit enfin en modifiant leur environnement proche (sécrétion de composés organiques). Il est admis

actuellement que les racines sont les clés de la deuxième révolution verte, celle qui s'affranchira partiellement des intrants rares et coûteux qui sont connus pour polluer l'environnement lorsqu'ils sont apportés en excès.

3 Les systèmes de transport racinaires

Les capacités de prélèvement des ions dépendent des systèmes de transport des racines. Les membranes biologiques qui délimitent les cellules et les compartiments intracellulaires des tissus racinaires, sont constituées d'une bicouche lipidique. Les ions métalliques, ne pouvant pas traverser le cœur hydrophobe que constituent les lipides membranaires, passent *via* des protéines de la membrane, dénommées *transporteurs*, enchâssées dans la bicouche lipidique. On distingue habituellement les *transporteurs passifs*, comme les canaux ioniques, qui offrent une voie de passage qu'emprunte l'ion dans le sens favorable du gradient électrochimique, et les *transporteurs actifs* qui réalisent un couplage énergétique permettant à l'ion de se déplacer dans le sens défavorable. Dans ce cas, l'énergie est fournie par la dissipation du gradient électrochimique d'un autre soluté ; on parle alors de transporteurs actifs secondaires

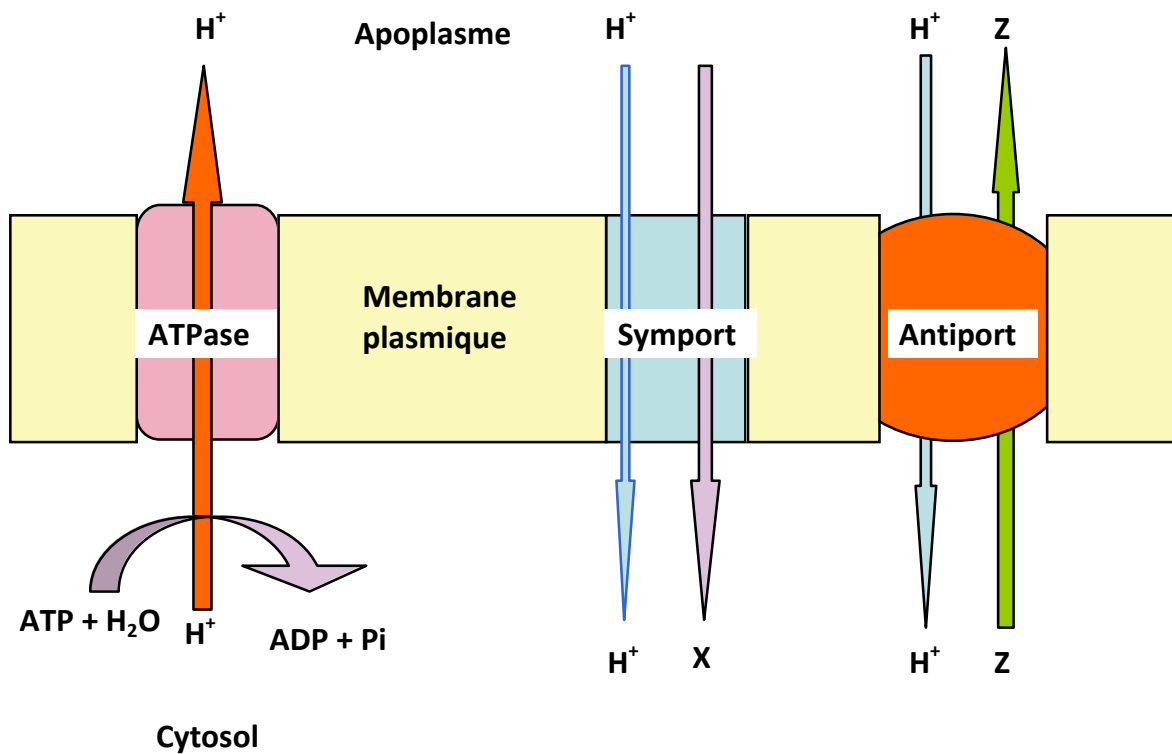


Figure 2. Principe de fonctionnement des transports actifs secondaires de la membrane plasmique, formée d'une bicouche lipidique dans laquelle sont enchâssés les pompes ioniques et les transporteurs d'ions. Les ions sont transportés activement soit dans le sens de l'influx (X) soit dans le sens de l'efflux (Z). L'ATPase, pompe à protons H^+ , génère un gradient de H^+ à travers la membrane. Le gradient est alors utilisé pour diriger un flux d'ions H^+ dans leur compartiment d'origine. Au niveau des transporteurs de ces ions, le flux de retour spontané des H^+ est couplé soit à l'entrée active de l'ion X (symport), soit à la sortie active de l'ion Z (antiport). H. Sentenac, *in* J.F. Morot-Gaudry, *Biologie Végétale I Nutrition et Métabolisme*, Editions Dunod, pp 35-48.

Canaux ioniques

Un **canal** est un système qui passe d'un état inactif (fermé) à un état actif (ouvert) par un changement conformationnel, impliquant la modification de la structure spatiale de la protéine enchâssée dans la membrane cellulaire conduisant à l'ouverture d'un pore aqueux (hydrophile) en son sein. Un autre changement conformationnel le fait ensuite passer de l'état ouvert à l'état fermé. Tant qu'il se trouve à l'état ouvert, un canal permet à un flux continu d'ions (10^7 ions transportés par seconde) de passer à travers la membrane, sans procéder à un changement conformationnel à chaque fois qu'un ion le traverse. Ce système de transport est très efficace, mille fois plus efficace que le transport par les pompes ioniques et les systèmes de co-transport.

Deux types de système de transport sont capables de réaliser un transport actif, les pompes ioniques et les systèmes de co-transport. Une **pompe ionique** est définie comme un système de transport dont le fonctionnement implique l'hydrolyse, à chaque cycle de transport, d'une liaison covalente riche en énergie. Parmi ces pompes ioniques nous trouvons par exemple, les ATPases de type P (ATPase pompes à protons (H^+) ou à Ca^{2+}), présentes dans la membrane plasmique, et les ATPases de type V et des pyrophosphatases (H^+ -PPase) constituant les pompes à H^+ de la membrane vacuolaire. Les **systèmes de transports actifs secondaires** (symport ou antiport) impliquent le fonctionnement d'une pompe à protons primaire (dépendante de l'ATP ou du pyrophosphate PP_i) et celui d'un transporteur spécifique d'ion (ou de soluté organique) qui transporte également des protons. L'ion (ou le soluté) est transporté de manière active grâce à l'énergie fournie par le gradient de protons qui joue le rôle d'intermédiaire énergétique. Un **transporteur** est donc un système qui change d'état conformationnel à chaque fois qu'il transporte un substrat (ou cotransporte deux substrats).

impliquant un passage couplé de co-substrats dans le même sens (symport) ou opposé (antiport) ; c'est, par exemple, le cas du transport du nitrate et du fer (Figure 2).

Depuis une décennie, les nouvelles techniques d'analyse du génome, relativement rapides, dites à haut débit, permettent d'accumuler une immense quantité de données et de modéliser des phénomènes complexes dans des conditions environnementales données. Ces technologies sont appropriées pour appréhender les mécanismes de nutrition hydrominérale des plantes. Les premières approches de génomique sur les racines permettent d'identifier et de sélectionner des gènes susceptibles d'optimiser l'absorption de l'eau et des éléments minéraux, azote et phosphore notamment, et de mieux résister à certaines contraintes du sol : sécheresse, toxicité aluminique, acidité par exemple. Voici quelques exemples récents.

3-1 Transport de l'eau : les aquaporines

Les plantes se doivent de maintenir leur équilibre hydrique, tout au long de leur développement et dans des conditions environnementales parfois sévères. Au début des années 1990, les biologistes ont identifié chez les plantes des canaux hydriques, appelés aquaporines, facilitant la diffusion de l'eau, de cellules à cellules, au travers des membranes biologiques. Les aquaporines ont une capacité de transport tout à fait remarquable, avec un flux d'eau dans leur pore de l'ordre de 10^9 molécules par seconde (Maurel et al. 2008). Les aquaporines appartiennent à la superfamille des Major

Intrinsic Protein (MIP). Ces protéines sont présentes chez quasiment tous les organismes vivants (bactéries, animaux et plantes). Les aquaporines de plantes se distinguent par un nombre important d'isoformes. Ainsi, le génome de la plante modèle *Arabidopsis thaliana* et celui du riz comptent, respectivement, 35 et 33 gènes différents d'aquaporines. Chez ces espèces, les aquaporines se subdivisent en quatre sous-familles selon l'homologie de leurs séquences. Cette classification traduit aussi, dans une certaine mesure, des localisations sub-cellulaires différentes. On distingue ainsi quatre types d'aquaporines :

- les Plasma Intrinsic Proteins (PIP), dont certaines isoformes ont été localisées sur la membrane plasmique,
- les Tonoplast Intrinsic Proteins (TIP), localisées au niveau du tonoplaste (membrane de la vacuole),
- les Nodulin26-like Intrinsic Proteins (NIP) possédant une forte homologie avec l'aquaporine Noduline 26 de la membrane pér bactéroidienne de nodule racinaire de soja. Chez les plantes non-légumineuses, les NIP ont été localisées au niveau du réticulum endoplasmique ou de la membrane plasmique,

- les Small basic Intrinsic Proteins (SIP) découvertes lors de l'annotation du génome et dont certaines isoformes ont été récemment localisées au niveau du réticulum endoplasmique.

