Chapitre 3.

NUTRITION AZOTEE

Pr Abderrahman OUIJJA

Quelle importance joue l'azote pour la plante ?

L'azote, élément fondamental des tissus végétaux (d'un point de vue quantitatif, **c'est le 4e élément nutritif le plus abondant** des plantes par rapport à leur matière sèche), est déterminant de la croissance et du fonctionnement des plantes et donc du rendement.

Il entre dans la composition chimique de nombreux constituants végétaux (protéines, enzymes, coenzymes, acides nucléiques, acides aminés, chlorophylles, alcaloïdes, substances de croissance, etc.).

Comment s'effectue la nutrition azotée chez les plantes ?

(i) Azote minéral :

Généralement, **la plupart des plantes terrestres** utilisent, pour leur nutrition azotée, principalement des **formes minérales de l'azote** qu'elles tirent du **sol** sous forme de **nitrates (NO_3^-)** ou de **sels d'ammonium (ou sels ammoniacaux, NH_4^+)**, qui sont produits lors de la décomposition des matières organiques par des microorganismes.

(ii) Azote gazeux :

Seules les plantes réalisant des symbioses avec des bactéries (plantes symbiotiques telles les légumineuses et les plantes actinorhiziennes) peuvent utiliser **l'azote atmosphérique gazeux (N_2)**.

Comment s'effectue la nutrition azotée chez les plantes ?

(iii) Azote organique :

L'utilisation de **l'azote organique** par les plantes supérieures est **exceptionnelle** ; cependant, ce mode de nutrition azotée est rencontré chez **tous les végétaux carnivores, saprophytes ou parasites**.

1. UTILISATION DE L'AZOTE MINERAL

1.1. L’azote du sol

La majeure partie de l'azote de la biosphère se trouve dans **l'atmosphère** (l’air contient environ 80% d’azote sous forme gazeuse).

La teneur des sols agricoles en dérivés azotés est faible.

Sous les climats tempérés elle est de l'ordre de **1 g pour 1000 g** de sol dans les horizons superficiels dont :

- **1 à 2% en moyenne sont sous forme minérale soluble**

(principalement nitrates (NO_3^-) et ammoniaque (NH_4^+); en quantités moindres : nitrites (NO_2^-) et oxyde nitrique (N_2O)) ;

- **la plus grande partie est essentiellement à l’état organique**

sous forme de résidus organiques, d'humus et d’autres composants organiques (tels les protéines, les nucléotides, les acides nucléiques, les acides aminés, etc.).

Pour les plantes, les formes les plus utilisables d’azote sont principalement :

- les **nitrates (NO_3^-)** et
- l'**ammonium (NH_4^+)**.

Cet **azote minéral soluble** est obtenu grâce à la dégradation de la matière organique du sol.

La matière organique du sol est constituée de débris d’origine :

- végétale (résidus végétaux, exsudats),
- animale (déjections, cadavres),
- fongique et microbienne (organismes morts, exsudats).

Phases de dégradation de la matière organique du sol :

(i) Humification (formation de l'humus) :

- Opération ayant lieu sous l'action de la **microflore** (bactéries, actinomycètes, champignons) et/ou de la **pédofaune** (organismes animaux décomposeurs tels : vers, insectes, acariens, etc.).

- Une des caractéristiques importantes de ce processus est l'incorporation de l'azote (N) dans les macromolécules humiques (acide fulvique, acide humique et humine ; ces trois macromolécules constituant l'humus représentent 70 à 90% des matières organiques du sol), conduisant à un stockage de l'azote sous forme organique dans le sol.

Phases de dégradation de la matière organique du sol

(ii) Minéralisation de l'humus (transformation de la matière organique dégradée en substances minérales) :

Ce processus produit principalement **NH_4^+, NO_3^-**, CO_2 (et HCO_3^-), $H_2PO_4^-$, SO_4^{2-} ainsi que cations (Ca^{2+}, Mg^{2+}, K^+, etc.) et anions (Cl^-) plus ou moins liés à la matière organique.

Réactions de production de l'azote minéral lors de la décomposition de la matière organique :

Au cours de la décomposition de la matière organique, l'azote organique est transformé en azote minéral par une série de **microorganismes** au cours des diverses réactions suivantes :

(i) L'ammonification ou l'ammonisation;

(ii) La nitrification;

(iii) La dénitrification.

Réactions de production de l'azote minéral lors de la décomposition de la matière organique

(i) L'ammonification ou l'ammonisation :

Consiste en la libération de l'ammonium (NH_4^+), à partir de la matière organique (lors de la minéralisation de l'humus);

elle est réalisée par des bactéries ammonifiantes.

Dans les sols où le pH est élevé, l'ammonium se transforme en ammoniac gazeux selon la réaction de réduction (1) suivante :

$$NH_4^+ + OH^- \rightarrow NH_3 + H_2O \quad (1)$$

ammonium hydroxyle ammoniac (gaz) eau

Réactions de production de l'azote minéral lors de la décomposition de la matière organique

(ii) La nitrification :

Consiste en la production de nitrites (NO_2^-) et de nitrates (NO_3^-) par oxydation de la plus grande partie de l'ammoniac gazeux produit lors de la réaction (1)

(une partie de l'ammoniac peut être volatilisée et retourne dans l'atmosphère).

La nitrification est réalisée par deux groupes de bactéries nitrifiantes (bactéries nitreuses et bactéries nitriques) :

Réactions de production de l'azote minéral lors de la décomposition de la matière organique

La nitrification + bactéries nitreuses

Nitrosomonas, Nitrococcus, Nitrospira, Nitrocystis.

Ces bactéries réalisent la nitrosation selon la réaction d'oxydation (2) suivante :

$2\ NH_4^+ + 3\ O_2 \rightarrow 2\ NO_2^- + 2\ H_2O + 4\ H^+$ (2)

ammonium oxygène nitrite eau hydrogène

La nitrification + bactéries nitriques

Nitrobacter.

Ces bactéries agissent après les bactéries nitreuses, réalisant la nitratation selon la réaction d'oxydation (3) suivante :

$2\ NO_2^- + O_2 \rightarrow 2\ NO_3^-$ (3)

nitrite oxygène nitrate

Réactions de production de l'azote minéral lors de la décomposition de la matière organique

(iii) La dénitrification :

Par prélèvement de l'azote du sol, les plantes terrestres entrent en compétition vis-à-vis de l'azote avec des bactéries dénitrifiantes (ex : *Thiobacillus denitrificans*).

La dénitrification consiste en la réduction d'une partie des nitrates issus de la nitrification en azote gazeux (diazote N_2) qui retourne dans l'atmosphère.

Cette réaction de dénitrification est réalisée selon l'équation (4) suivante :

$$4\ NO_3^- + 5\ (CH_2O) + 4\ H^+ \rightarrow 2\ N_2 + 5\ CO_2 + 7\ H_2O \quad (4)$$

nitrate — matière organique — hydrogène — azote (gaz) — gaz carbonique — eau

1.2. Utilisation de l’azote minéral par les végétaux

Préférences des plantes pour l'azote minéral (ammonium ou nitrates) ?

Dans la majorité des sols, grâce aux bactéries nitrifiantes, l'ammonium est rapidement converti en nitrates (équations 2 et 3).

Avec l'azote organique, l'azote ammoniacal est la forme qu'utilisent la plupart des champignons.

L'ammonium est une forme très assimilable par les végétaux supérieurs. Certaines plantes cultivées (telle la Pomme de terre) ont un meilleur rendement avec l'ammonium ; par contre pour les Graminées, un meilleur rendement est obtenu avec les nitrates.

Préférences des plantes pour l'azote minéral (ammonium ou nitrates) ?

Les préférences des plantes, pour l'ammonium ou les nitrates, dépendent souvent de l'âge et des conditions de culture, ainsi :

- Les plantes jeunes préfèrent généralement NH_4^+ (cas de la Tomate, du Maïs, du Riz) ; mais il y a des exceptions (Canne à sucre, Cotonnier).

- Le **pH** a une importance capitale : **une diminution du pH favorise l'absorption et l'assimilation des nitrates (anion), alors qu'une augmentation du pH favorise celle des ions ammonium (cation).**

pH externe

pH	conséquences
4 ≤ pH ≤ 9	la diminution du pH réduit l'absorption des cations, l'**A**ugmentation du pH réduit celle des **A**nions (fig. 1).
pH < 4	**entraînent des lésions de la membrane plasmique** et augmentent les phénomènes d'**exsorption** (sortie des éléments minéraux vers le milieu extérieur).

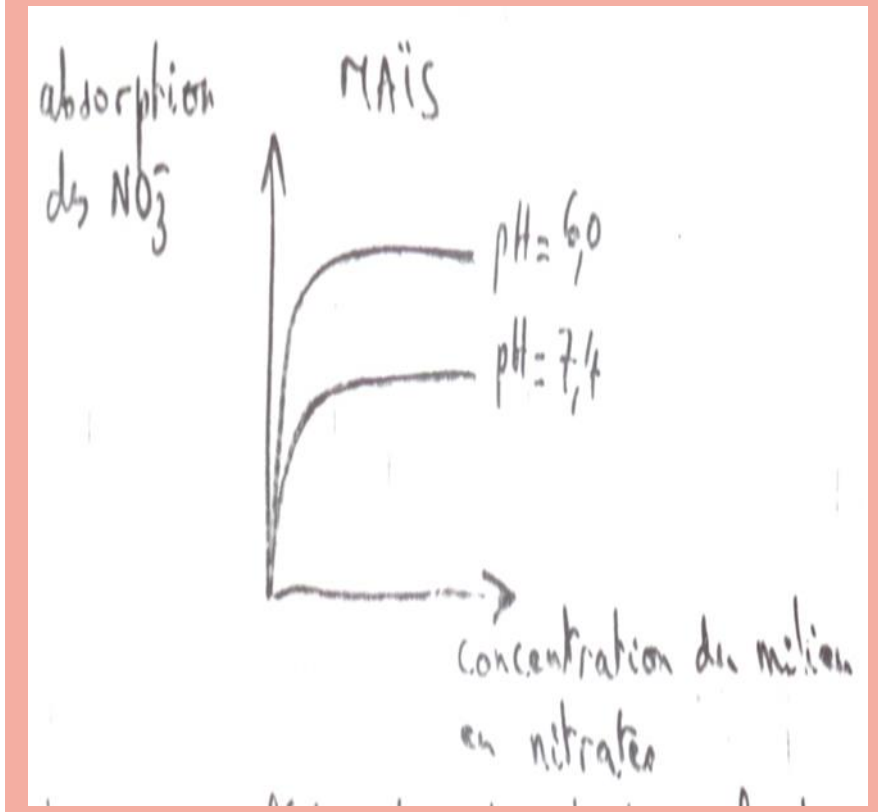


Fig. 1 - Variation de l'absorption des nitrates en fonction de leur concentration dans le milieu (cas du Maïs à pH = 6 et pH = 7,4).

1.2.1. Absorption de l'ammonium et des nitrates

* Absorption de l'ammonium et des nitrates

La richesse du sol en tel ou tel élément minéral implique des interactions ioniques jouant généralement en sens opposé pour l'ammonium et les nitrates, ainsi :

- NH_4^+ se comporte comme un cation antagoniste de K^+, Ca^{2+} ou Mg^{2+}.

  Des excès de NH_4^+ peuvent provoquer la carence en ces éléments (cas du Blé) ; inversement une addition de calcium aux cultures diminue la toxicité de l'ammonium.

- NO_3^- en tant qu'anion, favorise la pénétration des cations et principalement celle de K^+.

- NH_4^+ favorise l'entrée des ions phosphoriques, entrée gênée au contraire par NO_3^-.

1.2.1.1. Azote ammoniacal

Absorption de l'ammonium

- **L'entrée des ions NH_4^+ est passive**, et se fait par un canal transmembranaire, sous l'effet de la différence de potentiel créée par l'efflux de protons (pompe H^+-ATPase).

- **L'absorption des ions NH_4^+ n'est possible que si elle est associée au cotransport d'un anion ou au contretransport d'un cation**.
  - Les ions qui sont le plus souvent associés à cette absorption sont **les ions phosphoriques et les protons**.

