
**PARTIE III : BASES PHYSIOLOGIQUES
DE L'ÉLABORATION DU RENDEMENT**

Chapitre 6

**CROISSANCE ET DÉVELOPPEMENT
DES PLANTES CULTIVÉES**

Tayeb Ameziane El Hassani

Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc

Sommaire

1. Introduction

- 1.1. Étapes de la vie d'une plante
- 1.2. Échelles d'étude

2. Croissance

- 2.1. Définition
- 2.2. Croissance cellulaire et différenciation des tissus
- 2.3. Croissance d'un organe et d'une plante entière
- 2.4. Croissance d'un couvert végétal

3. Développement

- 3.1. Définition
- 3.2. Germination, dormance et viabilité des semences
- 3.3. Développement des feuilles, des tiges et des racines
- 3.4. Floraison et développement reproducteur
- 3.5. Sénescence, maturité et mortalité des organes

4. Croissance, développement et rendement

- 4.1. Interdépendance de la croissance et du développement
- 4.2. Influences des facteurs et conditions du milieu
- 4.3. Rendement, résultante de la croissance et du développement

5. Régulation hormonale de la croissance et du développement

- 5.1. Concept de l'équilibre fonctionnel
- 5.2. Définition d'une hormone
- 5.3. Nature et fonctions des hormones naturelles
- 5.4. Régulation hormonale
- 5.5. Rôles des phytohormones en agriculture

6. Analyse quantitative de la croissance et du développement

- 6.1. Concepts de base
- 6.2. Lois fondamentales de l'analyse classique de la croissance
- 6.3. Développements récents
- 6.4. Analyse quantitative du développement
- 6.5. Modélisation de la croissance et du développement

7. Conclusion

Bibliographie

CROISSANCE ET DÉVELOPPEMENT DES PLANTES CULTIVÉES

1. INTRODUCTION

La croissance et le développement d'une culture représentent les transformations quantitatives et qualitatives qui accompagnent le parcours des différentes étapes de sa vie depuis l'implantation jusqu'à la maturité. Les connaissances actuelles en biologie et physiologie des plantes permettent de caractériser ces transformations pour chacune des étapes considérées et à différentes échelles.

Après avoir rappelé les étapes de la vie d'une plante et les échelles d'étude, on définira la croissance et le développement en insistant sur l'interdépendance des deux phénomènes et en présentant brièvement les facteurs et conditions de milieu qui les affectent. La prise en compte du concept de l'équilibre fonctionnel permet de comprendre la réaction des plantes, suite à des perturbations de leur fonctionnement, et d'introduire le domaine fort complexe de la régulation hormonale de la croissance et du développement.

La dernière partie de ce chapitre est consacrée à l'analyse quantitative de la croissance et du développement, en considérant à la fois la méthode classique et l'approche moderne de la modélisation.

1.1. Étapes de la vie d'une plante

Les étapes de la vie d'une plante et les échelles d'étude des phénomènes de croissance et de développement sont indiquées dans le tableau 6.1. L'évolution des phases de croissance et des stades de développement du blé, pris comme exemple, est présentée dans la figure 6.1.

Tableau 6.1. Étapes de la vie d'une plante et échelles d'étude de la croissance et du développement

<p>1. Étapes de la vie d'une plante</p> <ul style="list-style-type: none">• Germination et émergence des plantules• Période de croissance végétative• Phase de transition• Période de croissance reproductive• Sénescence progressive des organes et maturité du produit récoltable <p>2. Échelles d'étude</p> <ul style="list-style-type: none">• Croissance cellulaire• Croissance des méristèmes correspondant aux futurs feuilles, tiges et racines.• Croissance d'un organe d'une plante : feuille, tige, nœud, inflorescence, grain, racine• Croissance d'une plante entière : partie aérienne, partie souterraine.• Croissance d'un peuplement monospécifique ou plurispécifique.
--

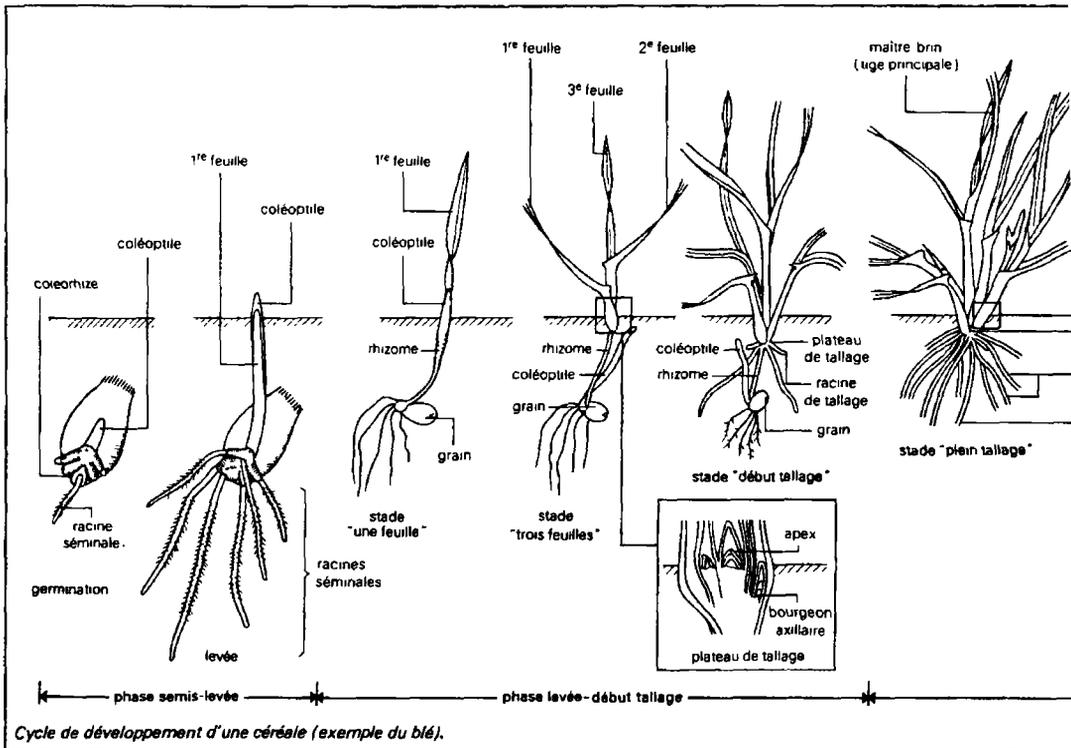


Figure 6.1. Évolution des phases de croissance et des stades de développement du blé.
 Source : Larousse agricole (1981), p 250 et 251

L'ensemble des étapes de croissance et de développement représente le cycle biologique naturel de la plante, qui va ainsi de l'implantation à la maturité. Dans le cas d'une plante **annuelle**, le cycle biologique se termine par la mort de tous les organes. Lorsque la plante est **pluriannuelle**, on observe une succession d'états végétatif et reproducteur qui alternent. Cette alternance assure la pérennité de la plante étant donné qu'avant la maturité des organes reproducteurs il y a apparition d'un nouvel état végétatif. La dissémination des plantes se fait par graines, par propagation végétative ou par les deux voies à la fois (voir chapitres 13 et 18).