Cette forte diversité peut en partie s'expliquer par des différences dans le profil d'expression de ces aquaporines. Certaines isoformes sont exprimées dans tous les organes de la plante alors que d'autres ne sont exprimées que dans certains tissus ou à certains stades de développement (Maurel et al. 2008).

C'est dans la racine que ces mécanismes ont été les mieux décrits. Par exemple, l'inondation des sols en hiver dans les zones tempérées ou après irrigation en période sèche provoque, au niveau des racines, une carence aiguë en oxygène appelée anoxie (Figure 3). On sait depuis quelques années que ce type de stress, tout comme la sécheresse ou la salinité des sols, affecte l'absorption d'eau par les racines. Il est démontré

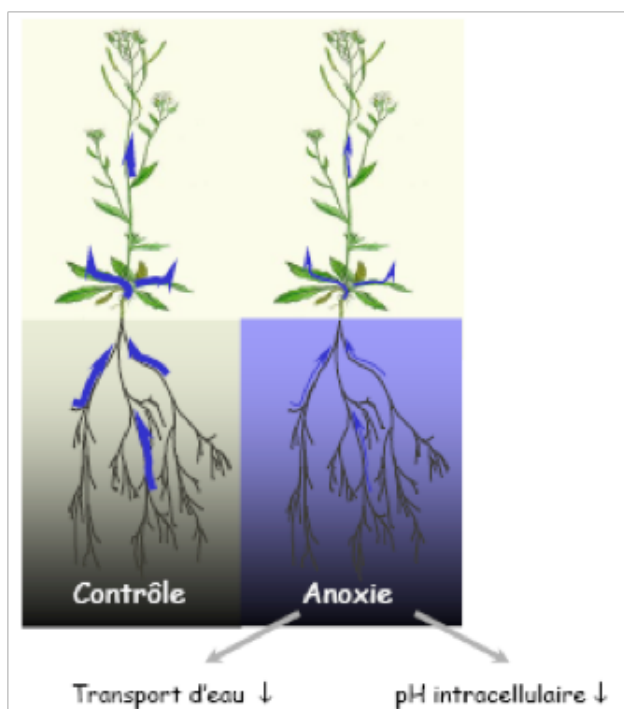


Figure 3. Régulation du transport racinaire d'eau en situation de stress anoxique. Ce type de stress, induit notamment par une inondation du sol, mène à une baisse du pH intracellulaire. Une des conséquences directes de cet effet est une inhibition de l'activité des aquaporines et donc une réduction de l'absorption racinaire d'eau (C. Maurel, communication personnelle).

que le blocage complet du transport racinaire d'eau en condition d'anoxie est strictement lié à une acidification du milieu interne des cellules, acidification qui découle du déséquilibre métabolique général engendré par le manque d'oxygène. Dans ce cas, et de manière très originale, cette acidification sert de signal pour provoquer directement la fermeture des aquaporines PIP localisées sur la membrane plasmique des cellules. Cette propriété de régulation découle d'un caractère structural spécifique des aquaporines PIP. Dans le cas d'un traitement salin, en revanche, les mécanismes en jeu sont très différents. Ils impliquent une relocalisation cellulaire des aquaporines PIP, liée à un stress oxydant induit par le sel.

En complément de leur fonction de transport d'eau, certaines aquaporines peuvent transporter des petits nutriments neutres (bore, silicium) ou des gaz tel que le dioxyde de carbone (CO₂). Des approches génétiques et pharmacologiques mettent en évidence une fonction très complexe des aquaporines dans les feuilles : elles réguleraient les caractéristiques hydrauliques des tissus internes, notamment en fonction du régime lumineux. Elles favoriseraient aussi la diffusion du CO₂ jusque dans le chloroplaste. Ces exemples illustrent comment l'étude des aquaporines implique une approche intégrative des grands processus physiologiques de la plante (Maurel et al. 2008).

Enfin, il a été montré récemment que les aquaporines intervenaient dans le développement racinaire. Lorsqu'une ramification racinaire apparaît, la racine secondaire se forme à partir de couches cellulaires profondes de la racine primaire. Pour émerger, elle doit se frayer un passage au travers des cellules de cette dernière. Des chercheurs français, britanniques et allemands ont montré récemment que, par l'intermédiaire des aquaporines et de l'hormone auxine, la plante contrôle très précisément les flux d'eau à travers ces différents tissus. Ainsi, dans les zones de ramification, l'eau se concentre dans la racine secondaire en expansion, ce qui permet à ces cellules de gonfler et de repousser mécaniquement les cellules de la racine primaire qui les recouvrent. Cet apport d'eau se fait au détriment des couches superficielles de la racine primaire, dont la résistance mécanique se réduit. Ce mécanisme, grâce à une hormone végétale et aux protéines régulant le passage de l'eau, permet l'émergence des racines secondaires (Péret et al. 2012).

Ces approches sont difficiles à mener et les cibles moléculaires soupçonnées d'être efficaces ne sont pas aisées à identifier. C'est le cas de maïs résistant à la sécheresse chez lequel une protéine SSPP (de type chaperonne), isolée à partir de la bactérie *Bacillus subtilis*, se lie aux ARN de la cellule afin de faciliter leur fonction. Des recherches récentes, menées conjointement par Monsanto et BASF, ont démontré dans les grandes plaines du Middle Ouest américain que l'introduction du gène *SSPP* permet à ces maïs transgéniques de faire face à la sécheresse et de stabiliser leur rendement dans ces conditions difficiles d'environnement. Pour compléter ces approches, les semenciers recherchent actuellement des sources de tolérance à la sécheresse dans la diversité génétique naturelle existant à l'intérieur de chaque espèce

cultivée, essayant d'identifier les allèles qui confèrent aux plantes des caractéristiques favorables dans ces conditions de culture. Ce type d'approche nécessite de mettre en place des systèmes de séquençage et de génotypage sur un grand nombre de plantes cultivées dans les conditions les plus diverses. C'est un énorme travail qui demande des moyens considérables.