  - Ceci pour satisfaire à l'équilibre acido-basique du milieu et pour éviter les dommages que causerait une augmentation des charges positives à l'intérieur des cellules (élévation du potentiel électrique, baisse du pH)

(une cellule ne peut fonctionner que si ces paramètres [potentiel électrique et pH] se situent entre certaines limites [homéostasie]).

ex : <u>les engrais ammoniacaux sont acidifiants</u> :

le <u>contretransport avec les protons H^+</u> est d'autant plus privilégié que l'assimilation de NH_4^+ passe par une déprotonation (fig. 1).

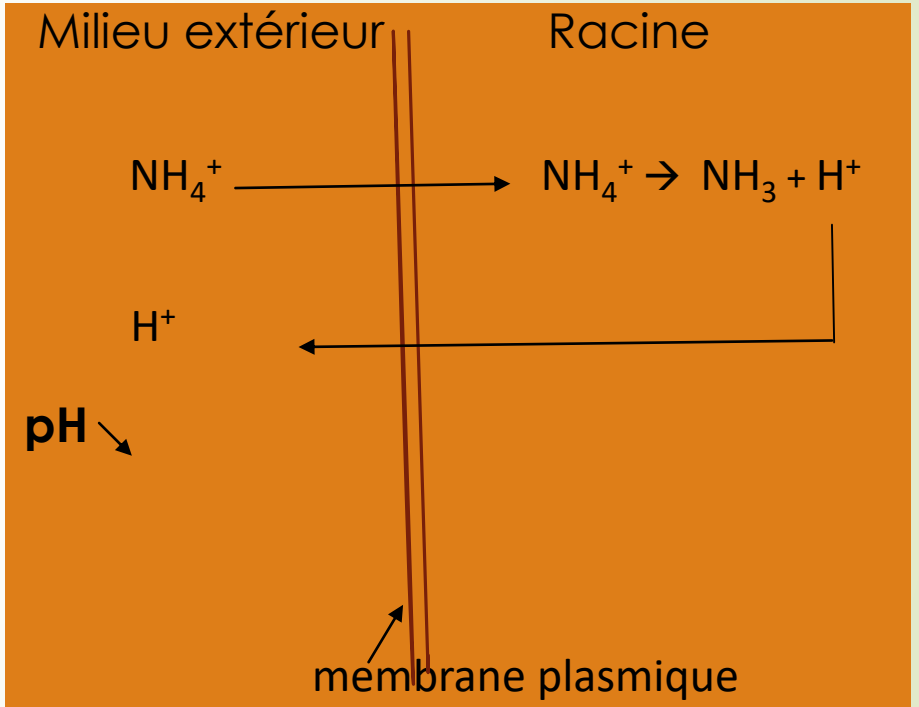


Figure 1. Nutrition ammoniacale et variation de pH.

Absorption de l'ammonium

Les ions NH_4^+ sont beaucoup plus toxiques pour les plantes que les ions NO_3^-, de ce fait **la plupart des végétaux n'accumulent pas NH_4^+ libre** qui peut être en excès dans la cellule **mais l'incorporent rapidement dans les acides aminés pour éviter tout problème de toxicité**

(l'ammonium interfère avec le métabolisme énergétique de la cellule, en particulier avec la production d'ATP : même faiblement concentré, NH_4^+ découple la formation d'ATP du transfert d'électrons aussi bien dans les chloroplastes que dans les mitochondries).

1.2.1.2. Azote nitrique

Pour les végétaux qui ne forment pas d'associations symbiotiques fixatrices d'azote avec certains microorganismes, la source principale de l'azote est en fait constituée par le nitrate NO_3^- qui est la forme azotée la plus abondante dans le sol et la plus disponible pour les végétaux.

**Absorption des nitrates

- **Le transport de NO_3^-** se fairait à travers les membranes cellulaires des racines par un mécanisme exigeant de l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP (**transport actif**).

- L'absorption des ions NO_3^- se fait contre le gradient électrochimique (potentiel électrique endocellulaire négatif par rapport au milieu extracellulaire).

- L'absorption des nitrates met en jeu un transporteur (protéine constitutive de la membrane). **Le transporteur est une ATPase spécifique inductible par le nitrate lui-même**. Il n'est donc actif qu'en présence de NO_3^- (fig. 2).

Démonstration expérimentale :

Une racine maintenue pendant un certain temps sans NO_3^- absorbera le nitrate ajouté *après* ***un temps de latence***. Les protéines de transport du NO_3^- sont alors synthétisées (fig. 2).

Au contraire, l'ion Cl^- est absorbé **directement** après avoir été ajouté (par diffusion facilitée par canaux à Cl^-) (fig. 2).

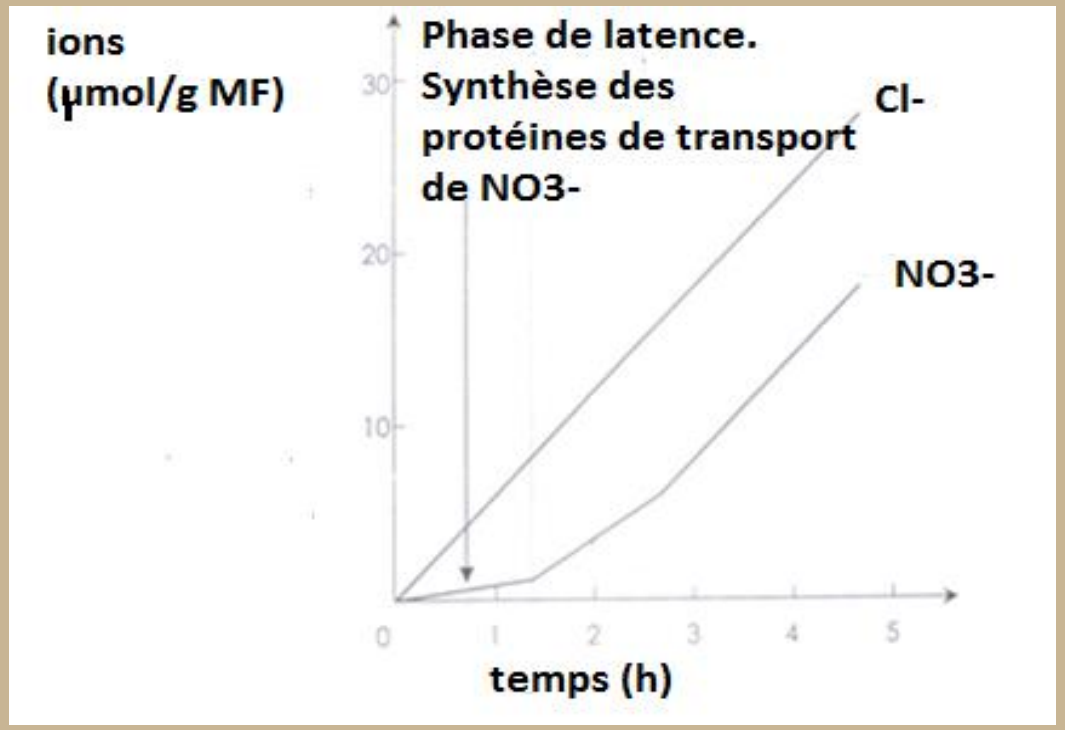


Figure 2. Induction de l'assimilation des nitrates dans les racines de Maïs. Les racines se sont développées dans un milieu dépourvus de chlorures Cl^- ou de nitrates NO_3^-. **Les chlorures sont absorbés immédiatement après leur addition, contrairement aux nitrates qui le sont après un temps de latence**.

- **Pour des raisons d'homéostasie, l'absorption des ions NO_3^- doit être associée au cotransport d'un cation ou au contretransport d'un anion**.

Pour le cation, il s'agit en général de K^+ (très mobile et sensible aux variations de potentiel électrique).

Pour l'anion, il s'agit de l'hydroxyle OH^-.

Les nitrates sont les engrais azotés minéraux les plus utilisés en agriculture.

Ils sont très solubles et peuvent être drainés dans le sol par les eaux de surface ou très rapidement entraînés lors de l'écoulement des eaux de surface vers les cours d'eau et les nappes phréatiques (ce qui entraîne une pollution en nitrates de l'environnement).

Les engrais nitriques sont alcalinisants :

des hydroxyles OH^- sont libérés lors de la réduction des nitrates (fig. 3).

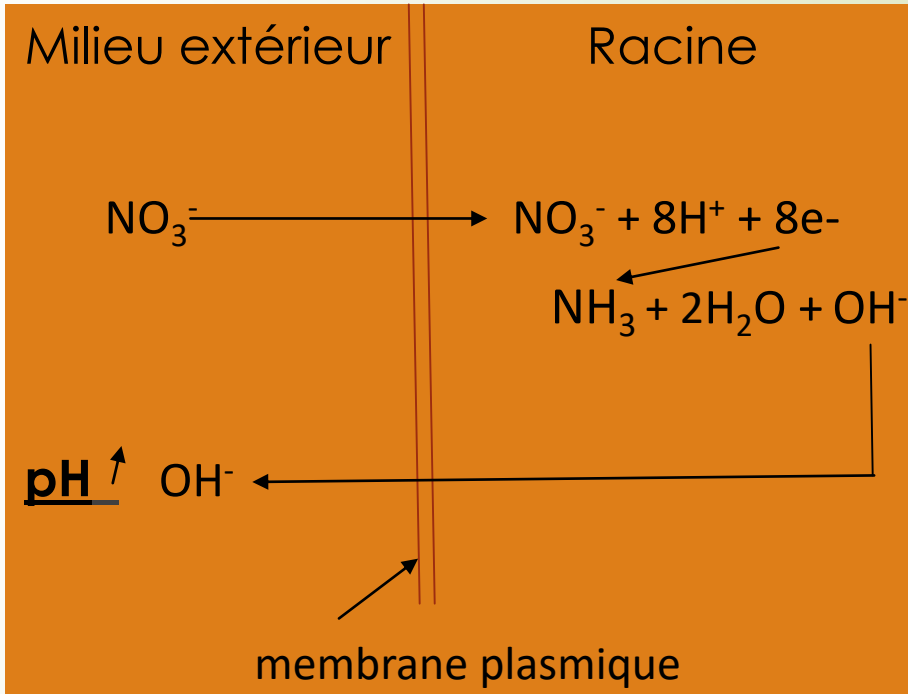


Figure 3. Nutrition nitrique et variation de pH.

1.2.2. Assimilation de l'azote minéral

L'assimilation de l'azote par les végétaux assure le **passage des formes azotées minérales** absorbées à partir de l'environnement ambiant des végétaux **aux aminoacides et autres composés organiques** nécessaires à ces organismes vivants.

**

Cette assimilation s'effectue en 2 phases : (a) la réduction des nitrates ; (b) la synthèse de la glutamine et du glutamate (acides aminés).

1.2.2.1. Réduction des nitrates

La réaction globale de réduction des nitrates (5) s'écrit :

$$NO_3^- + 8H^+ + 8e^- \rightarrow NH_3 + 2H_2O + OH^- \qquad (5)$$

Comme pour l'absorption des nitrates, leur réduction est également induite par NO_3^- et NO_2^- ; NH_4^+ a un effet répresseur.