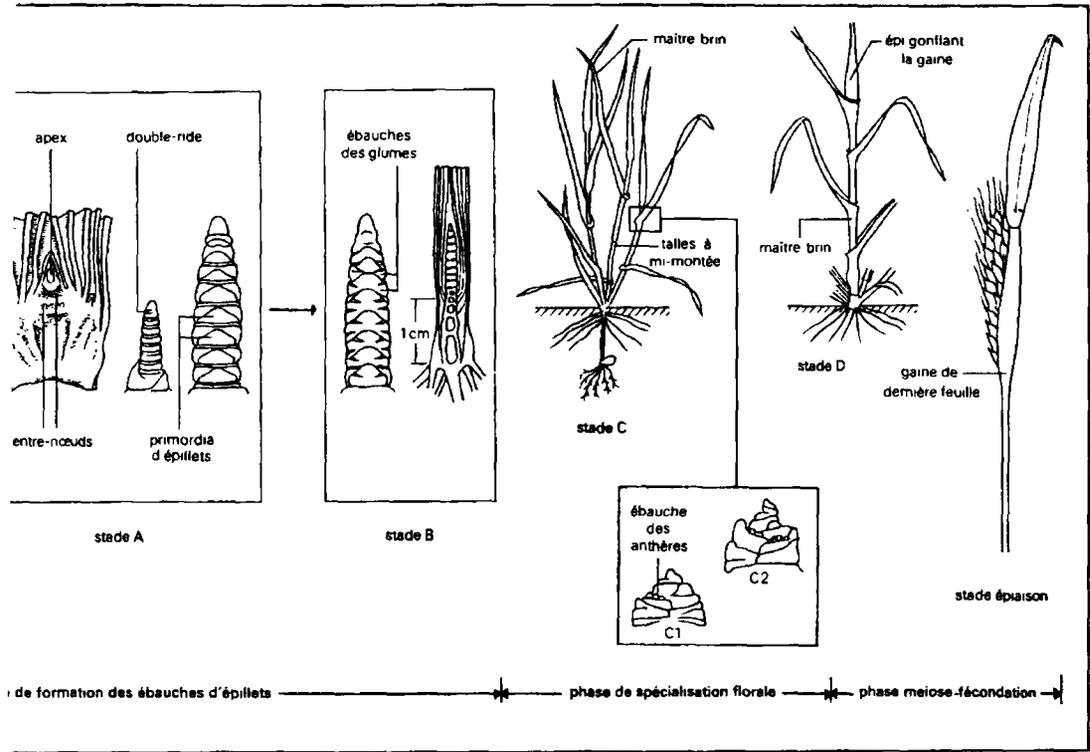
1.2. Échelles d'étude de la croissance et du développement

La notion d'échelle revêt une importance considérable car elle conditionne le choix des outils de l'analyse quantitative de la croissance et du développement, comme on le verra plus loin. Les différentes échelles d'étude de ces phénomènes sont indiquées dans le tableau 6.1.

2. CROISSANCE

2.1. Définition

La croissance est l'augmentation continue de toutes les dimensions de la plante : longueur, largeur, diamètre, surface, volume et masse. Cette augmentation est me-



surable dans le temps. La croissance d'une plante entière (ou d'un couvert végétal) fait intervenir en fait deux phénomènes concomittants :

- la croissance en dimension de chacun des organes après leur initiation : c'est la croissance au sens strict ;
- la multiplication du nombre de ces organes : c'est la liaison avec le développement.

2.2. Croissance cellulaire et différenciation des tissus

La croissance résulte de la division cellulaire, ou mitose, et de l'élongation des cellules. L'élongation est l'augmentation *irréversible* en volume selon une direction particulière. La croissance d'un organe est le résultat de l'augmentation du nombre de cellules qui le constituent et de la taille des cellules individuelles. La multiplication cellulaire présente généralement une allure exponentielle (figure 6.2.a).

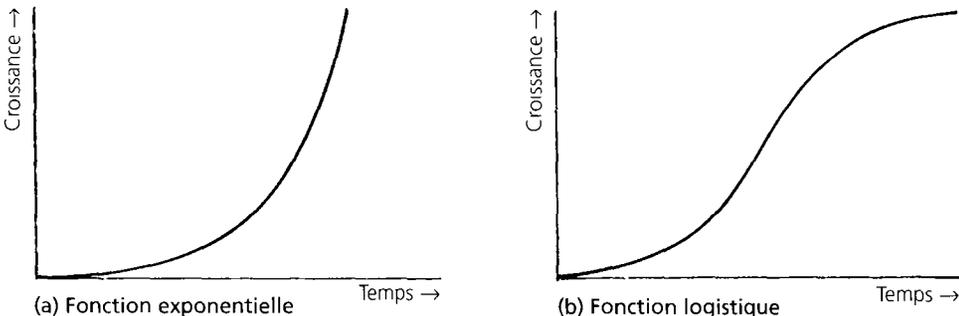


Figure 6.2. Allure générale de la courbe de croissance des plantes.

Les étapes de l'élongation cellulaire comprennent :

- l'augmentation de la flexibilité des parois cellulaires composées de cellulose (25 %) et d'hémicellulose (50 %), due à une action hormonale (voir plus loin) ;
- l'absorption de l'eau par **osmose** : l'eau remplit la vacuole ce qui augmente le volume cellulaire à cause de la pression de turgescence qui s'y exerce (voir chapitre 10) ;
- la synthèse de nouvelles parois cellulaires ou constituants pariétaux (cellulose, hémicellulose, lignine).