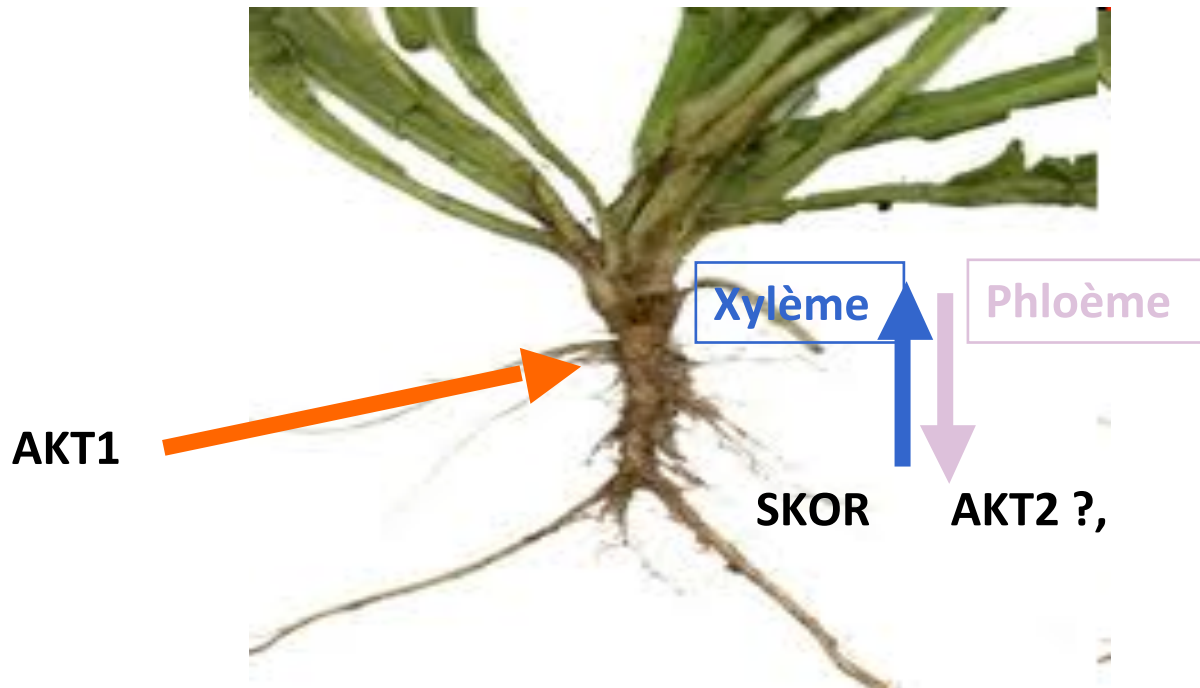


Figure 4. Canaux Shaker impliqués dans le transport de K^+ dans la racine d'*Arabidopsis thaliana*. Canal AKT1 impliqués par exemple dans le prélèvement de K^+ à partir du sol, canal SKOR dans son chargement dans la sève xylémienne, canal AKT2 dans a circulation de K^+ par le phloème. D'autres expérimentations ont montré que l'altération de gènes codant des transporteurs racinaires et plus exactement des antiports (gènes Na^+/H^+ , NHX5 et NHX6) ou des phosphatases (gène AVP1 qui code une H^+ pyrophosphatase) se traduit par des perturbations du trafic vacuolaire des ions Na^+ et K^+ et, en conséquence, du gradient électrochimique de protons, du potentiel hydrique, de la régulation du pH et du volume cellulaires et donc des mécanismes impliqués dans l'expansion cellulaire, c'est-à-dire la croissance et la résistance à la contrainte saline. Des chercheurs américains ont obtenu ainsi des variétés de coton plus productives aux champs produisant des fibres de meilleure qualité (Bassil et al. 2011, Pasapula et al. 2011).

3-2 Transport du potassium et du sodium

Le potassium K^+ est, avec l'azote et le phosphore, l'un des trois macro-nutriments des plantes. K^+ est un cation abondant, très mobile, dissous dans le milieu intracellulaire, notamment dans la vacuole où il s'accumule à des concentrations jusqu'à cent fois supérieures à celle du milieu. Il joue un rôle majeur dans l'équilibre acido-basique cellulaire, la neutralisation électrostatique des charges anioniques (accompagnateur de l'anion nitrate NO_3^-), la polarisation électrique des membranes, le potentiel osmotique et la turgescence cellulaire. Chez les plantes, le potassium est impliqué dans l'élongation cellulaire, la croissance, les tropismes et les mouvements des cellules de garde qui régulent la perte d'eau par transpiration. Le prélèvement de K^+ à partir du sol, sa distribution dans la plante et sa compartimentation, impliquent de nombreux systèmes de transport membranaire.

Les approches de génomique moléculaire ont montré qu'au moins 35 gènes, appartenant à cinq familles différentes, codent des systèmes de transport membranaire de K^+ chez *A. thaliana*. L'analyse du génome de cette plante modèle a révélé en particulier que neuf gènes codent des canaux de type Shaker, types de canaux très sélectifs de K^+ , communs aux plantes et aux animaux (gènes impliqués dans le transport synaptique). Les analyses phylogénétiques indiquent que cette famille est très conservée chez les plantes, à la fois en terme de structure et de propriétés fonctionnelles. L'utilisation de lignées mutantes d'*A. thaliana* invalidées dans l'expression des gènes de canaux Shaker a permis de préciser la fonction de ces différents canaux. Les canaux Shaker (Figure 4) sont impliqués par exemple dans le prélèvement de K^+ à partir du sol (canal AKT1), dans son chargement dans la sève xylémienne (canal SKOR), la circulation de K^+ par le phloème et dans les mouvements stomatiques (canal AKT2) (Very et al. 2003).

Récemment des chercheurs australiens (Munns et al. 2012) ont isolé, dans une variété ancienne de blé, un gène impliqué dans le transport spécifique du sodium (uniport), le gène racinaire *TmHKT1;5-A*, qui, introduit par des techniques classiques de génétique dans une lignée commerciale moderne de blé, entrave le chargement en sodium dans le xylème et son transport vers les feuilles, réduisant ainsi l'accumulation de Na^+ dans celles-ci, ce qui permet d'améliorer de 25% le rendement de cette variété comparée aux variétés classiques cultivées sur des sols salés.

3-3 Absorption et transport du nitrate

L'azote, élément constitutif de toutes les protéines donc déterminant de la croissance des plantes, est très souvent limitant dans les sols et, de ce fait, il est nécessaire d'apporter un complément azoté sous forme d'engrais. L'efficacité de l'utilisation de l'azote par la plante dépend de sa performance dans chacune des étapes de la voie d'assimilation : le prélèvement de l'azote par le sol, la réduction et la métabolisation, le stockage et/ou son utilisation immédiate et sa mobilisation à certains stades du développement ou en réponse à des contraintes de l'environnement. Rappelons que l'excès d'apport d'engrais azoté, non utilisé par les plantes, sous forme d'anion très soluble, le nitrate NO_3^- , est responsable de la pollution des nappes phréatiques et des cours d'eau. De plus, l'apport externe d'azote, sous forme d'engrais, est très coûteux (environ 50% du coût énergétique des cultures).

La concentration en nitrate des sols peut varier de plusieurs ordres de grandeur, de quelques micromolaires à plusieurs millimolaires. Les plantes ont ainsi développé des systèmes d'absorption adaptés aux différentes concentrations rencontrées. Les études des cinétiques d'absorption du nitrate à l'aide d'un isotope stable de l'azote (^{15}N), en fonction de la concentration en nitrate externe, ont mis en évidence dans les racines deux systèmes de transport (transport actif secondaire qui utilise l'énergie du gradient de protons généré par une ATPase pompe à protons), l'un à haute et l'autre à basse affinité. Le premier fonctionne pour

des concentrations en nitrate externe inférieures à 1 mM et le second pour des concentrations supérieures à 1-2 mM. A chaque système de transport correspondent plusieurs gènes codant des transporteurs différents. Chez *A. thaliana*, deux familles de gènes codent des protéines qui partagent la même structure comportant douze segments transmembranaires. Les gènes NRT1 (plus de 50 gènes apparentés à NRT1) codent principalement des transporteurs fonctionnant à des concentrations en NO_3^- supérieures à 1 mM. Les gènes NRT2 (sept gènes NRT2 chez *A. thaliana*) codent des transporteurs fonctionnant pour des concentrations en NO_3^- inférieures à environ 500 μM (Orsel et al. 2002).

Le nitrate est réduit ensuite en nitrite NO_2^- par la nitrate réductase (NR) et le nitrite formé est réduit à son tour en ammonium NH_4^+ par la nitrite réductase (NiR), selon les réactions suivantes (Meyer et Stitt, 2001), le NAD(P)H et la ferrédoxine réduite Fd_{red} (protéine à base de soufre et de fer impliquée dans les mécanismes d'oxydo-réduction) étant les molécules réductrices :



L'intégration de l'ion ammonium à une molécule carbonée fait intervenir deux enzymes, la glutamine synthétase (GS) et la glutamate synthase (GOGAT pour glutamate oxoglutarate amino transférase) (Hirel et Lea, 2001). Ces enzymes interviennent séquentiellement pour catalyser les deux réactions suivantes :

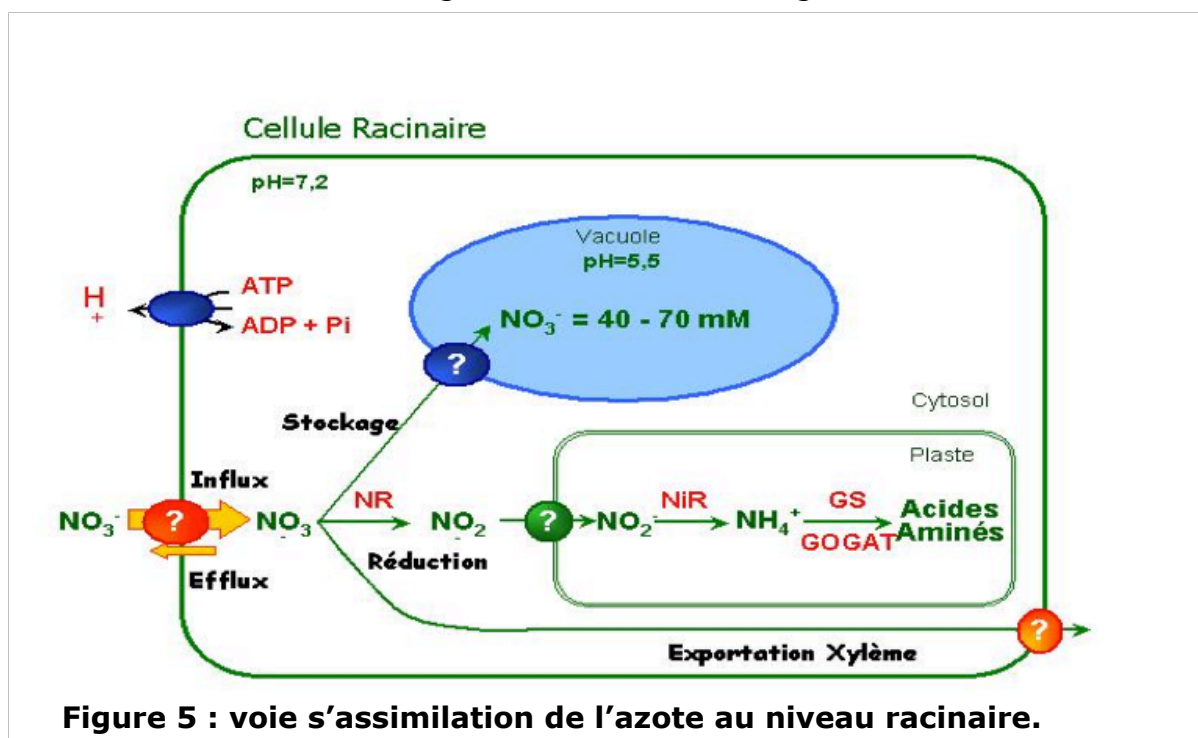
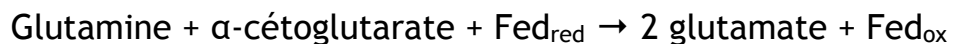
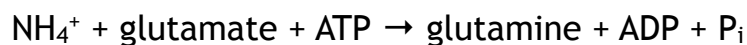


Figure 5 : voie s'assimilation de l'azote au niveau racinaire.