La réduction des ions nitrates s'effectue en deux étapes :

a) la réduction des nitrates NO_3^- en nitrites NO_2^-

b) la réduction des nitrites NO_2^- en ammoniac NH_4^+

a) la réduction des nitrates NO_3^- en nitrites NO_2^-

Réaction catalysée par une **nitrate réductase (NR)** (réaction 6 et fig. 4) :

$NO_3^- + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NO_2^- + H_2O$ (6)

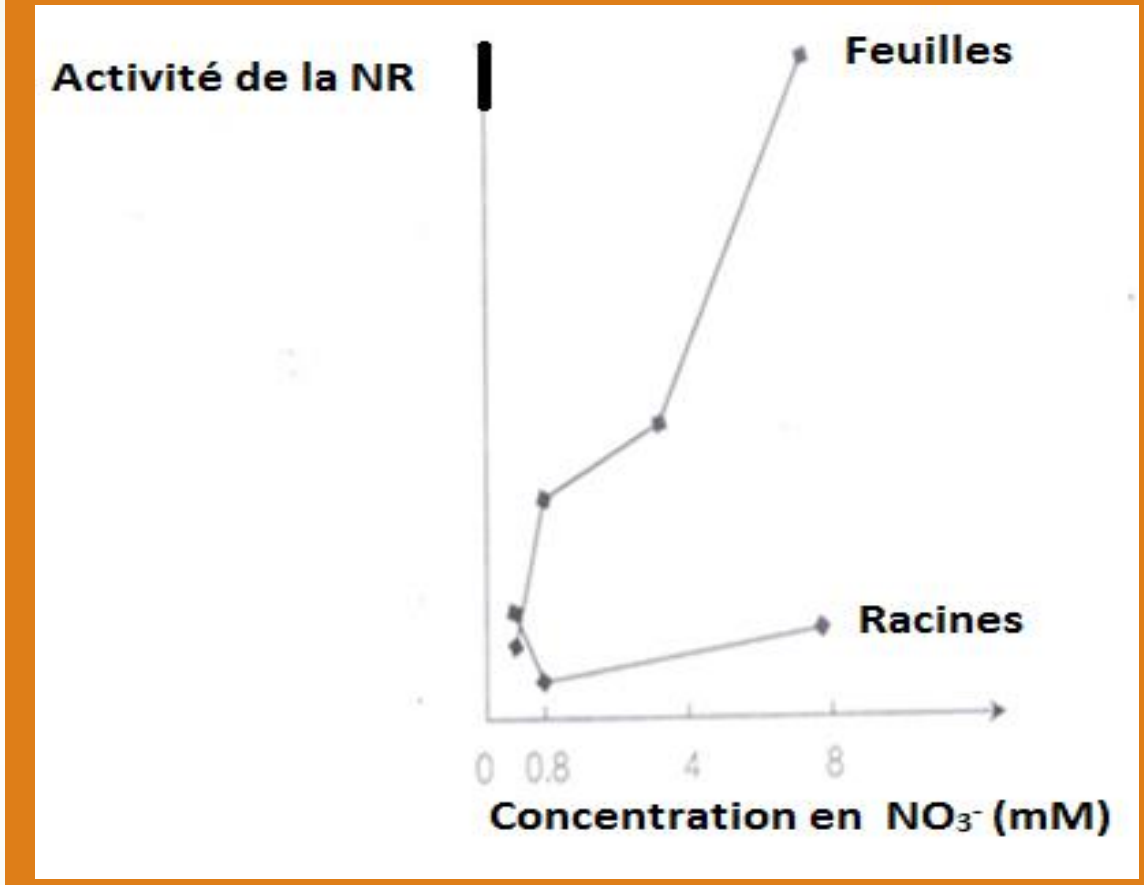


Figure 4. Activité nitrate réductase dans les **racines** et les **feuilles** de petits pois en fonction de la concentration en NO_3^- dans la racine (d'après Wallace et Pate, 1967).

Réduction des nitrates NO_3^- en nitrites NO_2^-

Nitrate réductase (NR)

- La NR est une enzyme contenant du fer, du molybdène (Mo) et du FAD.

La **NR** est la principale **enzyme cytosolique** à molybdène des plantes qui ne fixent pas le diazote.

L'une des conséquences de la **carence en molybdène chez les plantes** est une diminution marquée de l'activité de la NR et donc une **carence en azote**.

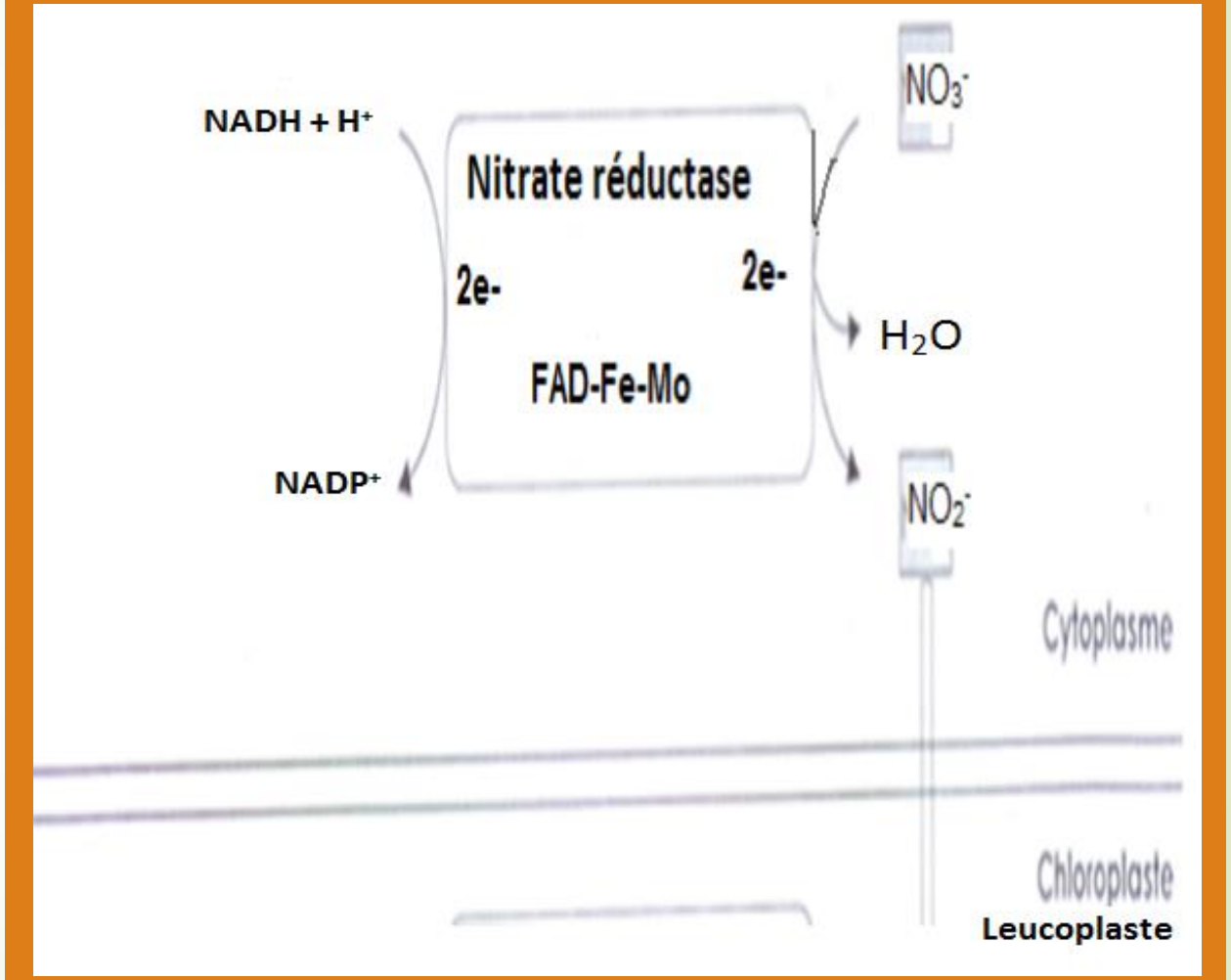


Figure 5. Réduction des nitrates dans les cellules vertes.

Réduction des nitrates NO_3^- en nitrites NO_2^-

Nitrate réductase (NR)

- **La NR est inductible**, c'est-à-dire qu'elle n'est synthétisée qu'en présence de NO_3^-.

- **Le donneur d'électrons au NO_3^- est le NADH** (fourni (i) à l'obscurité par la respiration; (ii) à la lumière indirectement par la photosynthèse à partir du NADPH formé dans le chloroplaste) (fig. 5).

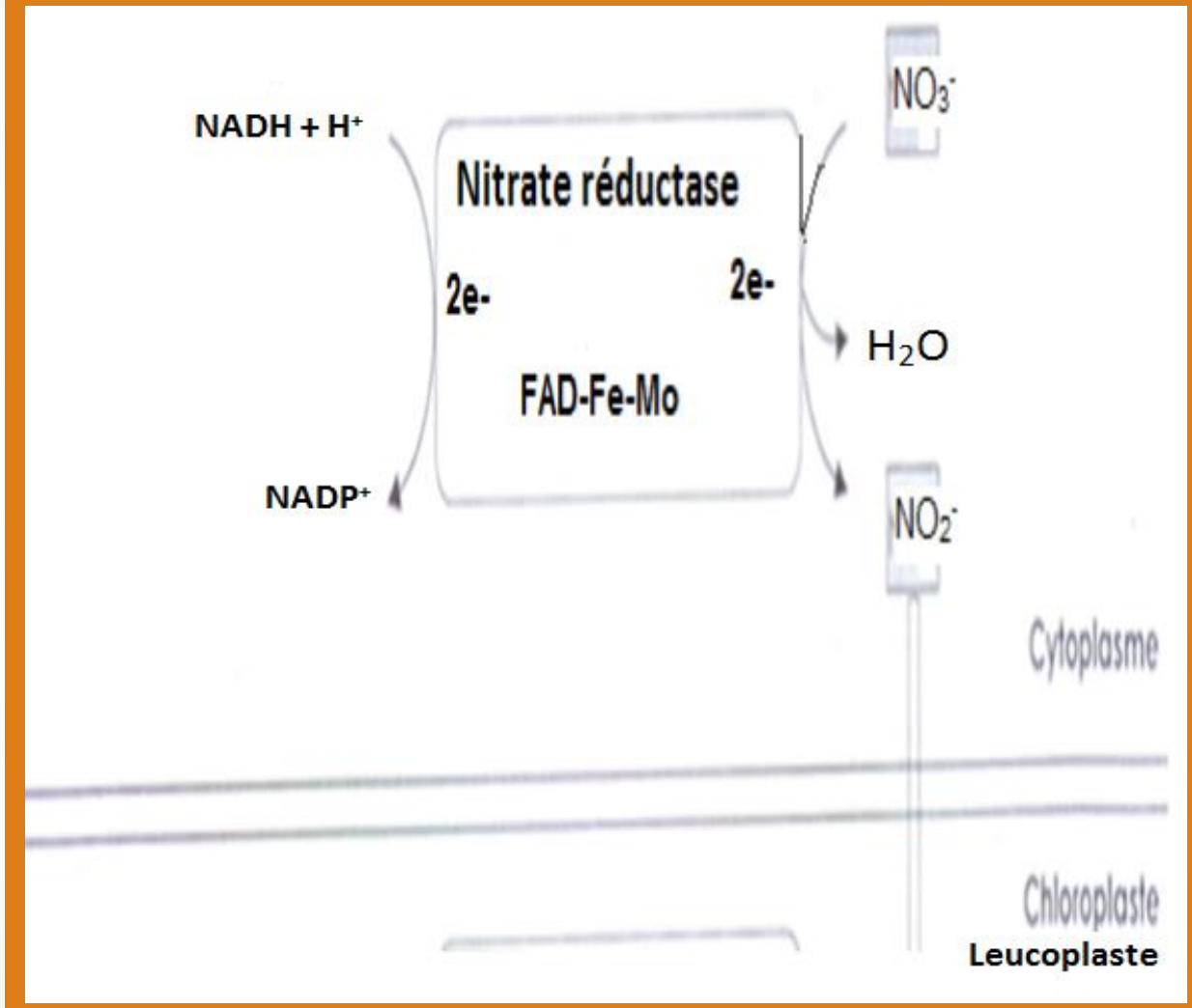


Figure 5. Réduction des nitrates dans les cellules vertes.

b) La réduction des nitrites NO_2^- en ammoniac NH_4^+

Grâce à la **nitrite réductase (NiR)**.

La réduction des nitrites produits dans le **cytosol** des cellules **racinaires** s'effectue ensuite - après leur **migration** - dans les **leucoplastes** (pour les **racines**) ou dans les **chloroplastes** (pour les **feuilles**) selon la réaction 7 suivante :

$$NO_2^- + 6\ H^+ + 6\ e^- \rightarrow NH_3 + H_2O + OH^- \quad (7)$$

Les nitrites sont toxiques à haute dose et **sont rarement trouvés en forte concentration dans les plantes**. Ceci est dû au fait que **l'activité de la NiR est normalement plus élevée que celle de la NR**.

Le NH_3 formé dans la réaction catalysée par la NiR est réduit en NH_4^+ avec libération de OH^-.

Réduction des nitrites NO_2^- en ammoniac NH_4^+

Nitrite réductase (NiR)

- La nitrite réductase est un complexe enzymatique constitué d'une protéine Fe-S, du sirohème (groupement tetrapyrrole contenant le Fe) et d'un FAD.

- Dans les **feuilles vertes**, la **ferrédoxine**, qui s'oxyde, **est le donneur d'électrons de la nitrite réductase chloroplastique**.