La différenciation correspond au changement qualitatif progressif des cellules dans le sens d'une *spécialisation* pour former les organelles et produits cellulaires. Le tableau 6.2. présente de manière simplifiée les différentes structures et les fonctions des organelles d'une cellule végétale, dont le détail est indiqué dans la figure 6.3.

L'activité méristématique joue un rôle important dans la différenciation des tissus et la formation des futurs organes de la plante. On distingue plusieurs types de méristèmes (du grec : *meristos* = divisible) :

- **méristème apical** : la taille d'une tige de monocotylédone est liée à la taille du méristème apical ;

Tableau 6.2. Représentation schématique des structures et fonctions d'une cellule végétale.

Lamelle pectique	Structure jouant le rôle de ciment entre cellules
Parois cellulaires	Constituées principalement de cellulose, lignine, elles jouent un rôle essentiel dans la croissance cellulaire
Protoplaste	
Cytoplasme	
* Membrane cytoplasmique	Perméabilité différentielle au mouvement de l'eau et des solutés
* Organelles du cytoplasme	Des fonctions multiples
<ul style="list-style-type: none"> • Plastides <ul style="list-style-type: none"> – Amyloplastés Synthèse et stockage d'amidon – Chloroplastés Siège de la photosynthèse – Chromoplastés Synthèse et stockage des caroténoïdes – Leucoplastés : Stockage d'amidon • Réticulum endoplasmique Connection noyau/membrane • Ribosomes Synthèse des protéines • Peroxisomes Photorespiration • Mitochondries Localisation des enzymes, respiration • Sphérosomes Stockage et transport des lipides • Vacuoles 90 % du volume d'une cellule mature • Appareil de Golgi Excrétion cellulaire 	
Noyau : Contrôle des activités cellulaires	
* Membrane nucléaire	
* Nucléole	
* Chromatine	

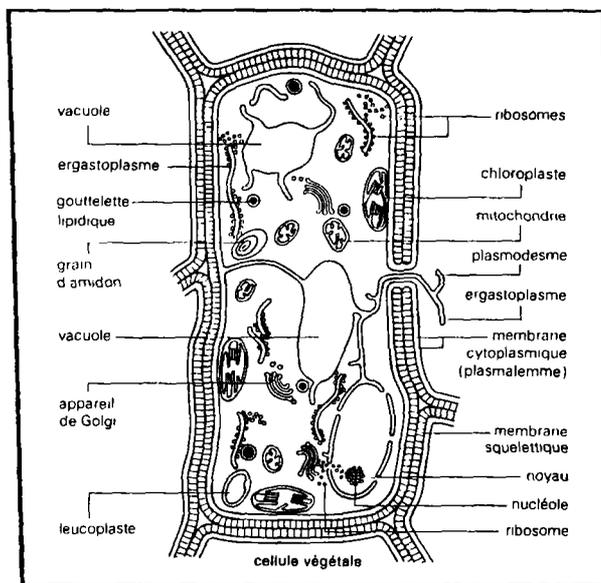


Figure 6.3. Structure d'une cellule végétale
 Source : Larousse agricole (1981), p. 244

- **méristème latéral** :
 - cambium chez les dicotylédones : racines, branches ;
 - bourgeons axillaires : nouvelles tiges, fleurs, branches ;
- **méristèmes intercalaires** (chez les monocotylédones) :
 - nœud ;
 - fabrication des cellules des entre-nœuds.

La régénération des méristèmes implique le renouvellement continu de l'activité méristématique. Chez les graminées, par exemple, le remplacement des méristèmes se fait au niveau des racines, de l'apex des tiges, des bourgeons axillaires, des rhizomes et stolons, et au niveau des talles.

La signification agronomique des méristèmes peut être illustrée par les exemples suivants :

- Luzerne : le collet donne naissance à de nouvelles tiges après défoliation grâce à l'activité méristématique à ce niveau.
- Trèfle blanc : les rhizomes donnent naissance à de nouvelles tiges après défoliation.
- Céréales à petits grains (blé, orge, avoine) : le tallage permet de réduire la dose de semis nécessaire et de faire ainsi des économies de semences.
- Canne à sucre (et autres plantes pérennes) : la reprise de la croissance peut se faire à partir des "yeux".
- Soja : reprise à partir des bourgeons axillaires.

2.3. Croissance d'un organe et d'une plante entière

La courbe de croissance typique d'un organe ou d'une plante entière suit une allure sigmoïde (voir la figure 6.2.b), qui présente généralement trois phases distinctes :

- une phase initiale de nature exponentielle ;
- une phase linéaire de croissance active ;
- une phase plateau caractérisée par la cessation de croissance.

On observe le même phénomène dans le cas de la croissance d'un peuplement végétal.

2.4. Croissance d'un couvert végétal

2.4.1. Notion de peuplement cultivé

Un peuplement végétal cultivé est un ensemble de plantes d'une seule espèce et d'une seule variété (ou population) cultivée pour récolter un produit spécifique désiré par l'homme. C'est le résultat des interactions multiples ayant lieu au cours du

développement de la culture entre les caractéristiques intrinsèques de celle-ci, les facteurs et conditions de son environnement, et les modifications imposées par les pratiques culturales sur ces caractéristiques et sur l'environnement des plantes cultivées. Le tableau 6.3 donne des exemples de ce type d'interactions.

Tableau 6.3. Caractéristiques, facteurs et conditions liées à la plante cultivée, à l'environnement et aux techniques culturales influençant l'établissement d'un peuplement végétal et son développement ultérieur.