NR : nitrate réductase ; NiR : nitrite réductase ; GS : glutamine synthétase ; GOGAT : glutamate synthase (Morot-Gaudry et al. 2007).

La figure 5 résume les réactions en jeu. La glutamine synthétase (GS), en présence d'ion ammonium et d'ATP, convertit une molécule de glutamate (contenant un groupement amine NH_2) en glutamine (Gln), molécule qui contient deux atomes d'azote N, impliqués dans une fonction amine et une fonction amide. La glutamine sert alors de donneur de groupement $-\text{NH}_2$ à la réaction d'amination réductrice de l' α -cétoglutarate catalysée par la glutamate synthase (GOGAT), qui nécessite pour son fonctionnement de la ferrédoxine réduite Fd_{red} (dans le cas des feuilles) ou du NADPH (dans les racines). Deux molécules de glutamate sont ainsi formées, l'une est utilisée comme substrat de la glutamine synthétase (GS) pour la formation à nouveau de glutamine, l'autre est source d'azote pour les réactions de transamination et la synthèse nette de composés azotés, acides aminés notamment (Morot-Gaudry et al. 2001).

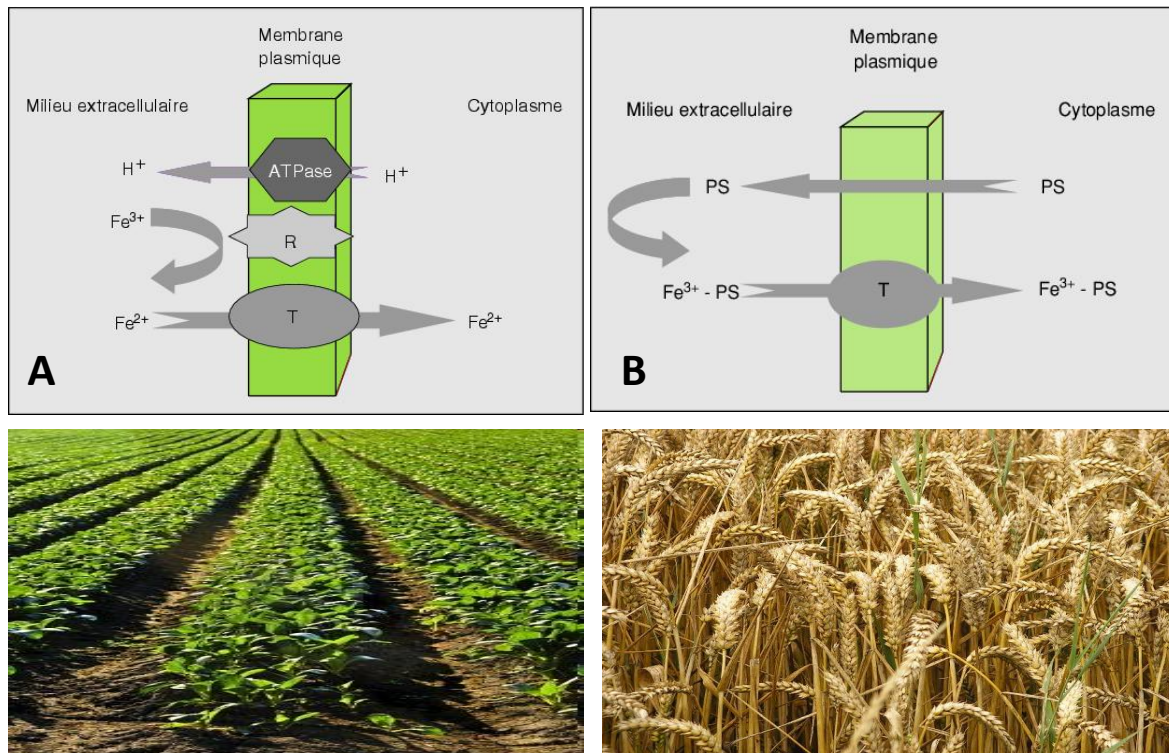
Les premières tentatives d'amélioration de l'efficacité d'absorption du nitrate par les racines ont reposé sur la surexpression de gènes par transgénèse, en ciblant tout d'abord ceux codant les transporteurs de NO_3^- et les enzymes impliquées dans sa réduction. Cette stratégie s'est malheureusement révélée décevante dans son ensemble (Krouk et Gojon, 2012). Étonnamment, les résultats les plus intéressants ont été obtenus pour des enzymes plus en aval dans la voie d'assimilation du nitrate, la glutamine synthétase (Fuentes et al. 2001 ; Martin et al. 2006), la glutamate synthase NADPH dépendante et l'alanine aminotransférase (Good et al. 2007). La surexpression de gènes responsables de la synthèse d'acides aminés comme l'alanine et la glutamine rend ainsi possible la sélection de plantes qui assimileraient plus efficacement l'azote du sol en le stockant sous forme de molécules organiques azotées utilisées ultérieurement par les plantes pour survenir à leur développement. Des chercheurs ont montré que ces plantes modifiées génétiquement pour accroître la synthèse de ces acides aminés réduisaient significativement les pertes d'azote suite à l'application d'engrais azotés. Il est observé que ces plantes gèrent plus efficacement l'assimilation de l'azote quand ce dernier élément était appliqué en faible quantité (Fuentes et al. 2001, Good et al. 2007, Shrawat et al. 2008 ; Garnet et al. 2009). Enfin, après manipulation du facteur de transcription *Dof1*, un chercheur japonais (Yaganisawa, 2004) a observé sur les plantes transformées une augmentation de la croissance quand la fourniture en azote était limitante. Les mécanismes impliqués ne sont pas encore connus mais les résultats sont là.

Les mécanismes moléculaires impliqués dans le recyclage de l'azote des protéines des organes sénescents sont également très étudiés car ils déterminent l'efficacité de remplissage des grains en composés azotés en fin de développement des plantes cultivées. La remobilisation des nutriments est un processus qui permet une économie nutritionnelle et un recyclage de macro- et micro-nutriments qui sont le plus souvent limitants. La remobilisation de l'azote est un processus génétiquement déterminé qui présente un avantage évolutif pour les plantes, puisqu'il permet de redistribuer efficacement les macronutriments des tissus vieillissants et favorise ainsi une meilleure croissance et fixation du carbone sans nécessiter plus d'apport exogène en azote.

L'amélioration de l'efficacité de la remobilisation de l'azote au cours de la sénescence foliaire (*Masclaux-Daubresse et al. 2001, 2008, 2011*) permettrait d'améliorer significativement l'utilisation de l'azote par la plante, particulièrement chez le colza où la remobilisation de l'azote est peu efficace. En effet, le colza est caractérisé par la sénescence et la chute précoce de feuilles riches en azote, ce qui peut représenter une perte de 15% de l'azote total de la plante (*Rossato et al. 2001 ; Malagoli et al. 2004, 2005*). Le phénomène de remobilisation de l'azote est très étudié chez les plantes pérennes, les arbres notamment, car il conditionne fortement le développement des plantes d'une année sur l'autre (*Millard et al. 2010, Villar-Salvador et al. 2010*).

3-4 Le phosphate

Les ions phosphates H_2PO_4^- et HPO_4^{2-} , utilisés comme engrais, sont rapidement métabolisés par la plante, seule une petite fraction s'accumule en réserve dans les vacuoles. Les ions phosphates (HPO_4^{2-}) en solution dans le sol sont absorbés par un transporteur ((symport H^+ - HPO_4^{2-}). Le phosphate est incorporé ensuite aux composés phosphorylés comme les sucres phosphates, les phospholipides et les nucléotides (*Raghothama, 1999*). Au contraire de l'azote qui est intégré dans les molécules sous forme réduite, le phosphore P est dans la cellule essentiellement sous la forme oxydée (groupes phosphates).