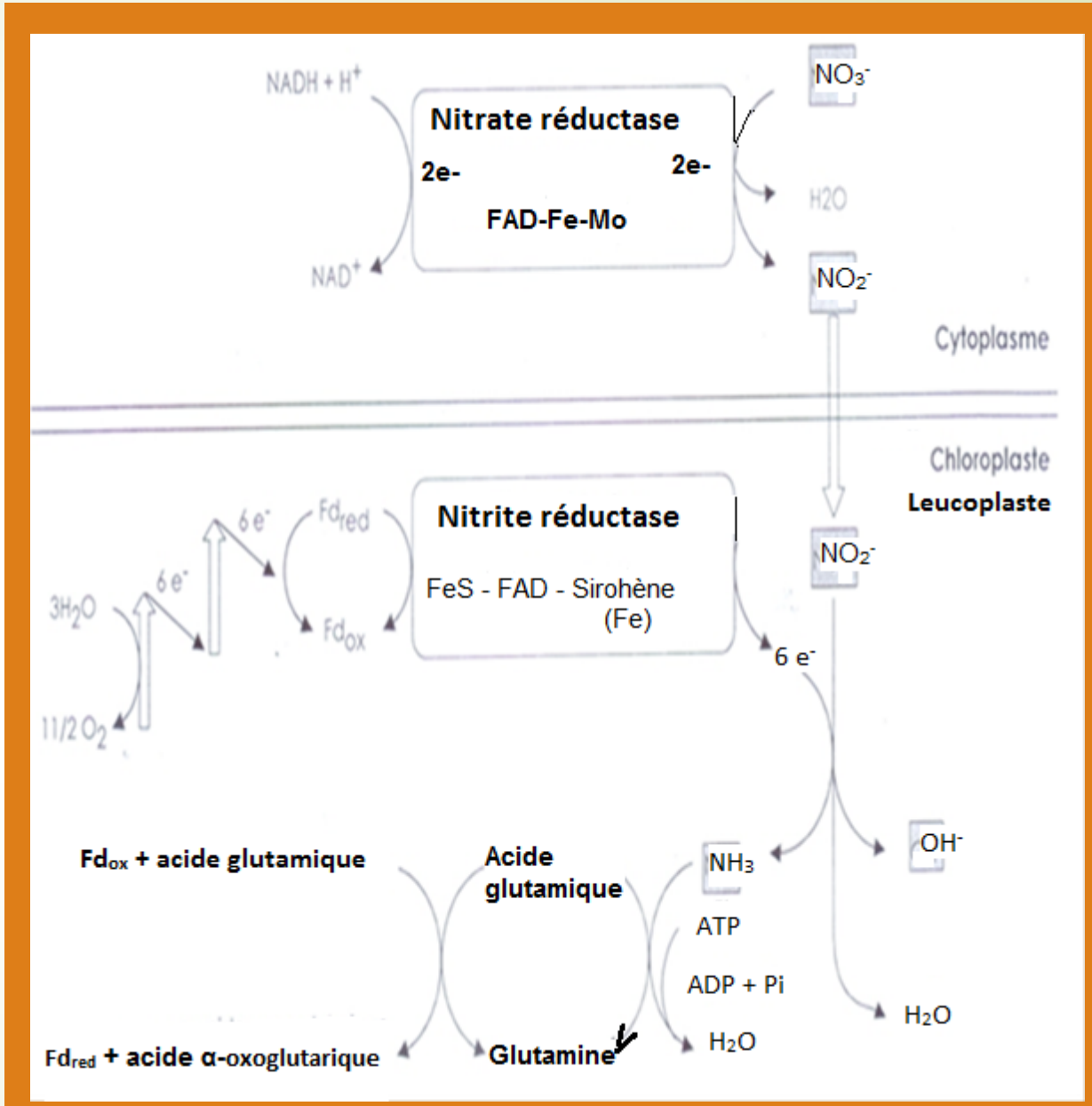


Figure 5. Réduction des nitrates dans les cellules vertes.

Réduction des nitrites NO_2^- en ammoniac NH_4^+

Nitrite réductase (NiR)

La NiR transfert les électrons sur les nitrites.

La ferrédoxine sera de nouveau réduite, dans la feuille par le photosystème I, et dans la racine par le NADPH (qui tire son pouvoir réducteur de la respiration, après transfert de ce pouvoir des mitochondries aux leucoplastes).

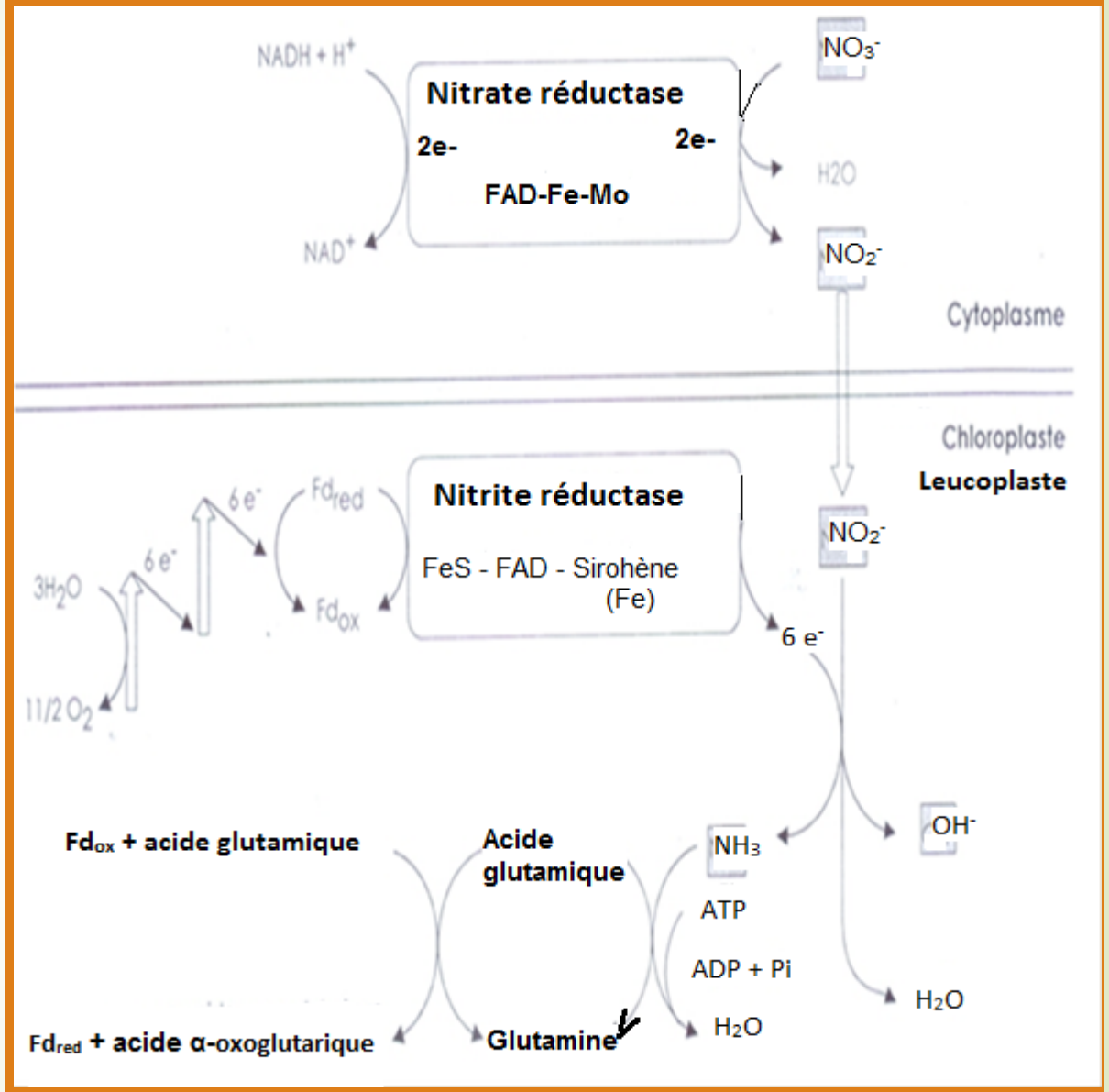


Figure 5. Réduction des nitrates dans les cellules vertes.

Assimilation de l'azote mineral

La concentration des nitrates NO_3^- est faible dans la racine.

Une grande partie des ions nitrates, qui ne peuvent être assimilés directement, une fois absorbés, sont ensuite réduits en NH_4^+ d'abord dans les racines.

Chez la plupart des arbres (Rosacées en particulier), la réduction des nitrates est si avancée dans la racine que la **sève brute** ne contient plus de nitrates mais seulement des traces de **sels ammoniacaux** alors que la **sève élaborée** est **riche en aminoacides et autres composés organiques**.

La preuve d'une assimilation suffisante des nitrates dans la racine est également fournie par le fait que les racines excisées (racines isolées cultivées *in vitro*) se développent parfaitement dans une solution nutritive ne contenant l'azote que sous forme nitrique.

Toutefois, chez de nombreuses espèces, surtout herbacées (Blé), **pour les nitrates qui n'ont pas été réduits dans la racine, la réduction s'effectue dans les feuilles vertes, à la lumière**.

1.2.2.2. Synthèse de la glutamine et du glutamate

Synthèse de la glutamine et du glutamate

Les aminoacides (glutamine, glutamate) étant des composés organiques nécessaires aux végétaux, d'où viennent **les squelettes carbonés** nécessaires pour leur fabrication ?

Dans la plante, il existe une coordination entre la réduction des nitrates et la photosynthèse.

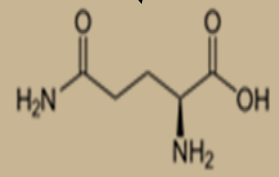
La réduction du nitrate ne peut se faire que si la photosynthèse est pleinement active et capable de fournir **l'énergie** nécessaire ainsi que **les squelettes carbonés** indispensables à l'incorporation de l'ammonium.

Synthèse de la glutamine et du glutamate

L'ammonium NH_4^+ contribue à la synthèse des premiers acides aminés (glutamine et glutamate) lorsqu'il est incorporé dans des molécules organiques par l'action combinée de deux enzymes : la **glutamine synthétase (GS)** et la **glutamate synthase (GOGAT)** (voie du **cycle de la glutamate synthase).**

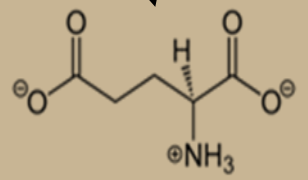
- la **glutamine synthétase** (GS) catalyse la réaction 8 :

2 Glutamate + 2 $\mathbf{NH_4^+}$ + 2 ATP → 2 glutamine + 2 ADP + 2 Pi



- la **glutamate synthase** (GOGAT ou **g**lutamine-2-**o**xo**g**lutarate-**a**mino-**t**ransférase) catalyse la réaction 9 :

Glutamine + α - cétoglutarate + NADH + H^+ → 2 glutamates + NAD^+



Synthèse de la glutamine et du glutamate

Dans les **espèces qui ne fixent pas le diazote atmosphérique**, **la GS ainsi que la GOGAT** sont habituellement rencontrées dans les cellules des **racines** et des **feuilles**.

La **GS est localisée dans le cytosol et dans les chloroplastes des cellules foliaires**.

La **GOGAT** est une enzyme **plastidiale**, située dans les leucoplastes des **racines** et les chloroplastes des **feuilles**.

Synthèse de la glutamine et du glutamate

Les acides aminés ne s'accumulent pas, ils sont immédiatement métabolisés par des réactions catalysées par différentes enzymes et sont le point de départ de nombreux métabolites.

L'azote contenu dans la glutamine et la glutamate est alors transféré à des acides organiques pour permettre **la synthèse de métabolites primaires et secondaires**.

Assimilation de l'azote mineral

Synthèse de la glutamine et du glutamate

(i) Métabolites primaires :

les peptides et d'autres acides aminés sont utilisés pour la synthèse des protéines (de structure et de réserve, des vitamines, des enzymes du métabolisme), nucléotides, acides nucléiques et toutes les molécules contenant de l'azote (auxine, éthylène, etc.);

(ii) Métabolites secondaires :

alcaloïdes, terpénoides, hétérosides et composés phénoliques par des réactions catalysées par différentes enzymes.

Synthèse de la glutamine et du glutamate

Le carbone provenant de la photosynthèse est fourni, à partir du cycle des acides tricarboxyliques (cycle de Krebs), sous forme d'α-cétoglutarate, molécule nécessaire pour la réaction catalysée par le GOGAT.

Dans certaines conditions physiologiques, l'α-cétoglutarate peut provenir de la réaction catalysée par la glutamate déshydrogénase (GDH) (fig. 9).