<p>Caractéristiques intrinsèques de la plante</p> <ul style="list-style-type: none"> • Types d'espèces et variétés, et autres caractères génétiques • Taille et qualité des semences utilisées • Caractéristiques physiologiques et réponses adaptatives aux contraintes de l'environnement <p>Facteurs et conditions de milieu</p> <ul style="list-style-type: none"> • Caractéristiques physico-chimiques et biologiques du sol • Régime hydrique dans le système-plante-atmosphère • Température et contraintes thermiques au niveau du sol et de l'air • Photopériode, éclairage et autres composantes climatiques <p>Modifications imposées par les pratiques culturales</p> <ul style="list-style-type: none"> • Type de lit de semence créé par le travail du sol • Date, mode et densité de semis • Structure du peuplement (écartement des lignes, espacement entre lignes, autre structure) • Fertilisation minérale et organique (nature des fertilisants, doses et modalités d'apport, dates d'apport selon les stades de développement) • Contrôle des mauvaises herbes, des maladies et ravageurs, et dates d'intervention • Apport d'eau par les précipitations naturelles ou l'irrigation dès la phase germination-levée
--

2.4.2. Caractérisation d'un peuplement

Un peuplement peut être **monospécifique** tel qu'il vient d'être décrit. C'est la situation la plus générale lorsqu'on contrôle les mauvaises herbes comme dans un champ de blé, de maïs, de betterave, de canne à sucre ou de luzerne.

Tableau 6.4. Caractérisation agronomique d'un peuplement cultivé.

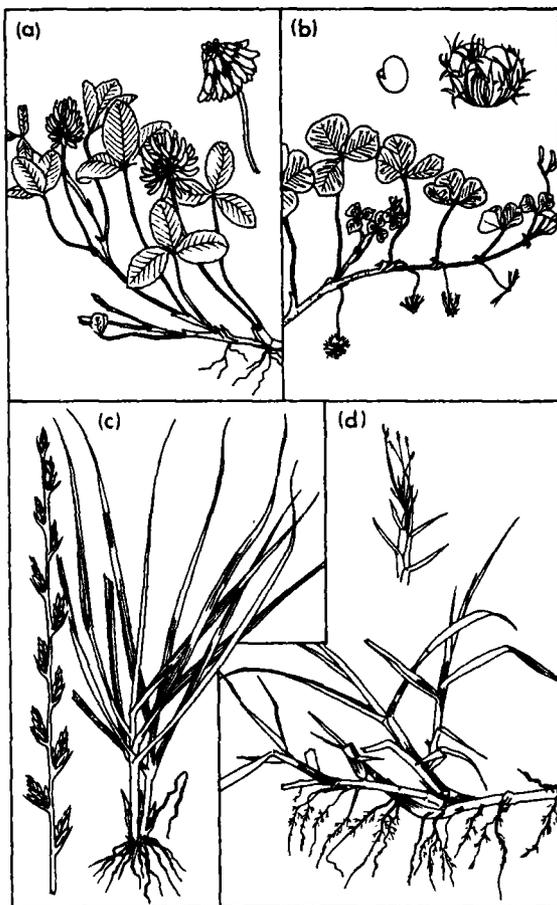
<p>Port du végétal</p> <ul style="list-style-type: none"> • dressé, à croissance verticale cas des graminées • étalé ou prostré, à croissance horizontale cas de certaines légumineuses (Trèfle blanc) <p>"Profondeur" du couvert</p> <ul style="list-style-type: none"> • liée au port et au rythme de croissance de la partie aérienne <p>Architecture du couvert</p> <ul style="list-style-type: none"> • Densité de peuplement • Structure de peuplement • Inclinaison des feuilles • Indice foliaire du couvert <p>Système racinaire</p> <ul style="list-style-type: none"> • Système racinaire fasciculé comme pour le blé • Système racinaire pivotant comme pour la luzerne • Système rhizomateux comme pour le gazon

Un peuplement peut aussi être **plurispécifique** comme l'association de deux ou plusieurs espèces pour mieux exploiter le milieu :

- meilleure utilisation de ressources limitées (terre, eau, fertilisation) ;
- répartition des risques face aux aléas (climat, parasitisme).

Par rapport à cette caractérisation globale, un peuplement végétal peut se caractériser par des critères plus agronomiques et physiologiques (tableau 6.4). Des exemples de port végétal et de systèmes racinaires sont illustrés par la figure 6.4.

Figure 6.4. Morphologie des plantes. (a) Trèfle blanc avec des stolons ; (b) Trèfle souterrain avec des tiges horizontales desquelles les pédoncules s'allongent et poussent les gousses dans le sol ; (c) Ray grass pérenne avec son port dressé , (d) Kikouyou avec des rhizomes
Source : C.J Pearson and R.L Ison (1987), *Agronomy of grassland systems*, Cambridge University Press, Cambridge, p 32



3. DÉVELOPPEMENT

3.1. Définition

Le développement représente l'ensemble des transformations qualitatives de la plante liées à l'initiation et à l'apparition de nouveaux organes. Contrairement à la croissance, le développement est un phénomène repérable dans le temps. Il s'agit d'événements discrets qu'on peut observer à un instant donné : germination des graines suite à leur imbibition, émergence des plantules, initiation florale, maturité des graines, mort du végétal.

Comme pour la croissance, on distingue la phase de développement végétatif et la phase de développement reproducteur. Durant la première phase et après la germination, la plante passe de l'état juvénile à un état où elle se ramifie et multiplie ses organes végétatifs (feuilles, tiges, racines). La phase de développement reproducteur est marquée par la fabrication d'organes d'accumulation de la matière sèche.

3.2. Germination, dormance et viabilité des semences

La **germination** traduit le fait que lorsqu'une semence viable est placée dans des conditions adéquates de lumière, de température, d'oxygène et d'humidité, elle

donne lieu à une plantule qui émerge de la surface du sol, ou de tout autre médium utilisé dans les tests de germination (voir chapitre 18).

Pour la plupart des espèces cultivées et adventices qui se propagent par des graines, 7 à 30 jours après la germination, l'**embryon** puis la **plantule** sont entièrement dépendants, sauf pour l'eau, de la **réserve** d'éléments nutritifs stockés dans la semence (amidon, lipides, protéines et acides aminés, minéraux essentiels, etc.). Bien que toutes les semences contiennent des réserves, il existe une grande diversité d'organes de stockage : cotylédons dans le cas des légumineuses, endosperme dans le cas des céréales.

Les principales étapes de la germination sont les suivantes :

- imbibition ;
- gonflement de la semence ;
- accroissement des activités métaboliques ;
- croissance de l'embryon ;
- émergence des plantules.

On observe une grande variabilité de la **faculté germinative** des semences. La faculté germinative (ou pouvoir germinatif) est définie en % par le nombre de graines qui germent après une durée déterminée (généralement 7 jours pour beaucoup d'espèces) sur 100 graines mises à germer. Les différences de pouvoir germinatif peuvent être liées à des différences d'énergie germinative, de maturité physiologique, et de conditions de récolte et de conservation des semences.