Figures 6 :

A Stratégie d'acquisition du fer chez les dicotylédones et les monocotylédones non graminées. Les plantes développant des réponses à la carence en fer acidifient le sol par excrétion de protons et absorbent les ions Fe^{2+} après une étape de réduction. R : réductase ; T : transporteur.

B Stratégies d'acquisition du fer chez les monocotylédones graminées. Les plantes développant des réponses à la carence en fer transportent les ions Fe^{3+} du sol sous formes de chélates avec les phytosidérophores. PS : phytosidérophores ; T : transporteur (*Briat, 2004*).

La phytoremédiation

La phyto-remédiation est une technique de dépollution des sols, d'épuration des eaux et éventuellement d'assainissement de l'air utilisant les plantes.

On parle de phyto-extraction quand on utilise de plantes qui absorbent et concentrent dans leurs parties récoltables (feuilles, tiges) les polluants contenus dans le sol comme les éléments métalliques (Éléments trace métallique ou ETM : arsenic, cadmium, chrome, cobalt, cuivre, zinc, etc.) et des radionucléides : césium, strontium, uranium, etc. Certaines plantes accumulatrices et/ou hyperaccumulatrices, généralement à forte croissance et évapotranspiration élevée, sont capables de tolérer et d'accumuler de grandes quantités de ces éléments métalliques (plus de 1 mg/g de matière sèche) qu'elles immobilisent ainsi.

Après culture, les plantes sont récoltées et incinérées ; les cendres sont stockées ou valorisées pour récupérer les métaux accumulés (*'phytomining'*).

Ces plantes sont utilisées pour décontaminer les sols des friches industrielles et des milieux miniers (mines de nickel en Nouvelle Calédonie, par exemple). Ces techniques de bio-rémédiation d'un coût relativement faible permettent de maintenir l'activité biologique et la structure des sols traités, d'améliorer le paysage par l'introduction d'un couvert végétal et de récupérer les métaux rares.

L'inconvénient est que ces techniques, généralement longues (plusieurs années pour décontaminer un sol pollué) ne peuvent traiter que la couche de sol accessible aux racines. Des recherches sont actuellement en cours pour sélectionner des plantes hyperaccumulatrices de métaux lourds, très performantes, robustes et facilement récoltables.

Les techniques de génie génétique sont envisagées pour faire produire par ces plantes, par exemple des phytochélatines et des métallothionéines qui permettraient d'améliorer grandement les performances des plantes dépolluantes (rétention du cadmium notamment) (Lebrun et Hinsinger, 2003).

Le phosphate est présent dans le cytosol à concentration généralement stable et contrôlée, proche de 10 mmol.L¹. Cette stabilité ou "homéostasie" traduit le rôle essentiel du phosphate dans le métabolisme énergétique, la synthèse et l'hydrolyse des liaisons riches en énergie (par exemple l'ATP). Le phosphate participe également au pouvoir tampon du cytosol, dont le pH est stabilisé à une valeur proche de 7,4, le pK_a de la seconde fonction acide de l'acide phosphorique étant très proche de cette valeur.

Récemment, S. Heuer, de l'Institut international de recherche sur le riz, basé aux Philippines, a isolé un gène codant une protéine kinase impliquée dans l'homéostasie du phosphate (Keke et al. 2011, Gamuyao et al. 2012). La protéine PSTOL1 (*Phosphorus starvation Tolerance 1*) permet la construction de plantes résistantes à des carences en phosphore. Les riz transgéniques qui surexpriment cette protéine kinase, cultivés sur des sols très pauvres en phosphates, développant un réseau racinaire plus étendu que celui des plantes contrôles. Des essais en plein champ de plantes non transgéniques, chez lesquelles tout le locus contenant PSTOL1 a été inséré par hybridation interspécifique, ont permis d'améliorer les rendements (de 10 à 20%) sur sols pauvres en phosphates comparés aux plantes témoins (Chin JH et al. 2011). Ces nouvelles variétés de riz (riz Kasalath) sont très intéressantes pour l'Asie où les sols sont souvent pauvres en phosphore.

3-5 Transport du fer et de l'aluminium dans la racine

De par ses propriétés d'oxydoréduction, le fer est un cofacteur essentiel dans les processus biologiques faisant intervenir des transferts d'électrons (photosynthèse, respiration, assimilation de l'azote et du soufre). Dans les tissus biologiques, le fer est associé à des structures organiques, protéines notamment (hème, complexes protéiques Fe-S, par exemple). Le fer est un élément structural de l'hème, groupement prosthétique de nombreuses protéines enzymatiques, et des complexes Fe-S des enzymes et photosystèmes.

Le fer n'est pas assimilé de la même façon chez toutes les plantes (Figure 6). Des chercheurs à l'INRA de Montpellier ont montré au début des années 2000 que les graminées, les céréales notamment, excrètent dans le milieu extérieur un sidérophore, l'acide déoxymuginéique, qui se complexe au fer ferrique et permet ainsi son entrée dans la racine grâce à un transporteur membranaire spécifique ; le fer ainsi complexé est réduit ultérieurement dans la plante. Ce n'est pas le cas des autres plantes où le fer ferrique est réduit en fer ferreux par une réductase racinaire avant son prélèvement par un transporteur spécifique, ce qui implique dans ce dernier cas une ATPase qui est nécessaire pour excréter simultanément des protons à l'extérieur de la racine afin d'améliorer, après acidification, la solubilisation du fer dans la rhizosphère. Chez les graminées, le processus d'acquisition du fer est indépendant du pH, donc plus simple et plus efficace ; ces plantes sont connues d'ailleurs pour mieux résister généralement à la chlorose ferrique (jaunissement des feuilles en absence de fer) (Curie et al. 2001, Briat, 2004).

Des recherches similaires ont été menées sur l'aluminium. Par exemple, dans la savane du centre du Brésil, le Cerrado, les sols sont très acides, ce qui a pour conséquence de solubiliser l'aluminium, élément très toxique pour les racines des plantes. Toutefois certaines plantes peuvent se protéger de l'aluminium en sécrétant par leurs racines des composés organiques qui rendent les ions aluminium non toxiques. En 2007, Magalhaes et son équipe, à l'Université de Cornell, ont pu identifier les gènes de tolérance à l'aluminium en comparant des lignées de sorgho tolérantes ou non à cet élément. Ils ont observé sur un premier essai des rendements un tiers supérieurs chez les plantes tolérantes par rapport aux non tolérantes (Magalhaes et al. 2007).

Dans le même objectif de recherche, plusieurs laboratoires essaient d'identifier les mécanismes de réponse et de tolérance des plantes aux métaux lourds, cadmium notamment. Leurs travaux sont centrés sur l'identification et la caractérisation des gènes responsables de la tolérance et de l'accumulation à cet ion, en particulier des transporteurs membranaires de métaux et des protéines impliquées dans la chélation. Deux modèles végétaux hyperaccumulateurs de cadmium sont utilisés : *Thlaspi caerulescens* et *Arabidopsis halleri*, proches de l'espèce modèle en biologie moléculaire *A. thaliana*. Ces approches comprennent la

caractérisation de mutants (où l'expression des gènes candidats est modifiée par mutagenèse ou ingénierie génétique), la localisation des protéines identifiées, et, dans certains cas, l'étude de leur affinité aux métaux. Cette recherche permet à l'heure actuelle de développer des outils moléculaires qui aideront à comprendre et à réguler le flux et l'accumulation des métaux lourds dans les plantes (Lequeux et al. 2010 ; Hermans et al. 2011 ; Meyer et al. 2011).

4 La forme du chevelu racinaire

Les transporteurs d'ions et les enzymes impliquées dans leur métabolisme ne sont pas les seuls facteurs déterminant leur assimilation. La *forme du chevelu racinaire* est également déterminante pour l'assimilation de l'eau et des minéraux. Des programmes d'étude de la morphogenèse adaptative de la racine, en réponse aux contraintes abiotiques, ont été développés dans nombreux pays. La morphogenèse racinaire dépend de l'expression de gènes qui contrôlent la longueur, la ramification et le nombre de poils absorbants des racines. En situation de manque d'eau par exemple, les plantes peuvent développer des racines extrêmement longues permettant d'atteindre les couches profondes plus humides. De même, une forte concentration en nitrate dans le sol peut provoquer localement la formation de racines secondaires en agissant comme un signal inducteur (Marin et al. 2010).