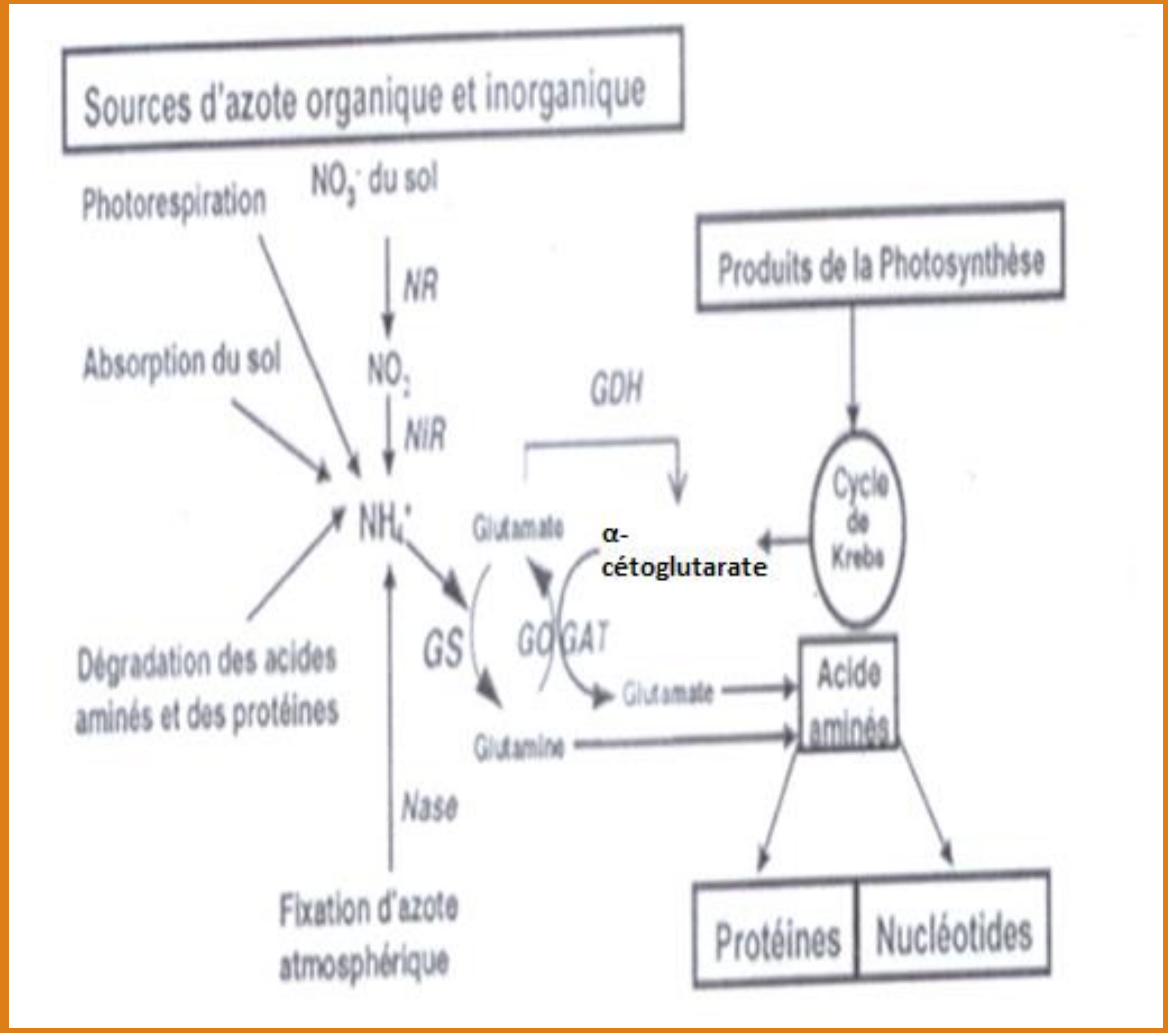


Figure 9. Principales étapes de l'assimilation de l'azote chez les plantes supérieures.

Synthèse de la glutamine et du glutamate

La forte affinité de la GS pour NH_4^+ ainsi que la concentration élevée en GS, permettent le maintien d'une concentration en NH_4^+ libre, inférieure au seuil de toxicité.

Régulation de l’absorption des nitrates :

a) Par les acides aminés :

Une forte **inhibition de l'absorption des nitrates par les racines** est notée dans les cas suivants :

- la **composition de la sève élaborée en acides aminés** (comme l'arginine, l'alanine et la glutamine).
- lors d'un **apport directe d'acides aminés dans le milieu de culture** (Muller et Touraine, 1992).

Ceci laisse penser que les acides aminés ou les peptides qui circulent dans le phloème interviendraient dans le contrôle de la quantité de nitrates absorbée par les racines et **ceci par une possible inhibition de l'activité de la glutamine synthétase (GS)** responsable de l'assimilation de l'ammoniaque.

Régulation de l'absorption des nitrates :

b) Par les acides organiques :

Au cours de la réduction des nitrates en ammonium il y a libération des ions hydroxyles OH^- (réaction 7).

$$\mathbf{NO_2^-} + 6\ H^+ + 6\ e^- \rightarrow NH_3 + H_2O + \mathbf{OH^-} \qquad (7)$$

Ces **ions hydroxyles ont tendance à alcaliniser le suc vacuolaire des cellules foliaires**.

Pour des raisons d'homéostasie du pH, la plante synthétise des acides organiques en utilisant ces ions OH^-.

Ces ions OH^- sont transférés sur un maillon carboné pour former le bicarbonate (HCO). Par la suite ce bicarbonate réagit avec le phosphoénolpyruvate (PEP) grâce à une PEP carboxylase et forme l'oxaloacétate qui va se transformer par la suite en d'autres acides organiques.

Régulation de l'absorption des nitrates

Acides organiques

Ainsi **une réduction importante des nitrates entraîne une accumulation importante d'acides organiques dans les feuilles.**

Ces acides organiques s'associent au K^+ et sont transportés vers les racines où ils sont décarboxylés. Le bicarbonate est excrété par les racines, et le K^+ accompagne de nouveau les anions nitrates vers les feuilles par voie du xylème (Touraine *et al.*, 1988).

Régulation de l’absorption des nitrates

Acides aminés et acides organiques

Les **acides aminés** circulant dans le phloème et les **acides organiques** ont deux effets opposés sur le contrôle de l'absorption des nitrates :

la libération dans le milieu extérieur du bicarbonate HCO (grâce à la décarboxylation des acides organiques) **stimule l'absorption des nitrates, tandis qu’un taux élevé d’acides aminés inhibe cette absorption des nitrates**.

Ces deux phénomènes ne fonctionnent pas d'une façon parallèle sur la régulation de l'absorption des nitrates, ainsi :

Régulation de l'absorption des nitrates / Acides aminés et acides organiques

(i) Pendant la période de croissance végétative :

(a) Les taux de réduction des nitrates, de synthèse des carboxylates et de synthèse des acides aminés sont élevés.

La majeure partie des acides aminés est utilisée localement pour la synthèse des chlorophylles et de plusieurs protéines et par conséquent **(b) le taux des acides aminés dans le phloème diminue**.

Par ailleurs **(c) les carboxylates sont exportés rapidement vers les racines et l'absorption des nitrates est alors favorisée.**

(ii) Durant la formation du fruit :

Grâce à la protéolyse des protéines foliaires, la concentration des acides aminés exportés vers le fruit augmente, **(b) le phloème s'enrichit donc en composés azotés** et en même temps **(a) le taux de réduction des nitrates au niveau des feuilles baisse et l'efficacité des ions bicarbonates au niveau des racines diminue**.

2. UTILISATION DE L'AZOTE MOLECULAIRE

L'air atmosphérique terrestre renferme environ 80% d'azote.

Cependant, cet **azote moléculaire libre gazeux (diazote, N_2) ne constitue une source d'azote que pour** des espèces appartenant à deux groupes d'organismes vivants (nommés **fixateurs d'azote**) seulement :

(i) des **microorganismes libres**, nommés aussi **diazotrophes** ou **fixateurs libres** ;

(ii) des **végétaux symbiotiques**, nommés aussi **fixateurs symbiotiques**.

(i) Microorganismes libres (ou **diazotrophes** ou **fixateurs libres**) :

il s'agit :

α - des **bactéries** des genres *Azotobacter, Clostridium, Bacillus, Aerobacter, Chromatium,* ...;

β - des **cyanobactéries** (**algues bleues**) des genres *Anabaena, Nostoc, Calothrix*, …. ;

(ii) Végétaux symbiotiques (ou fixateurs symbiotiques) :

il s'agit :

α - des **légumineuses** (fève, pois, soja, haricot, lentilles, etc.), pour lesquelles l'association symbiotique est réalisée entre la plante et une bactérie appartenant à l'un des quatre principaux genres suivants : *Rhizobium, Bradyrhizobium, Mesorhizobium* ou *Ensifer* (désignés sous le terme *Rhizobia* ou *Rhizobiums*).

β - des **plantes actinorhiziennes** (qui sont des arbres ou des arbustes tels l'Aulne, etc.), pour lesquelles la symbiose est réalisée entre la plante et une Actinomycète (bactérie filamenteuse) du genre *Frankia*.

Dans ce cours, l’attention sera mise seulement sur les végétaux symbiotiques.

2.1. Développement des nodosités des légumineuses

A l'état libre dans le sol :

les *Rhizobia* et *Frankia* (représentant les symbiontes) sont incapables de fixer l'azote atmosphérique.

Dans les associations symbiotiques :

Ces bactéries aérobies (*Rhizobia* et *Frankia)* acquièrent la propriété de fixation de l'azote moléculaire lorsqu'elles pénètrent dans les jeunes racines des plantes (représentant **l'hôte**).

La réaction de l'hôte se traduit par la formation, sur les racines, de petits renflements appelés nodosités ou nodules de couleur rose (couleur due à une chromoprotéine nommée léghémoglobine) (fig. 10).

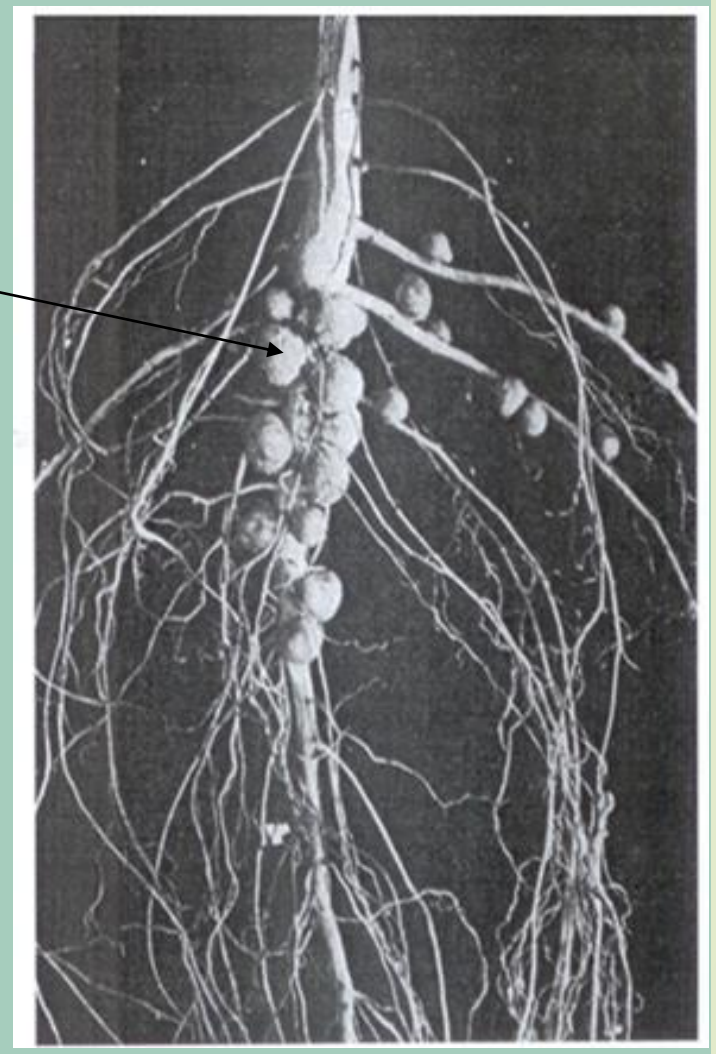


Figure 10 . Racines de soja (*Glycine max*) portant des nodosités.