Les processus métaboliques accompagnant la germination sont marqués par une activité enzymatique, respiratoire et hormonale accrue. Cette activité permet l'hydrolyse de l'amidon, des lipides et des protides en substances directement assimilables par l'embryon, comme les sucres, les acides gras et les acides aminés.

L'embryon fabrique différents types d'**hormones** qui sont transloquées dans l'endosperme ou dans les cotylédons, et qui jouent un rôle déterminant dans l'hydrolyse des réserves. Le rôle que joue l'acide gibbérélique (GA, voir paragraphe sur la régulation hormonale) dans la stimulation de l'activité α -amylase est bien connu chez les céréales et les légumineuses. L'activité hormonale peut entraîner la production de substances promotrices ou inhibitrices de la germination.

La **dormance** est un phénomène très répandu dans la nature mais difficile à définir avec précision. Si, en conditions adéquates de germination, une semence ne germe pas, elle est soit morte soit dormante. La semence est dite dormante si, après un traitement qui lève la dormance, la germination a lieu. Si la germination n'a pas lieu, on dira que la semence est morte. La mort d'une semence résulte du fait que son embryon est détérioré par un choc mécanique, thermique ou autre.

Comme on le verra dans le chapitre 18, il existe plusieurs types de dormance : la dormance vraie ou dormance embryonnaire et/ou tégumentaire, la dormance induite et la dormance forcée.

Dans le cas de la dormance due aux inhibitions tégumentaires, la germination a lieu si l'embryon est dénudé. On parle alors de **graines dures** ou de dureté tégumentaire. La dormance tégumentaire dépend de la nature des enveloppes et de la localisation des substances inhibitrices dans ces enveloppes.

Concernant la **viabilité**, une semence est dite viable si, une fois la dormance levée et les graines placées dans des conditions adéquates de germination, la germination est normale. Sinon la semence est dite morte. Il existe des tests de viabilité qui donnent des résultats fiables.

La dormance peut être levée par un traitement thermique adéquat en jouant sur l'alternance de températures, par l'exposition à la lumière, par un traitement mécanique, ou **scarification**, permettant d'enlever l'inhibition tégumentaire, et par des traitements chimiques. Toutes ces techniques ont de larges applications agronomiques. Par ailleurs, la dormance revêt une *signification écologique* considérable dans la mesure où les plantes utilisent ce phénomène comme stratégie d'adaptation face à l'adversité de l'environnement.

3.3. Développement des feuilles, des tiges et des racines

Les futurs organes de la plante – comme les feuilles, les tiges et les racines – prennent leur origine dans la zone de croissance active, caractérisée par une division cellulaire intense au niveau des méristèmes apicaux. Le stade ultime de cette activité méristématique est l'**initiation** des primordia de feuilles et des autres organes qui sont des ébauches de ces organes (voir figure 6.1, plus haut).

On appelle **plastochrone** l'intervalle de temps séparant l'initiation successive des primordia. Le plastochrone varie entre espèces et sous l'effet des facteurs et conditions de milieu. Mais pour une courte période et un environnement peu changeant (faibles variations de température et d'éclairement), on peut considérer que le plastochrone reste relativement constant.

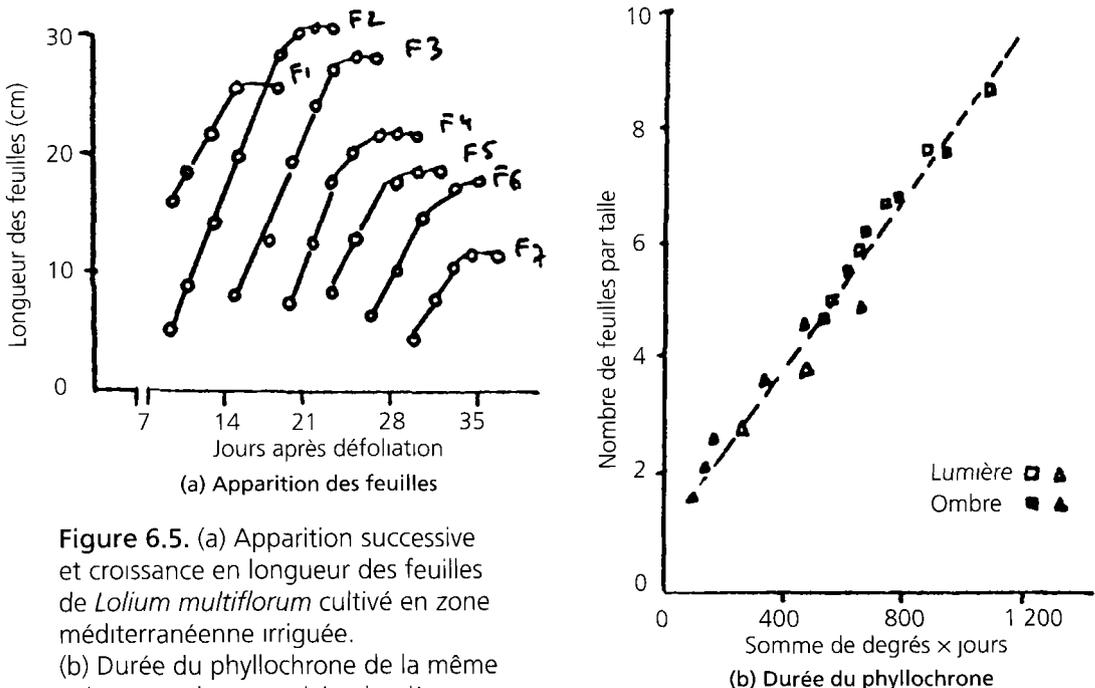


Figure 6.5. (a) Apparition successive et croissance en longueur des feuilles de *Lolium multiflorum* cultivé en zone méditerranéenne irriguée. (b) Durée du phyllochrone de la même culture conduite en pleine lumière et sous ombrage.

Source : T. Ameziane El Hassani, 1986

Sauf avortement éventuel, chaque primordia donnera naissance à un futur organe. Dans le cas des feuilles, l'intervalle de temps séparant l'apparition successive et l'émergence des feuilles est appelée **phyllochrone**. En l'absence de limitation à la croissance et au développement des plantes, on considère que le phyllochrone reste constant. La figure 6.5 permet de visualiser ce phénomène dans le cas de *Lolium multiflorum*. Pour ce fourrage cultivé et pour de nombreuses autres graminées la durée du phyllochrone, en somme de degrés \times jours, est d'environ 100 à 120 °C-jour (figure 6.5.b).