Dans les écosystèmes naturels, les ions nutritifs en solution dans l'eau du sol sont relativement peu abondants et généralement peu mobiles car souvent adsorbés sur les colloïdes de la phase solide. Les capacités d'absorption de la racine sont telles que les ions sont prélevés plus rapidement qu'ils ne diffusent dans le sol. Il en résulte une zone d'épuisement autour de la racine. La plante doit en permanence développer son système racinaire de façon à explorer de nouveaux volumes de sol. Lorsque la disponibilité des ions dans le milieu diminue, le chevelu racinaire a tendance à se développer de manière à mieux explorer le sol. En conséquence, la quantité d'assimilats photosynthétiques alloués au développement du système racinaire augmente, et peut représenter plus de la moitié du carbone fixé. Chez le blé, par exemple, le rapport du poids de matière sèche des racines à celui des parties aériennes peut augmenter de 0,3 à 4 lorsque la disponibilité du phosphate dans le sol diminue. La fonction d'exploration du sol représente alors la principale dépense énergétique de l'absorption des ions par les plantes, loin devant le coût de l'énergisation des transporteurs membranaires.

Des premières approches de génétiques classiques ont permis de confirmer ces observations. Des chercheurs australiens ont croisé des lignées de blé connues pour avoir des racines qui pénètrent profondément le sol avec des lignées de blé communément cultivées. Les 400 nouvelles lignées de blé obtenues sont testées actuellement en Australie et en Inde. Pour finaliser cette entreprise de sélection, les chercheurs cherchent à identifier chez les lignées les plus performantes des marqueurs associés au développement des racines en profondeur. Le génome du blé étant très grand (17×10^9 paires de bases), les chercheurs utilisent une plante modèle des céréales, *Brachypodium distachyon*, plante tempérée, proche du blé mais possédant



Figure 8. Les mycorhizes sont des symbioses entre des champignons microscopiques et les racines des végétaux. Les champignons aident les végétaux à puiser les éléments nutritifs du sol et en échange les végétaux fournissent aux champignons l'énergie qu'ils sont incapables de tirer eux-mêmes car dépourvus de photosynthèse. La quasi-totalité des végétaux terrestres vivent en symbiose mycorhizienne.

d'arrêter la croissance des racines latérales. En revanche, en milieu riche en nitrate, NRT1 bloque la circulation de l'auxine qui s'accumule dans les racines latérales, favorisant leur croissance. Ainsi, ils obtiennent un début d'explication au développement des racines latérales en relation avec la teneur en nitrate du milieu.

Récemment, avril 2013, des chercheurs de l'Inra Versailles-Grignon et de l'ENS-Paris ont mis en évidence le rôle majeur d'un facteur de transcription, le facteur NLP7, dans la réponse précoce des plantes au nitrate *via* un mécanisme de rétention nucléaire. En fonction de la quantité de nitrate disponible, le facteur de transcription NLP7 n'est pas toujours localisé dans le même compartiment de la cellule végétale (noyau, cytoplasme), ce qui influe sur son activité. Lorsque le nitrate est suffisamment disponible pour la plante, NLP7 est présent dans le noyau des cellules mais il est exporté dans le cytoplasme lorsque le nitrate fait défaut. Ceci a d'autant plus d'importance que NLP7 se lie à plus de 800 gènes dont un grand nombre sont impliqués dans la voie de signalisation et d'assimilation du nitrate. Plus précisément, les chercheurs ont montré que la rétention de NLP7 dans le noyau survient très tôt, en l'espace de quelques minutes après apport de nitrate, ce qui suggère un rôle de régulation très rapide en amont dans la réponse des plantes aux nitrates. NLP7 peut ainsi entraîner la mise en place d'un programme d'expression génique permettant à la plante de transformer le nitrate en azote organique (acides aminés, etc.), nécessaire à la synthèse des protéines ou des acides nucléiques, mais aussi d'activer la croissance et le développement de nouveaux organes.

5 Les mycorhizes et la fixation symbiotique de l'azote

Pour optimiser leur nutrition en eau et en sels minéraux, la plupart des plantes s'associent avec des champignons qui leur assurent une prospection efficace du sol. En échange les plantes fournissent à leurs partenaires de l'énergie et des composés organiques issus de la photosynthèse, glucides notamment. *L'association symbiotique* entre des champignons et le système racinaire (mycorhizes) ou celle qui implique des bactéries fixatrices d'azote et les racines des légumineuses (nodosités des Fabacées) améliorent grandement le prélèvement du phosphore et de l'azote. Dans ce dernier cas, les bactéries (de la famille des rhizobiacées) sont capables de réduire directement l'azote moléculaire. Ces symbioses concernent 95% des espèces végétales. Elles se rencontrent dans tous les écosystèmes, chez les plantes ligneuses comme chez les plantes de grande culture. Seules quelques familles végétales, comme les Crucifères, sont rarement mycorhizées en conditions naturelles. La généralité de ces associations « champignons-phanérogames » « bactéries-phanérogames » en fait un *phénomène biologique majeur des écosystèmes terrestres*.

5a- La fixation symbiotique de l'azote

La symbiose entre bactéries de la famille des Rhizobiacées (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*) et les plantes de la famille des Fabacées, anciennement dénommées Légumineuses (pois, haricot, luzerne, lupin, soja), est la plus connue et la plus étudiée. Ces bactéries diazotrophes convertissent l'azote moléculaire N_2 en ammoniac (NH_3) grâce à une enzyme, la nitrogénase. L'ammonium formé est rapidement incorporé par la glutamine synthétase au glutamate pour former la glutamine, source de l'azote aminé. Les légumineuses produisent soit des amides, glutamine et asparagine (cas du lupin), soit des uréides (molécules riches en azote) (cas du haricot, soja). La fixation symbiotique de l'azote moléculaire confère aux Légumineuses l'autotrophie vis à vis de l'azote. Ces plantes peuvent se développer avec un bon rendement sans recevoir de fertilisants azotés.

L'établissement de la symbiose *Rhizobia* / Fabacées se réalise suivant le schéma suivant impliquant un dialogue moléculaire (Figure 7) : la plante tout d'abord exsude par ses racines des composés de types flavonoïdes spécifiques d'une espèce de Fabacées, qui induisent l'expression de gènes bactériens conduisant à la synthèse de lipo-oligo-saccharides spécifiques, les facteurs Nod mis en évidence par une équipe INRA-CNRS de Toulouse. Ces molécules diffèrent d'une espèce de *Rhizobium* à l'autre, au niveau des groupements chimiques branchés sur la chaîne des sucres (3 à 6 oses, n varie de 0 à 3) et au niveau de la longueur et du degré d'insaturation de la chaîne aliphatique. Les facteurs Nod compatibles se fixent à un récepteur de la plante, comprenant un domaine LysM de reconnaissance et un domaine kinase. Les facteurs Nod miment le rôle d'hormones végétales et induisent la formation d'un nouvel organe sur les racines de la plante-hôte : la nodosité. Dès que celle-ci commence à se former, la

bactérie pénètre à l'intérieur et se différencie en bactéroïde fixateur d'azote (Demont-Caulet et al. 1999).

5b-Les mycorhizes

Les structures générées par l'association mycorhizienne (Figure 8) peuvent être classées sur la base de critères anatomiques, morphologiques et physiologiques. Les endomycorhizes à arbuscules et les ectomycorhizes sont les associations mycorhiziennes les plus répandues chez les plantes. Le préfixe *endo* fait référence au fait que les hyphes ("poils mycorhiziens") franchissent les parois et "repoussent" la membrane plasmique des cellules hôtes, sans pour autant pénétrer le protoplaste, c'est à dire sans traverser la membrane plasmique. Le préfixe *ecto* traduit le fait que les hyphes mycéliennes progressent strictement entre les cellules du cortex racinaire, au niveau de la lamelle moyenne, sans jamais sortir de l'apoplasme. Les mycorhizes sont connues depuis des lustres pour améliorer grandement la fouille du sol pour l'eau et les éléments minéraux. Les champignons mycorhiziens du genre *Glomus* accroissent l'absorption du phosphore par les plantes. En sécrétant des phosphatases, ils sont capables de transformer le phosphore organique non directement mobilisable par la plante en formes ortho- et polyphosphates assimilables (Richardson et al. 2009). Voir aussi l'article de Jean-Claude Germon «*Quelques apports de la microbiologie des sols à l'agronomie et au développement des plantes cultivées*».

Qu'en est-il des relations entre le champignon et la plante lors de l'établissement de la mycorhization ? Il semble que les mécanismes moléculaires entre le champignon et la plante soient voisins de ceux établis entre la bactérie et la plante lors de la fixation symbiotique de l'azote.

Les chercheurs toulousains viennent d'isoler les facteurs émis par les champignons, appelés facteurs Myc qui déclenchent la mise en place de ces symbioses. Ces facteurs Myc ont des structures moléculaires proches de celles des facteurs Nod émis par les bactéries fixatrices d'azote du genre *Rhizobium* impliqués dans la fixation symbiotique de l'azote chez les légumineuses, isolés il y a une vingtaine d'années par ces mêmes équipes de recherche. Les facteurs Myc sont des signaux symbiotiques synthétisés par les champignons endomycorhiziens (ordre des glomales), des lipochito-oligosaccharides, comme les facteurs Nod. Les facteurs Myc stimulent en laboratoire la formation de la symbiose entre la plante et le champignon et agissent également comme régulateurs de croissance et favorisent la formation de racines latérales. Il est nécessaire maintenant de vérifier qu'il en est de même au champ. Il existerait des mécanismes communs dans la signalisation entre champignons, bactéries et plantes. Les bactéries auraient copié le système de signalisation plus ancien des champignons. La présence de chitine dans la structure de tous ces facteurs symbiotiques conforterait cette hypothèse (Maillet et al. 2011).