L'établissement de la symbiose *Rhizobia* - légumineuses ou *Frankia* - plantes actinorhiziennes est complexe.

Etapes clés du développement des nodosités chez les légumineuses :

A – Courbure, en forme de crochet, à l'extrémité des poils absorbants :

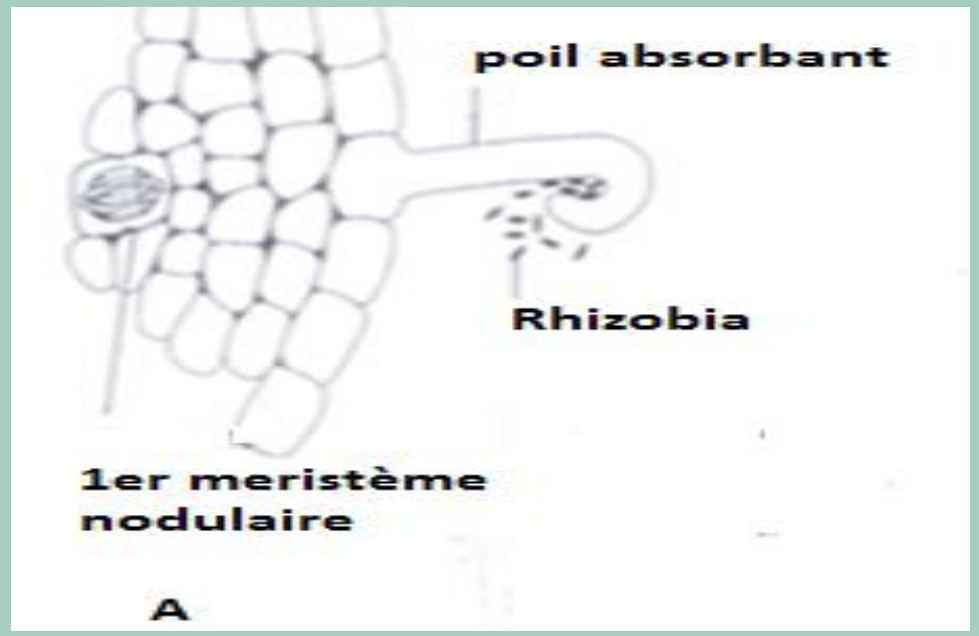


Figure 12. Représentation schématique du mécanisme d'infection des racines de légumineuses par des rhizobiums provoquant la formation d'un nodule (dans Hopkins, 2003).

L'infection par les *Rhizobia* se produit au niveau des poils absorbants.

Sous l'influence des bactéries qui les envahissent en grand nombre, les poils absorbants se recourbent en forme de crochet à leur extrémité (fig. 12).

B – Formation d'un cordon d'infection bactérien et différenciation des bactéroïdes :

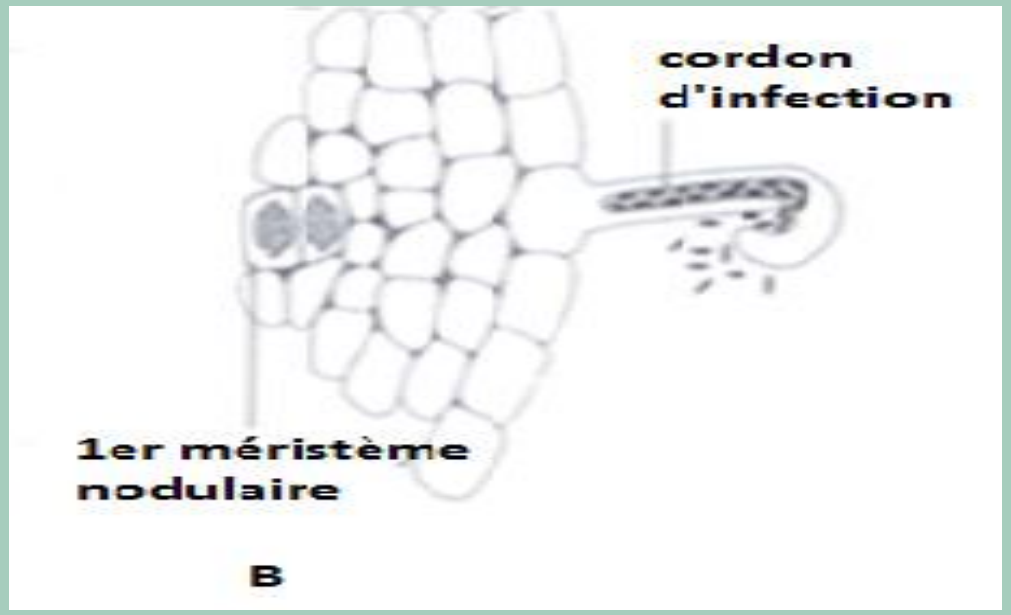


Figure 12. Représentation schématique du mécanisme d'infection des racines de légumineuses par des rhizobiums provoquant la formation d'un nodule (dans Hopkins, 2003).

(i) Formation du cordon d'infection bactérien :

Après une dégradation partielle de la paroi cellulaire des poils absorbants de la plante hôte par les bactéries, **un cordon d'infection bactérien** (invagination en forme de tube de la membrane plasmique de la cellule hôte **renfermant des bactéries en multiplication active**) **pénètre dans les poils absorbants puis atteint, en se ramifiant, le parenchyme cortical de la racine** (fig. 12).

B – Formation d'un cordon d'infection bactérien et différenciation des bactéroïdes

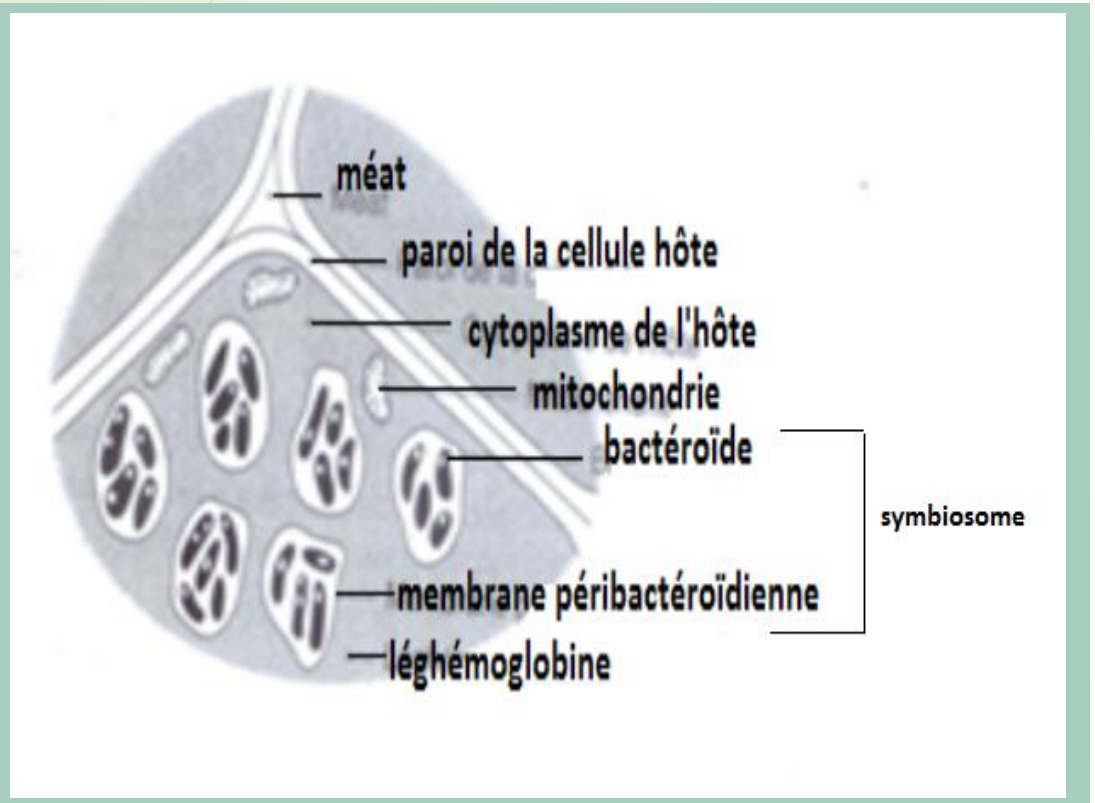


Figure 11. Schéma d'une vue au microscope électronique de nodules de Soja (légumineuse) (dans Heller *et al.*, 1998).

(ii) Différenciation des bactéroïdes :

Dans les cellules du parenchyme racinaire, les cordons d'infection éclatent. **Les *Rhizobia* libérés cessent de se multiplier et subissent des modifications morphologiques** (accroissement de taille, acquisition de formes plus ou moins globuleuses) et des **différenciations biochimiques** (synthèse de protéines particulières, acquisition de la capacité de fixer l'azote atmosphérique) : **les bactéries sont devenues alors des bactéroïdes**.

Les bactéroïdes sont enfermés dans des vésicules limitées par une membrane péribactéroïdienne et constituent un ensemble nommé **symbiosome** (fig. 11).

C - Formation des nodosités :

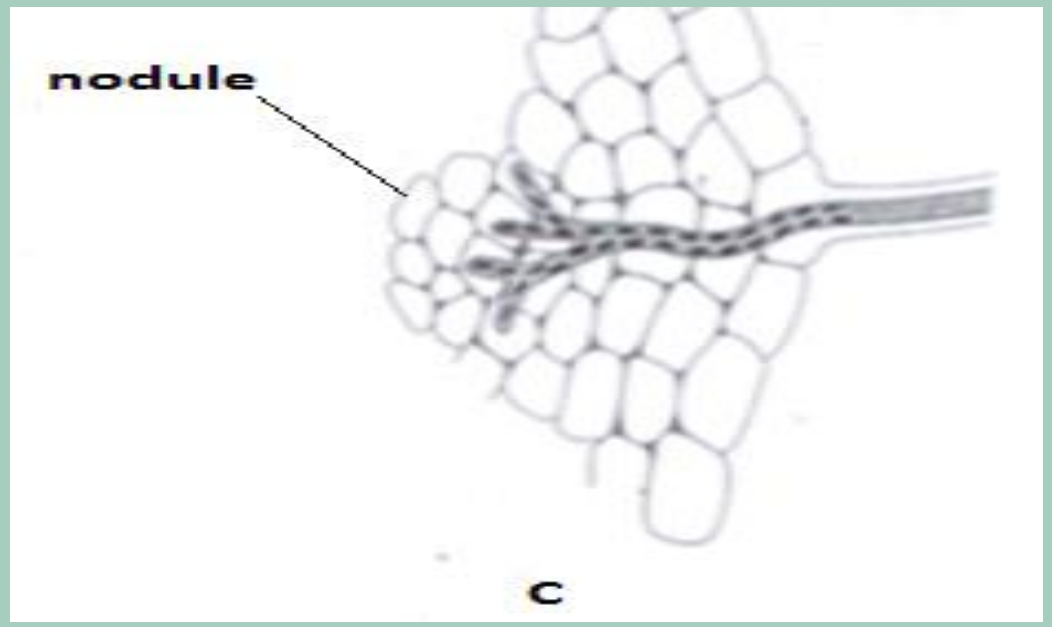


Figure 12. Représentation schématique du mécanisme d'infection des racines de légumineuses par des rhizobiums provoquant la formation d'un nodule (dans Hopkins, 2003).

La nodosité se forme par multiplication des cellules infectées par les bactéries (fig. 12).

Des faisceaux vasculaires se différencient dans les nodules et rejoignent ceux des racines. Le rôle de ces connexions des tissus conducteurs est **d'importer dans le nodule le carbone issu de la photosynthèse et d'exporter l'azote fixé vers les autres parties de la plante hôte** (on a donc bien une symbiose, c'est-à-dire une association à bénéfice réciproque).

Généralement, **à la floraison, les nodules dégénèrent suite à la lyse des bactéroïdes et à la dégradation de la léghémoglobine**.

2.2. Aspects biochimiques de la fixation de l'azote moléculaire

**

L'assimilation de l'azote gazeux par les végétaux symbiotiques s'effectue en deux phases :

a) Réduction de l'azote moléculaire.

b) Synthèse de la glutamine et du glutamate.