Les principaux facteurs du milieu qui agissent sur l'initiation et l'apparition des feuilles sont la température et l'intensité de l'éclairement.

Il existe un parallélisme entre le rythme d'apparition des feuilles et des tiges et le rythme d'apparition des autres organes. En particulier, on a pu montrer chez l'orge qu'à la dynamique de tallage (production de tiges) et de ramification aérienne correspond une dynamique souterraine de branchage et de ramification du système racinaire.

3.4. Floraison et développement reproducteur

La floraison commence par l'**induction florale** et l'initiation des organes reproducteurs. Le premier signe visible de l'initiation florale est le changement morphologique de l'apex (voir figure 6.1, stade A et stade B), dont les primordia évoluent du stade rides simples au stade **double ride**. L'apparition des premières doubles rides marque le début du stade reproducteur. Cependant, les mécanismes qui interviennent dans la phase de transition du développement végétatif au développement reproducteur ne sont pas encore clairement élucidés. Chez les céréales et les graminées fourragères, le nombre de doubles rides augmente rapidement avec le temps à partir de leur apparition ; ces doubles rides évoluent ensuite en inflorescences et épis dont le nombre d'épillets aura été fixé dès la phase végétative de l'apex.

Concernant l'écophysiologie de la floraison, l'induction florale fait intervenir différents mécanismes adaptatifs qui incluent :

- la levée de la dormance des bourgeons axillaires ;
- la réaction des plantes aux basses températures, ou vernalisation ;
- la réaction des plantes au photopériodisme.

La réaction à la photopériode permet de distinguer les plantes de jours courts, les plantes de jours longs et les plantes indifférentes à la longueur du jour pour fleurir. Par ailleurs, on peut induire la floraison par des traitements chimiques, notamment l'application d'hormones synthétiques dites de "maturation".

3.5. Sénescence, maturité et mortalité des organes

La sénescence est le phénomène par lequel les feuilles perdent progressivement leur chlorophylle, chutent et meurent. La sénescence a généralement lieu durant toute la vie de la plante bien que le processus soit plus accentué en phase reproductrice. En phase végétative, la plupart des graminées maintiennent un nombre de feuilles vivantes relativement constant, impliquant un équilibre entre le taux de formation des feuilles et le taux de leur disparition.

Avec l'avancement du développement reproducteur, la sénescence s'accélère, la chute des feuilles augmente et au stade ultime, pour une culture comme le blé, il ne

reste que la dernière feuille pour assurer la fourniture des assimilats nécessaires au remplissage des grains, avant qu'ils n'atteignent la maturité. Après cette phase, tous les organes d'une culture annuelle meurent alors que les plantes pérennes reprennent leur développement végétatif si les conditions de milieu sont favorables.

4. CROISSANCE, DÉVELOPPEMENT ET RENDEMENT

4.1. Interdépendance de la croissance et du développement

L'élaboration de la structure d'une plante, représentée par ses parties aérienne et racinaire, dépend du développement successif de ses différents organes et de l'accumulation de la matière sèche dans chacun de ces organes. Ces deux phénomènes sont concomitants et leur interdépendance peut être illustrée par les exemples suivants :

- En l'absence d'induction florale chez le blé, la montaison (qui relève du développement reproducteur) n'a pas lieu : dans ce cas la plante reste essentiellement feuillue et accumule peu de matière sèche relativement à une plante qui aurait des tiges.
- La teneur en matière sèche des racines d'une luzerne est un indicateur de leur état de croissance ; cette teneur est intimement liée au stade de développement de la luzernière.
- La montaison, ou développement des tiges, chez la betterave se traduit par une consommation accrue du sucre accumulé dans les racines et donc par une diminution de la matière sèche de celles-ci.

Cependant, pour un même stade de développement de la culture, les facteurs trophiques comme l'eau, la lumière, le gaz carbonique, l'azote, etc. peuvent profondément modifier l'état de la croissance.

4.2. Influences des facteurs et conditions du milieu

• **Facteurs de croissance.** Ils sont les éléments internes (liés à la plante) et externes (liés au milieu) qui interviennent dans la fabrication de la matière sèche ; ils ont une action quantitative donnant lieu à un bilan d'énergie et de matière :

- énergie solaire ;
- éléments minéraux ;
- eau ;
- température.

• **Conditions de croissance.** Les processus de fabrication de matière sèche, et donc l'utilisation des facteurs de croissance, peuvent se dérouler sous certaines conditions et être limités sous d'autres. Exemples :

- température suffisante permettant de déclencher les processus comme la germination, le développement foliaire et l'extension racinaire ;
- régulation thermique, conditions hydriques et ouverture stomatique ;
- aération autour des racines pour la diffusion de l'oxygène ;
- état structural permettant la croissance des racines ;
- forte concentration en sels entraînant la toxicité des plantes.

Ces conditions sont souvent en interaction ; leur *lois d'action sont mal connues* et

elles jouent fréquemment par des *effets seuils*. L'eau est à la fois facteur et condition de croissance. L'intérêt des études en **conditions contrôlées** pour déterminer les lois d'action des facteurs et conditions de croissance est évident, malgré les difficultés inhérentes au transfert des résultats au niveau du champ cultivé.

La plupart des plantes cultivées connaissent des phases sensibles et des stades critiques de croissance et de développement lorsque les états du milieu imposent des limitations à ces processus. Ces contraintes de milieu (stress hydrique, stress thermique, stress minéral, stress salin, etc.) peuvent entraîner des conséquences irréversibles et souvent dommageables pour le rendement. Une discussion détaillée de ces aspects est donnée dans Fowden et al. (1993).

4.3. Rendement, résultante de la croissance et du développement

Dans le cas d'un peuplement cultivé, la résultante des interactions entre les caractères propres d'un peuplement, les facteurs et conditions de l'environnement qu'il exploite et les modifications qu'il subit par les techniques culturales détermine le **rendement** et la **qualité** du produit, ou des produits, recherchés par l'homme. Le rendement est un concept relatif et il faut distinguer le "rendement biologique" du "rendement utile".