La découverte des facteurs Myc ouvre la voie à de nombreuses applications agronomiques, d'autant plus qu'ils concernent les symbioses entre champignons endomycorhiziens et la plupart des plantes, y compris les céréales, ce qui n'est pas le cas de la symbiose responsable de la fixation symbiotique de l'azote qui ne concerne que les plantes de la famille des légumineuses. Les facteurs Myc pourraient être utilisés pour stimuler la formation des symbioses chez les plantes cultivées optimisant ainsi la nutrition minérale et permettant de réduire l'apport d'engrais, notamment phosphorés. Restent cependant encore de nombreuses questions à élucider avant que de telles applications s'avèrent efficaces au champ.

6 Rhizosphère

La zone de sol entourant la racine est déterminée par la racine elle-même : c'est la rhizosphère. Les racines modifient les propriétés physico-chimiques et la composition biologique de cette zone par deux mécanismes majeurs : l'acidification via la production de protons (ions H⁺) et l'exsudation racinaire via la synthèse par les racines de composés organiques qui sont exsudés dans le sol. Ces exsudats racinaires sont constitués de deux fractions majeures : les mucilages qui sont composés de 95 %, de glucides (polysaccharides) et de 5 % de protéines et les exsudats solubles, également issus du processus de photosynthèse, composés de molécules de plus petite taille comme des sucres simples, des acides aminés, des acides organiques, des enzymes, des phénols, des stérols ou encore des vitamines. L'ensemble de ces exsudats racinaires correspond ainsi entre 5 à 30 % des produits de la photosynthèse, soit entre 1 et 3 tonnes de C/ha/an.

Outre leur rôle de protection de la coiffe racinaire et de modification de la structure physique du sol, les exsudats racinaires stimulent le développement et la prolifération des organismes vivants tout autour de la racine. On estime, par exemple, que vivent entre 100 et 1 000 cellules bactériennes dans cet espace par gramme de sol. Si les exsudats stimulent le développement des micro-organismes, en retour ceux-ci favorisent l'exsudation racinaire, faisant de ce milieu une zone dynamique où l'activité biologique est intense. En effet, à partir des exsudats racinaires, se forment de véritables chaînes alimentaires avec, comme premiers acteurs, les bactéries et les champignons.

Comme nous l'avons vu, la fixation d'azote atmosphérique par des bactéries spécifiques chez les légumineuses (mode de fixation symbiotique) ou la fixation libre par d'autres bactéries, comme le genre *Azotobacter*, améliore grandement la fourniture en azote (Lundberg et al. 2012). Les micro-organismes constitutifs de la rhizosphère sont également impliqués dans la solubilisation d'éléments nutritifs facilitant leur absorption par la plante, et dans la sécrétion dans le sol de molécules inhibitrices de la nitrification, c'est-à-dire de l'oxydation de l'ammonium en nitrate, permettent ainsi l'assimilation de l'azote sous forme de NH₄⁺, forme fixée sur les particules cationiques du sol et moins entraînées par les eaux. Enfin, d'autres

biofertilisants du genre bactérien *Azospirillum* produisent une large variété de phytohormones (acide indolacétique, cytokinines, gibbérellines) qui peuvent stimuler le croissance du système racinaire, améliorant ainsi l'exploration du sol par les racines. Actuellement, de nombreux biofertilisants combinant micro-organismes phytobénéfiques et des substances naturelles potentialisant les activités de ces micro-organismes font l'objet de recherche et certains sont déjà mis sur le marché (Richardson et al. 2009).

7 Conclusion

Grâce aux approches moléculaires, les connaissances des mécanismes des ions minéraux par les racines ont fortement progressé. Un défi majeur dans ce domaine de recherche est de mieux comprendre comment les racines perçoivent et intègrent des signaux multiples et souvent contrastés rencontrés dans le sol afin d'optimiser leur capacité d'exploration et d'acquisition de ces ressources nutritionnelles. La compréhension des mécanismes impliqués dans ces réponses adaptatives s'est largement développée grâce à des études combinant des approches génétiques, physiologiques, biochimiques et génomiques sur des plantes modèles. L'intégration de l'ensemble de ces connaissances dans des modèles écophysologiques a permis d'éclairer la hiérarchie et la structuration des facteurs impliqués dans la réponse des plantes aux contraintes abiotiques. Ainsi, il a été montré que plusieurs types de signaux (hormones, formes réactives de l'oxygène), et de protéines impliquées dans les réseaux de régulation (facteurs de transcription, enzymes des voies de signalisation) sont des acteurs communs des voies de signalisation impliquées dans les réponses aux contraintes abiotiques et les réponses développementales des plantes (Castaings et al. 2011). Les applications sont loin encore de répondre à toutes les attentes des agriculteurs. Des progrès sont encore à réaliser mais beaucoup d'espoirs sont permis. Les années à venir verront sans doute arriver sur le marché des plantes plus économes en eau et éléments minéraux, plus favorables à une agriculture durable. Verront aussi le jour des procédés phytotechniques nouveaux et efficaces, comme déjà l'application de facteurs Nod au champ qui accroît très sensiblement le rendement du soja (10%), par exemple.

Bibliographie

Ouvrages généraux à consulter :

JF Morot-Gaudry. Biologie végétale I & II Dunod 2012 (Dunod.com)

Articles originaux :

Bassil E., Ohto M-A, Esumi T., Tajima H., Zhu Z., Cagnac O., Belmonte M., Peleg Z., Yamaguchi T., and Blumwald E., 2011. - The Arabidopsis intracellular Na⁺/H⁺ antiporters NHX5 and NHX6 are endosome associated and necessary for plant growth and development. *The plant Cell* 23: 224-239.

- Bishopp A., Benkova E. and Helariutta Y., 2011. - Sending mixed messages: auxin-cytokinin crosstalk in roots. **Current Opinion in Plant Biology** 14: 10-16.
- Briat JF. 2004 Acquisition et gestion du fer par les plantes. **Cahiers Agricultures** 13: 183-201.
- Castaigns L., Marchive C., Meyer, C. and Krapp A., 2011. - Nitrogen signalling in Arabidopsis: how to obtain insights into a complex signalling network. **J. Exp. Bot.** 62: 1391-1397.
- Chin JH, Gamuyao R, Dalid C, Bustamam M, Prasetiyono J Moeljopawiro S, Wissuwa M and Heuer S. 2011. Developing Rice with High Yield under Phosphorus Deficiency: *Pup1* Sequence to Application. **Plant Physiol.** 156: 1202-1216.
- Curie C., Panaviene Z., Loulergue C., Dellaporta S-L., Briat J-F. and Walker E-L., 2001. - Maize yellow stripe1 encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake. **Nature** 409: 346-349.
- Demont-Caulet N, Maillet F, Tailler D, Jacquinet JC, Promé JC, Nicolaou KC, Truchet G, Beau JM, Dénarié J. 1999. Nodule-inducing activity of synthetic Sinorhizobium meliloti nodulation factors and related lipo-chitooligosaccharides on alfalfa. Importance of the acyl chain structure. **Plant Physiol.** 120: 83-92.
- Fuentes S.I., Allen J.A., Lopez A.O., Hernandez G., 2001. - Over expression of cytosolic glutamine synthetase increases photosynthesis and growth at low nitrogen concentrations? **J. Exp. Bot.** 52: 1071-1081.
- Gamuyao R, Chin JH, Pariasca-Tanaka J, Pesaresi P, Catausan S, Dalid C, Slamet-Loedin I, Tecson-Mendoza EM, Wissuwa M, Heuer S. 2012. The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. **Nature** 488: 535-539.
- Garnett T., Conn V., Kaiser B.N., 2009. - Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants. **Plant Cell and Environment** 32: 1272-1283.
- Good A.G., Johnson S.J., De Pauw M., Carroll R.T., Savidov N, Vidmar J., Lu Z., Taylor G., Stroehrer V., 2007. - Engineering nitrogen use efficiency with alanine aminotransferase. **Can. J. Bot.** 85: 252-262.
- Hermans C, Chen J, Coppens F, Inzé D, Verbruggen N. 2011 Low magnesium status in plants enhances tolerance to cadmium exposure. **New Phytol.** 192: 428-436.
- Hirel B and PJ Lea 2001 Ammonia assimilation. In : P Lea, JF Morot-Gaudry (Eds), *Plant Nitrogen*. INRA Springer Verlag, pp.79- 99.
- Keke Yi, Zhongchang Wu, Jie Zhou, Liming Du, Longbiao Guo, Yunrong Wu and Ping Wu. 2011. *OsPTF1*, a Novel Transcription Factor Involved in Tolerance to Phosphate Starvation in Rice. **Plant Physiol.** 138: 2087-2096.
- Kirkegaard, J. A., Lilley, J. M., Howe, G. N., Graham, J., M. 2007. Impact of subsoil water use on wheat yield. **Aust. J. Agric. Res.** 58: 303-315.
- Krouk G, Lacombe B, Bielach A, Perrine-Walker F, Malinska K, Mounier E, Hoyerova K, Tillard P, Leon S, Ljung K, Zazimalova E, Benkova E, Nacry P, Gojon A. 2010. Nitrate-regulated auxin transport by NRT1.1 defines a mechanism for nutrient sensing in plants. **Dev Cell.** 18: 927-937.