2.2.1. Réduction de l’azote moléculaire

**

L'azote moléculaire N_2 subit une réduction en ammoniac (NH_3, NH_4^+ ou R-NH_2) selon l'équation globale (10) suivante :

$$N_2 + 8e^- + 8\ H^+ + 16\ ATP \rightarrow 2\ NH_3 + H_2 + 16\ ADP + 16\ P_i \quad (10)$$

Cette réaction catalysée par une enzyme : la **nitrogénase**

2.2.1.1. Rôles du symbionte et de la plante hôte dans la symbiose *Rhyzobiums* - légumineuses

(i) Le symbionte :

Seuls les procaryotes fixateurs de l'azote atmosphérique possèdent la nitrogénase.

La fixation de l'azote moléculaire par les *Rhizobia* au niveau des nodosités des légumineuses exige la fourniture permanente à la nitrogénase : (i) **d'énergie** (sous forme d' **ATP**) et (ii) d'un **pouvoir réducteur** important (habituellement la **ferrédoxine**). Ces composés biochimiques sont obtenus par une **respiration** active du **symbionte (Rhizobium)**.

Rôles du symbionte et de la plante hôte dans la symbiose *Rhyzobium* - légumineuse

(ii) La plante hôte :

L'activité photosynthétique de la plante hôte assure l'approvisionnement des nodosités en molécules oxydables et permet de disposer aussi de squelettes carbonés (photoassimilats ou photosynthétats : **glucides**) pour l'assimilation du NH_3 produit.

Il existe donc une relation étroite entre la fixation de l'azote et la photosynthèse,

cette dernière fonction métabolique peut constituer un des premiers facteurs limitants du rendement de la symbiose (**l'assimilation de l'azote moléculaire est très faible à l'obscurité**).

2.2.1.2. Régulation de la nitrogénase

- **La synthèse et l'activité de la nitrogénase sont inhibées par l'ammonium ainsi que par les nitrates**, en général.

- **La nitrogénase est** également **inactivée par l'oxygène**, d'où **le rôle de la léghémoglobine comme régulateur de la tension d'oxygène au niveau des nodules** du fait de sa forte affinité pour l'O_2 (comme l'hémoglobine sanguine des animaux).

Dissoute dans le cytoplasme des cellules racinaires contenant les bactéroïdes (et ne pénètre donc pas dans les vésicules bactéroïdiennes (fig. 11)), la léghémoglobine assure à ces derniers une teneur suffisante en oxygène pour permettre leur respiration (qui fournit l'ATP et les réducteurs), tout en abaissant sensiblement la pression partielle d'oxygène, ce qui permettrait l'action de la nitrogénase.

Remarque :

La nitrogénase n'est pas spécifique.

Elle **possède** en particulier **une activité hydrogénase** et **catalyse la réaction de réduction des protons en H_2 moléculaire** selon l'équation (11) suivante :

$$2\ e^- + 2\ H^+ \rightarrow H_2 \qquad (11)$$

2.2.2. Synthèse du glutamate et de la glutamine

2.2.2.1. Exportation de l'azote fixé dans les nodosités vers la plante hôte

Environ 80 à 90% de l'azote fixé est rapidement exporté des nodosités vers le reste de la plante hôte.

L'ammonium formé n'est pas exporté tel quel à partir des bactéroïdes, mais il est incorporé rapidement au glutamate pour former la glutamine, premier produit organique formé source de l'azote aminé dans les nodules de légumineuses.

Exportation de l'azote hors des nodosités

L'assimilation de l'ammonium dans la glutamine emprunte la voie du **cycle de la glutamate synthase**, voie qui implique l'action de la **glutamine synthétase (GS)** et de la **glutamate synthase (GOGAT)**.

La **GS** et la **GOGAT** sont deux enzymes présentes dans le **cytoplasme des cellules de la plante hôte infectées par les *Rhizobia***.

Exportation de l'azote hors des nodosités

Ces deux enzymes (GS et GOGAT) catalysent les deux réactions du cycle de la glutamate synthase (fig. 13) selon les équations (8) et (9) précédentes.

GS

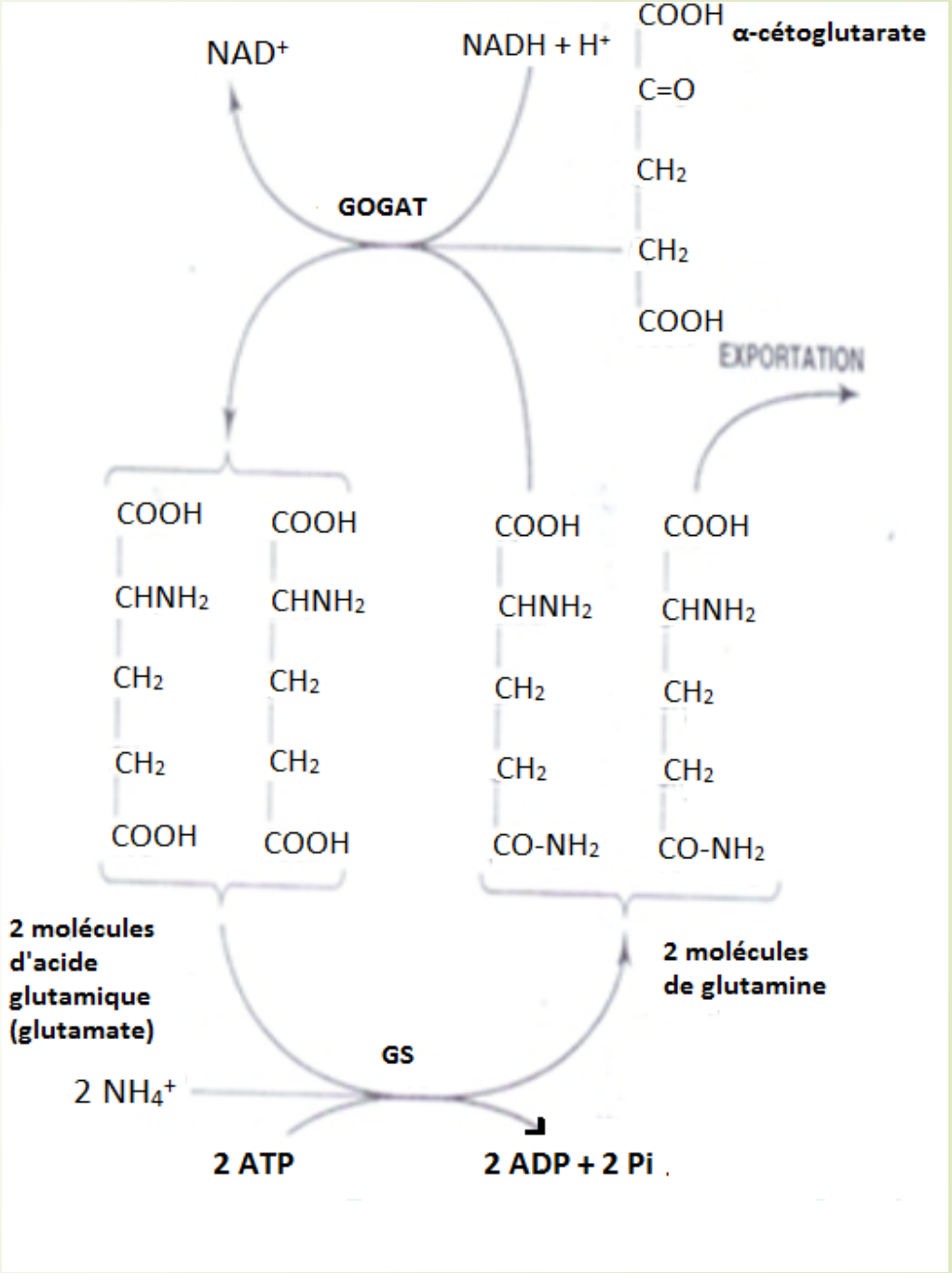
2 Glutamate + **2** NH_4^+ + **2** ATP → 2 glutamine + **2** ADP + **2** Pi (8)

GOGAT

Glutamine + α-cétoglutarate + NADH **+ H^+** → 2 glutamates + NAD^+ (9)

GOGAT

Figure 13. **Assimilation de l'ammonium par le cycle de la glutamate synthase**. Par l'addition d'ions ammonium à deux molécules de glutamate, deux molécules de glutamines sont formées ; la réaction est catalysée par la glutamine synthétase (GS). Une molécule de glutamine génère deux molécules de glutamate après réaction avec l'α-cétoglutarate, tandis que l'autre est exportée vers la plante hôte ; cette seconde réaction est catalysée par la glutamate synthase (GOGAT).



Exportation de l’azote hors des nodosités

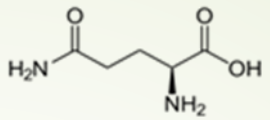
L’α-cétoglutarate est un intermédiaire de l’oxydation du glucose produit lors de la **respiration**.

Les squelettes carbonés fournis par la photosynthèse de l’hôte et **l’azote fixé par les symbiontes se combinent pour former de l’azote organique qui est exporté hors du nodule afin d’être utilisé par la plante hôte**.

Exportation de l'azote hors des nodosités

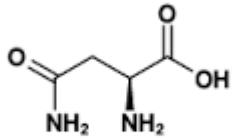
Les composés azotés produits dans les nodosités et exportés à partir de celles-ci sont soit des amides (glutamine et asparagine) soit des uréides (dérivés de l'urée tels la citrulline (acide aminé non protéique identifié la 1ère fois chez la pastèque), ~~l'urate~~, l'allantoïne (acide aminé qui participe à la biogenèse de l'urée), etc.).

Ces produits azotés se déversent principalement dans le xylème de la plante hôte et **assurent ainsi, en transitant avec la sève brute, la nutrition azotée de tous les organes de la plante hôte ou sont mis en réserve dans les graines.**



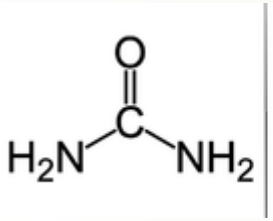
Glutamine

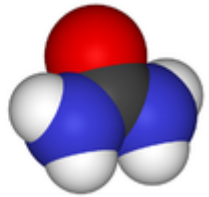
$C_5H_{10}N_2O_3$



L-Asparagine

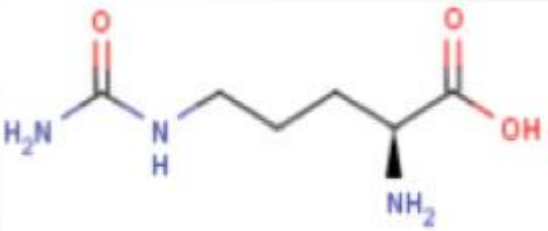
$C_4H_8N_2O_3$



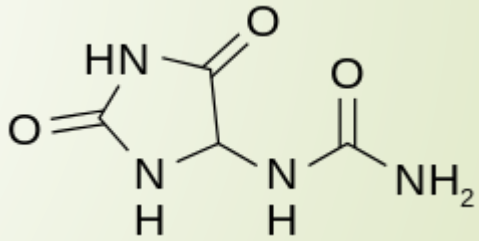


Urée

$CO(NH_2)_2$



$C_6H_{13}N_3O_3$



Allantoïne

$C_4H_6N_4O_3$

2.2.2.2. Exsudats racinaires

Entre 10 et 20% de l'azote fixé sont ~~excrétés~~ **sécrétés (ou exsudés) dans la rhizosphère** (environnement de la racine) sous forme d'acide aspartique ou glutamique.

Ces faibles teneurs enrichissent le sol en azote organique mis à la disposition de la microflore édaphique et des végétaux non fixateurs d'azote.

3. UTILISATION DE L'AZOTE ORGANIQUE

Toutes les plantes ont la faculté d'absorber l'azote sous forme de petites molécules organiques (acides aminés (surtout acides glutamique et aspartique, glutamine, asparagine), urée, ~~acide urique~~, etc.).

Toutefois, pour les végétaux supérieurs, cette voie est toujours minime pour la racine (acides aminés), mais elle a une **importance significative lorsqu'on a recours aux pulvérisations foliaires**.

L'assimilation de l'azote sous forme organique se produit chez les organismes <u>vivants</u> suivants :

(i) <u>Les plantes carnivores</u> :

(***<u>Dionea, Drosera, Nepenthes</u>***, ...) (fig. 14) :

elles sont capables de **<u>capturer des insectes, de les digérer par la sécrétion de protéases et d'absorber, par voie foliaire, les acides aminés et les petites molécules organiques azotées ainsi produites</u>**.