4.3.1. Rendement biologique

C'est l'accumulation de matière sèche totale au sein d'un peuplement végétal, système aérien et système racinaire compris, depuis l'établissement du couvert (émergence) jusqu'à la récolte. Une discussion intéressante de ce concept est donnée par Donald et al. (1976). La matière sèche accumulée est le résultat d'un bilan entre le *gain* de carbone à partir du CO₂ de l'air grâce à la photosynthèse, et la *perte* de carbone par respiration, autres catabolismes et sénescence. La respiration permet de satisfaire les besoins énergétiques du métabolisme, conduisant à la fabrication de glucides complexes, de lipides, de corps aromatiques, de protides et d'autres substances nécessaires à la croissance et au développement des plantes.

La sénescence qui correspond à la chute des feuilles et au dépérissement progressif des organes contribue aussi à la détérioration du bilan carboné de la plante.

4.3.2. Rendement utile ou rendement économique

Toute la matière sèche accumulée dans les parties aérienne et racinaire n'est pas récoltable et on distingue plusieurs groupes de peuplements.

- Groupe de plantes dont le rendement économique provient de la **croissance végétative** :

- Plantes à racines (ex. : betterave à sucre).
- Plantes récoltées pour leurs tiges (ex. : canne à sucre).
- Plantes récoltées pour leurs feuilles (ex. : tabac).
- Plantes récoltées pour leurs tubercules (ex. : pomme de terre).
- Plantes récoltées pour leurs parties aériennes (ex. : cultures fourragères).

- Groupe de plantes dont le rendement économique provient de la **croissance reproductrice**. La formation du rendement économique commence par l'induction florale et se termine par l'arrêt complet de la croissance (dessiccation). La plupart du rendement utile provient de l'assimilation photosynthétique réelle, c'est-à-dire parallèlement au développement des organes d'accumulation de matière sèche (tiges, inflorescences, grains).

Dans ce groupe on distingue deux classes phénologiques :

– Plantes à **croissance indéterminée** (oléagineux, coton), pour lesquelles les fruits et grains sont portés par des inflorescences latérales, le méristème apical ne devenant pas reproducteur. Il existe aussi des plantes à **croissance déterminée**, ayant un nombre réduit de branches ou de tiges et donnant pendant une courte période des fruits ; le méristème apical reste végétatif ou meurt.

– Plantes dont le rendement économique provient de la dernière partie du cycle biologique ; on y classe toutes les céréales (blé, orge, sorgho, millet, maïs) où l'inflorescence terminale est la principale source du rendement économique.

Dans tous les cas, le rendement utile est une fraction du rendement biologique. Le rapport rendement utile/rendement biologique est appelé **indice de récolte**.

5. RÉGULATION HORMONALE DE LA CROISSANCE ET DU DÉVELOPPEMENT

5.1. Concept de l'équilibre fonctionnel

Le concept de l'équilibre fonctionnel d'une plante, proposé par Brouwer (1962, 1983) à partir de travaux sur les effets de différents facteurs nutritionnels sur le ratio partie racinaire/partie aérienne est illustré dans la figure 6.6.

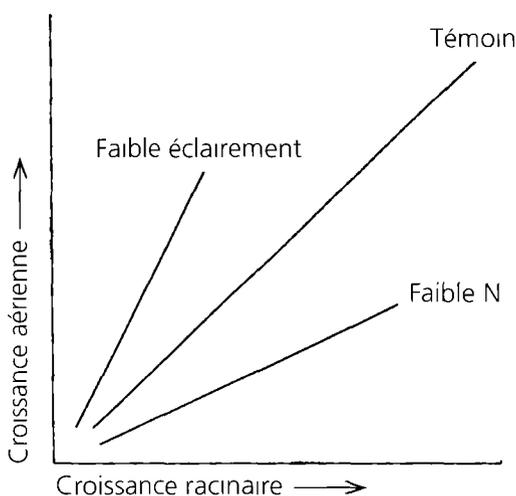


Figure 6.6. Illustration du concept de l'équilibre fonctionnel entre la croissance aérienne et racinaire d'une plante, en considérant l'effet de la déficience en azote et du faible éclairement.

Par rapport à une plante témoin dont la croissance se déroule dans des conditions optimales et qui, de ce fait, est en situation d'équilibre, lorsque celui-ci est rompu à la suite de l'application d'une contrainte au niveau aérien ou souterrain, la plante tend toujours à rétablir son équilibre. En règle générale, si le stress intervient au niveau aérien (réduction d'éclaircement, réduction de surface foliaire), l'ajustement de la croissance pour réaliser l'équilibre se fait au niveau souterrain. Inversement, si la contrainte entrave le développement racinaire (stress hydrique, déficience minérale, etc.) l'ajustement de croissance concerne le système aérien.

Les exemples abondent pour montrer qu'en conditions de nutrition phosphatée et d'alimentation hydrique non limitantes, l'application d'azote augmente la croissance aérienne et donc diminue le rapport partie racinaire/partie aérienne. Au contraire, ce ratio augmente si la fourniture d'eau et de phosphate est limitante, indiquant que la plante réagit en développant son système racinaire au détriment de

l'appareil aérien, pour explorer davantage de volume de sol et satisfaire ainsi ses exigences hydrique et minérale. Les mécanismes mis en jeu sont complexes et font intervenir, entre autres, le système hormonal de la plante.

5.2. Définition d'une hormone

Composé organique qui, synthétisé dans *une partie* de la plante et *transloqué* dans une *autre partie*, cause une réponse physiologique, à de *très faibles concentrations* ($1\mu\text{M}$ et moins). A titre de comparaison pondérale, les sucres, acides aminés, acides organiques et autres métabolites pèsent de l'ordre de 1mM à 50mM .

Il existe des composés qui entraînent des réponses physiologiques importantes mais qui ne sont pas des hormones naturelles, tels que :

- ion K^+ , inorganique,
- 2,4-D, auxine synthétique,
- saccharose, composé synthétisé puis transloqué mais jouant à forte concentration.

5.3. Nature et fonctions des hormones naturelles

Il existe cinq groupes d'hormones naturelles :

- au moins une auxine, ou acide indol-3-acétique (IAA),
- plusieurs gibbérellines ($\text{GA}_1, \text{GA}_2, \dots, \text{GA}_n$),
- plusieurs cytokinines (CK),
- acide abscissique (ABA) et composés inhibiteurs,
- éthylène.