- Krouk G et Gojon A. 2012 Améliorer l'utilisation du nitrate par les plantes. **Biofutur** 330: 341.
- Lebrun M et Hinsinger P. 2003. Accumulation des métaux lourds par les plantes : applications technologiques. Séance Académie d'Agriculture de France (15 octobre 2003).
- Lequeux H, Hermans C, Lutts S, Verbruggen N. 2010 Response to copper excess in *Arabidopsis thaliana*: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. **Plant Physiol Biochem.** 48: 673-682.
- Lundberg DS, Lebeis SL, Paredes SH, Yourstone S, Gehring J, Malfatti S, Tremblay J, Engelbrektson A, Kunin V, del Rio TG, Edgar RC, Eickhorst T, Ley RE, Hugenholtz P, Tringe SG, Dangl JL. 2012. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. **Nature** 488: 86-90.
- Magalhaes J-V., Jiping Liu J., Claudia T., Guimaraes C-T., et al. 2007. - A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminium tolerance in sorghum. **Nature Genetics** 39: 1156-1161.
- Maillet F., Poinot V., André O., Puech-Pages V., Haouy A., Gueunier M, L., Cromer L., Giraudet D., Formey D., Niebel A., Eduardo E-A., Driguez H., Becard G. and Denarié J., 2011. - Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. **Nature** 469: 58-64.
- Malagoli, P., Laine, P., Le Deunff, E., Rossato, L., Ney, B. and Ourry, A. 2004. Modeling Nitrogen Uptake in Oilseed Rape cv Capitol during a Growth Cycle Using Influx Kinetics of Root Nitrate Transport Systems and Field Experimental Data. **Plant Physiol.** 134: 388-400.
- Malagoli, P., Laine, P., Rossato, L. and Ourry, A. 2005. Dynamics of Nitrogen Uptake and Mobilization in Field-grown Winter Oilseed Rape (*Brassica napus*) from Stem Extension to Harvest: I. Global N Flows between Vegetative and Reproductive Tissues in Relation to Leaf Fall and their Residual N. **Annals of Botany** 95: 853-861.
- Marchise C. *et al.* Nuclear retention of the transcription factor NLP7 orchestrates the early response to nitrate in plants. **Nat. Commun.** 16 avril 2013. doi: 10.1038/ncomms2650.
- Marin E. , Jouannet V., Herz A., Lokerse A-S., Weijers D., Vaucheret H., Nussaume L., Crespi MD., and Maizel A., 2010. -miR390, *Arabidopsis TAS3* tasiRNAs, and Their *AUXIN RESPONSE FACTOR* Targets Define an Autoregulatory Network Quantitatively Regulating Lateral Root Growth. **Plant Cell** 22: 1104-1117.
- Martin A, Lee J, Kichey T, Gerentes D, Zivy M, Tatout C, Dubois F, Balliau T, Valot B, Davanture M, Tercé-Laforgue T, Quilleré I, Coque M, Gallais A, Gonzalez-Moro MB, Bethencourt L, Habash DZ, Lea PJ, Charcosset A, Perez P, Murigneux A, Sakakibara H, Edwards KJ, Hirel B. 2006. Two cytosolic glutamine synthetase isoforms of maize are specifically involved in the control of grain production. **Plant Cell** 18: 3252-3274.
- Masclaux, C., Quillere, I., Gallais, A. and Hirel, B. (2001). The challenge of remobilisation in plant nitrogen economy. A survey of physio-agronomic and molecular approaches. **Annals of Applied Biology** 138: 69-81.

- Masclaux-Daubresse C. and Chardon, F. 2011. - Exploring nitrogen remobilization for seed filling using natural variation in *Arabidopsis thaliana*. **J. Exp. Bot.** 62: 2131-2142.
- Masclaux-Daubresse, C., Reisdorf-Cren, M. and Orsel, M. 2008. Leaf nitrogen remobilisation for plant development and grain filling. *Plant Biology* 10: 23-36.
- Maurel C, Verdoucq L., Luu D-T., Santoni V. 2008. Plant aquaporins : membrane channels with multiple integrated functions. **Annu. Rev. Plant Biol.** 59: 595-624.
- Meyer C and Stitt M 2001 Nitrate reduction and signalling. In : P Lea, JF Morot-Gaudry (Eds), *Plant Nitrogen*. INRA Springer Verlag : 37- 59.
- Meyer CL, Peisker D, Courbot M, Craciun AR, Cazalé AC, Desgain D, Schat H, Clemens S, Verbruggen N. (2011) Isolation and characterization of *Arabidopsis halleri* and *Thlaspi caerulescens* phytochelatin synthases. **Planta** 234: 83-95.
- Millard P, Grelet GA. 2010 Nitrogen storage and remobilization by trees: ecophysiological relevance in a changing world. **Tree Physiol.** 30: 1083-1095.
- Morot-Gaudry JF, Job D and Lea P 2001 *Amino acid metabolism in Plant Nitrogen*, P Lea and JF Morot-Gaudry Eds, INRA-Springer p 167-211.
- Morot-Gaudry, M Orsel, C Diaz, F Daniel-Vedele, C MasclauxDaubresse 2007. Absorption et assimilation du nitrate et recyclage de l'azote organique chez les plantes : intérêt pour le colza. **OCL(oléagineux, corps gras, lipides)** 13: 393-402.
- Munns R, James RA, Xu B, Athman A, Conn SJ, Jordans C, Byrt CS, Ray A, Hare A, Tyerman SD, Tester M, Plett D, and Gilliam M 2012 Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene. **Nature Biotechnology** 28: 149-156.
- Orsel M, Filleur S, Fraiser V, Daniel-Vedele F 2002 Nitrate transport in plants: which gene and which control? **J. Exp. Bot.** 53 : 825-833.
- Pasapula V., Shen G., Kuppu S., Paez-Valencia J., Mendoza M., Hou P., Chen J., Qiu X., Zhu L., Zhang X., Auld D., Blumwald E., Zhang H., Gaxiola R., Payton P., 2011. - Expression of an *Arabidopsis* vacuolar H⁺-pyrophosphatase gene (AVP1) in cotton improves drought-and salt tolerance and increases fibre yield in the field conditions. **Plant Biotechnol. J.** 1: 88-99.
- Péret B, Guowei L Gi, Zhao J, Band LR, Voß U, Postaire O, Luu D-T, Da Ines O, Casimiro I, l Lucas M, Wells DM, Lazzerini L, Nacry P, King JR, Jensen OE, SchäffnerAR, Maurel C & Malcolm J. Bennett MJ. 2012. Auxin regulates aquaporin function to facilitate lateral root emergence. **Nature Cell Biology** 14: 991-998.
- Raghothama KG; 1999. Phosphate acquisition **Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.** 50: 665-693.
- Richardson AE, Barea J-M, McNeill AM and Prigent-Combaret C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms **Plant Soil** 321: 305-339.
- Rossato, L., Laine, P. and Ourry, A. 2001. Nitrogen storage and remobilization in *Brassica napus* L. during the growth cycle: nitrogen fluxes within the plant and changes in soluble protein patterns. **J. Exp. Bot.** 52: 1655-1663.

- Shrawat AK, Carroll RT, DePauw M, Taylor GJ, Good AG. 2008. Genetic engineering of improved nitrogen use efficiency in rice by the tissue-specific expression of alanine aminotransferase. **Plant Biotechnol J.** 8: 722-732.
- Very A-A. and Sentenac H. 2003 Molecular mechanisms and regulation of K⁺ transport in higher plants **Annu. Rev. Plant Biol.** 54: 575-603.
- Villar-Salvador P, Heredia N, Millard P. 2010 Remobilization of acorn nitrogen for seedling growth in holm oak (*Quercus ilex*), cultivated with contrasting nutrient availability. **Tree Physiol.** 30: 257-263.
- Yanagisawa S. 2004. Cross-talk between signaling pathways in plants: controlling degradation of transcription factors is a key for cross-talk. **Tanpakushitsu Kakusan Koso.** 49: 2131-2138.