Ce type d'alimentation azotée est le fait d'une **adaptation des plantes se développant sur des substrats pauvres en azote minéral** (<u>plantes de marécages et de tourbières à sols très acides</u> assurant une <u>mauvaise minéralisation des déchets azotés</u>).

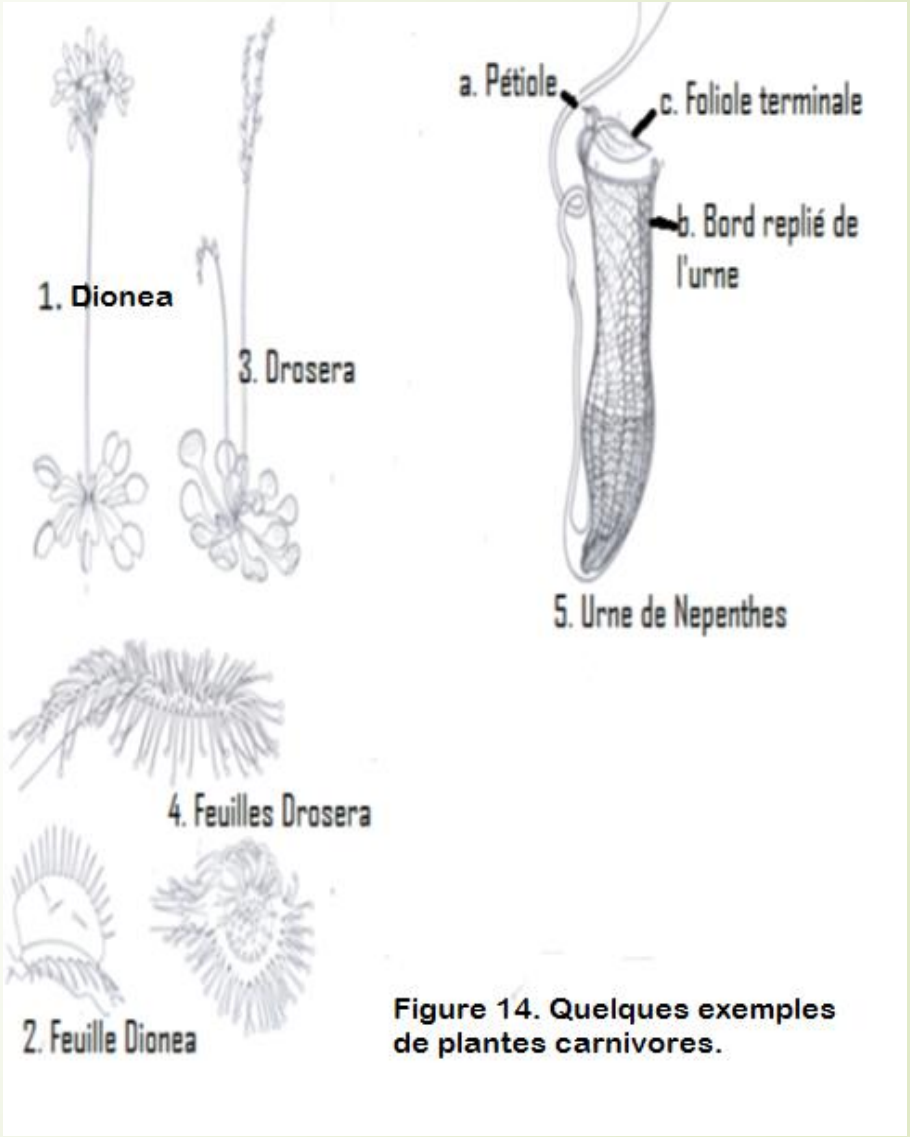


Figure 14. Quelques exemples de plantes carnivores.

L'assimilation de l'azote sous forme organique se produit chez les organismes vivants suivants :

(i) Les plantes carnivores :

Les organes préhenseurs sont généralement des feuilles modifiées transformées en pièges passifs (urnes de *Nepenthes*) ou actifs (poils immobilisant la proie chez *Drosera*, volets du limbe garnis de griffes et se renfermant sur l'insecte chez les Dionées, etc.) (fig. 14).

(ii) Les plantes parasites :

(**Cuscute, Gui, Orobanche**) :

elles **vivent fixées sur les parties aériennes ou souterraines de leurs hôtes** ;

elles prélèvent au niveau des tissus conducteurs - grâce à leurs suçoirs contenant des enzymes hydrolysant les protéines des plantes hôtes - **les produits azotés issus de la dégradation de ces protéines**.

Cuscute

Gui

Orobanche

(iii) Les champignons carnivores, saprophytes, parasites ou symbiotes :

- Les champignons carnivores (*Dactylella acrochaete*, etc.), dont les filaments mycéliens immobilisent et digèrent les nématodes du sol.

- Les champignons saprophytes (*Saprolenia*, …).

- Les champignons parasites (mildiou : *Plasmopara viticola*).

- Les champignons symbiotes (champignons de lichens).

Fin_Chapitre 3/ Nutrition azotée.

a.

b.

a, b : filaments mycéliens de *Dactylella* immobilisant des nematodes du sol.

+160/1/42+

Département de Biologie Filière SV Semestre IV
Rattrapage Printemps 2015/2016
Module Physiologie Végétale (Durée : 45 minutes)

☐0	☐0	☐0	☐0	☐0	☐0	☐0	☐0	☐0	☐0
☐1	☐1	☐1	☐1	☐1	☐1	☐1	☐1	☐1	☐1
☐2	☐2	☐2	☐2	☐2	☐2	☐2	☐2	☐2	☐2
☐3	☐3	☐3	☐3	☐3	☐3	☐3	☐3	☐3	☐3
☐4	☐4	☐4	☐4	☐4	☐4	☐4	☐4	☐4	☐4
☐5	☐5	☐5	☐5	☐5	☐5	☐5	☐5	☐5	☐5
☐6	☐6	☐6	☐6	☐6	☐6	☐6	☐6	☐6	☐6
☐7	☐7	☐7	☐7	☐7	☐7	☐7	☐7	☐7	☐7
☐8	☐8	☐8	☐8	☐8	☐8	☐8	☐8	☐8	☐8
☐9	☐9	☐9	☐9	☐9	☐9	☐9	☐9	☐9	☐9

Codez votre **C.N.E.** ci-contre (de la gauche vers la droite, attention à ne noircir qu'une case par colonne), et inscrivez votre **nom, prénom** et **C.N.E.** ci-dessous :

Nom : .....

Prénom : .....

C.N.E. : .....

Local : ..... **N° examen :** .....

***Consignes** : Les questions faisant apparaître le symbole ♣ présentent une ou plusieurs bonnes réponses. Des points négatifs seront affectés aux mauvaises réponses.*

Question 1 ♣ La valeur du déficit hydrique létal D_l du haricot est de 30 °/◦

- ☐ Cette valeur signifie que le haricot n'est lésé irréversiblement que si il a perdu 30 °/◦ de sa teneur maximale en eau
- ☐ Cette valeur signifie que le déficit létal pour le haricot est de 70 °/◦ de sa teneur en eau maximale
- ☐ Cette valeur signifie que le déficit létal pour le haricot est de 30 °/◦ de sa teneur en eau maximale
- ☐ Cette valeur signifie que le haricot n'est lésé irréversiblement que si il a perdu 70 °/◦ de sa teneur maximale en eau

Question 2 ♣ Les racines des végétaux

- ☐ La circulation de la sève brute à leur niveau ne relève d'aucune activité physiologique ni des vaisseaux ni du parenchyme vasculaire qui les entoure
- ☐ Sont généralement souterraines et peuvent être aériennes et sont nommées adventices
- ☐ Lors de leurs associations avec des champignons mycorhiziens, leur prélèvement hydrominéral est plus important
- ☐ Sont des organes autotrophes, leur fonctionnement peut se faire sans coopération avec les autres organes de l'appareil végétatif, notamment les feuilles vertes

Question 3 ♣ Mécanismes de la migration de la sève brute

- ☐ La pression osmotique croît dans le cortex de la racine depuis l'endoderme jusqu'aux poils absorbants
- ☐ Eau et sels minéraux circulent ensemble dans les tissus des végétaux via les voies apoplasmique, symplasmique ou transcellulaire (ou vacuolaire)
- ☐ La poussée racinaire est un processus actif de nature osmotique
- ☐ Deux facteurs déterminent la montée de la sève brute chez les végétaux : la transpiration et la poussée racinaire (ou radiculaire)

Question 4 ♣ Fixation biologique de l'azote

- ☐ L'azote moléculaire est une source d'azote pour tous les végétaux terrestres
- ☐ La transformation de l'azote atmosphérique en ammoniac peut être faite par les rhizobiums en symbiose avec les légumineuses ou par les Frankia en symbiose avec certains arbres
- ☐ Certains microorganismes libres du sol peuvent transformer l'azote présent dans l'air en ammoniac pour pouvoir être utilisé comme source d'azote
- ☐ La fixation symbiotique de l'azote gazeux ne nécessite aucune transformation ni morphologique ni métabolique des partenaires de la symbiose

Question 5 ♣ Les sèves brute et élaborée

- ☐ Au cours de son déplacement vertical et ascendant, la sève brute abandonne aux territoires traversés de la plante une partie de ses éléments minéraux
- ☐ La migration de la sève élaborée est assez bien expliquée par une poussée venant de la racine et surtout une traction due à un appel d'eau foliaire consécutif à la transpiration
- ☐ La sève brute transporte les produits de l'absorption racinaire dans les tubes criblés du phloème et la sève élaborée véhicule dans les vaisseaux les substances organiques provenant des tissus assimilateurs
- ☐ La sève brute est une solution diluée de sels minéraux qui contient les ions absorbés et les produits de la réduction des nitrates par la racine

Question 6 ♣ Nutrition minérale

- ☐ Tous les éléments minéraux sont absorbés par les racines des plantes sous forme de sels
- ☐ Sur des sols calcaires, l'absorption foliaire de fer par une plante chlorosée est le seul moyen de lui faire absorber le fer
- ☐ L'accumulation des ions minéraux par les végétaux est un processus physiologique non sélectif
- ☐ Le gaz carbonique de l'atmosphère, l'eau et les éléments minéraux sont les éléments constitutifs de l'environnement inorganique des plantes vertes que ces dernières utilisent pour être autotrophes

Question 7 ♣ La vacuole des cellules végétales

- ☐ Peut contenir de 50 à 80 °/◦ de l'eau cellulaire totale ainsi que divers solutés
- ☐ L'eau facilement circulante ou stagnante qu'elle contient constitue ce qu'on appelle "l'eau de constitution" et est inaccessible aux plantes
- ☐ Leur tonoplaste abrite deux types de pompes à protons : des ATPases de type V et des pyrophosphatases
- ☐ Leur pH est plus basique que celui du cytosol

Question 8 ♣ Turgescence et déficit hydrique

- ☐ Le volume des cavités intratissulaires et surtout des vacuoles varie réversiblement grâce à la non élasticité des parois squelettiques des cellules végétales
- ☐ L'eau est localisée surtout dans la vacuole où elle est sous pression et contribue au port dressé des plantes herbacées
- ☐ Lorsque la teneur en eau est maximale, le végétal est dit en état de saturation, il présente dans ce cas un déficit hydrique plus ou moins accentué
- ☐ Des mécanismes régulateurs et des adaptations morphologiques ou physiologiques maintiennent l'équilibre hydrique des plantes

Question 9 ♣ Flétrissement réversible – flétrissement permanent

- ☐ Le flétrissement permanent est atteint chez une plante lorsque son déficit hydrique dépasse la valeur de son déficit hydrique létal D_l
- ☐ Une plante à l'état de saturation en eau possède, en général, une activité physiologique maximale
- ☐ Le flétrissement permanent d'une plante n'a pas de rapport avec son déficit hydrique létal D_l
- ☐ Une plante à l'état de saturation en eau montre un flétrissement réversible

Question 10 ♣ La teneur en eau du bois de pin, par rapport à la matière fraîche, est de 55 °/◦ .

- ☐ Cette valeur est déterminée expérimentalement après dessiccation du matériel végétal frais à 110 °C
- ☐ Cette valeur signifie que dans 100 g de matériel végétal sec, on a 55 g d'eau et 45 g de matière sèche
- ☐ Cette valeur signifie que dans 100 g de matériel végétal frais, on a 45 g d'eau et 55 g de composés minéraux et de substances organiques
- ☐ Cette valeur signifie que le bois est un tissu physiologiquement peu actif