• **Les auxines.** Celles-ci sont essentiellement produites dans les méristèmes et régions de croissance active au niveau des parties aériennes. Elles se trouvent dans la plupart des tissus de la plante y compris dans les feuilles en sénescence. Le transport des auxines se fait dans le phloème, des parties aériennes vers les parties racinaires, mais également de cellule à cellule (transport orienté).

Les auxines activent l'élongation des coléoptiles et des tiges et favorisent le phototropisme et le géotropisme. Elles jouent un rôle important dans l'initiation et la formation des racines adventives et dans la différenciation du xylème. Par contre, elles inhibent l'élongation racinaire. La croissance des bourgeons axillaires est également inhibée par le maintien de la **dominance apicale**, qui est sous le contrôle des auxines. Enfin elles retardent la sénescence des feuilles et la chute des fruits.

La production des auxines est inhibée par la déficience en zinc et en phosphore, elle est favorisée par les gibbérellines et les cytokinines, qui en stimulent le transport. L'effet des auxines peut varier selon leurs concentrations, le type de cellules et le stade de développement de la plante.

• **Les cytokinines.** Celles-ci sont synthétisées dans les apex des racines, mais on les trouve aussi dans les parties aériennes, les semences et les fruits n'ayant pas atteint la maturité physiologique. Elles sont transloquées dans le xylème depuis les racines jusqu'aux parties aériennes. Au niveau de celles-ci, les cytokinines circulent lentement de cellule à cellule.

Les cytokinines jouent un rôle important dans la germination et favorisent la division

cellulaire. Elles activent l'initiation des feuilles, des tiges et des stolons, et favorisent l'extension des feuilles et des cotylédons ainsi que la translocation des assimilats. Leur rôle dans la transpiration est également rapporté. Les cytokinines inhibent la sénescence des feuilles et permettent la levée de la dormance des graines ainsi que celle de la dominance apicale des bourgeons axillaires chez certaines plantes.

Les facteurs affectant la synthèse, la translocation et l'activité des cytokinines sont peu connus. Cependant le stress hydrique, les hautes températures et les conditions d'hydromorphie inhibent la production des cytokinines dans les racines et leur transport vers les parties aériennes.

- **Les gibbérellines.** Celles-ci sont synthétisées dans les apex racinaires. On les trouve aussi dans les semences, les jeunes feuilles et les tiges. Leur transport des racines aux parties aériennes se fait dans le xylème. Le transport des gibbérellines au niveau des parties aériennes se fait aussi de cellule à cellule et, au niveau des feuilles, il se fait dans le phloème.

La germination des semences, l'élongation des tiges, l'expansion des feuilles, la floraison des plantes de jours longs et la croissance des fruits sont des processus physiologiques qui sont activés par les gibbérellines. Elles lèvent la dormance des semences et la dominance apicale. Mais elles inhibent la sénescence des feuilles et la maturation des fruits.

La synthèse des gibbérellines dans les racines et leur transport vers les parties aériennes sont inhibés par l'excès d'eau et par l'effet des jours courts.

- **L'éthylène.** Celui-ci est produit par toutes les parties de la plante, plus particulièrement, dans les régions apicales en croissance active et au cours de la maturation des fruits. Étant donné sa nature volatile, son transport est peu connu, mais il circule des racines vers les parties aériennes.

La maturation des fruits, la sénescence des feuilles et la chute des organes ainsi que la levée de la dominance apicale des bourgeons axillaires sont les principaux effets produits par l'éthylène. Cette hormone inhibe la division cellulaire ainsi que le géotropisme des tiges et des racines.

La production de l'éthylène est stimulée par la maturation des fruits, la sénescence des feuilles et des fleurs, le stress hydrique et l'effet des autres hormones. Sa production est inhibée par la lumière et par des conditions d'anaérobiose. Le métabolisme de l'éthylène et son transport au sein de la plante sont peu connus.

- **L'acide abscissique.** La synthèse de l'acide abscissique se fait essentiellement dans la partie terminale des racines. On le trouve aussi dans les feuilles, les bourgeons, les semences, les fruits et tubercules. Cette hormone circule facilement au niveau des cotylédons, des feuilles et des racines. Le transport se fait de cellule à cellule dans les parties aériennes.

La fermeture des stomates, la sénescence des feuilles, l'abscission, la dormance des bourgeons, et la formation des tubercules et des racines adventives sont des effets bien connus de l'acide abscissique. Son rôle dans la régulation stomatique en relation avec les réponses adaptatives des plantes au stress hydrique est essentiel. L'acide abscissique inhibe la germination des semences, la croissance des bourgeons axillaires, l'élongation des tiges et des racines, et l'initiation florale.

Le stress hydrique, l'excès d'eau, la déficience en éléments minéraux et la salinité augmentent la production de l'acide abscissique. Mais le transport de cette hormone et son métabolisme ne sont pas encore clairement élucidés.

De plus amples informations sur la nature chimique, le site de production, le mode de transport et les actions promotrices ou inhibitrices des hormones naturelles se trouvent dans Wilkins (1984) et Salisbury et Ross (1985).

5.4. Régulation hormonale

Il est bien établi que les phénomènes de croissance et de développement dépendent de l'équilibre hormonal au sein de la plante. Cet équilibre est régi par :

- des rapports de concentrations,
- des gradients de concentrations.

• La régulation hormonale de la croissance et du développement s'exerce aux niveaux suivants :

- division cellulaire, expansion des cellules et leur différenciation,
- germination et dormance des graines et des bourgeons,
- initiation des feuilles, tiges, racines,
- production de grains, fruits et leur maturation,
- sénescence et mortalité des organes.

• Aux hormones de croissance (IAA, GA, CK) dont les effets, à concentration normale dans la plante, entraînent la *promotion* de la croissance, on oppose les hormones de stress (ABA, éthylène) dont les effets, à concentration élevée, entraînent l'inhibition de la croissance.

• A *même concentration* dans la plante, les hormones peuvent avoir des effets très contrastés sur les différents organes, en particulier sur la partie aérienne et racinaire.

5.5. Rôle des phytohormones en agriculture

Les activités promotrices et inhibitrices des différentes hormones naturelles, et leur implication dans la régulation de la croissance et du développement, ont suscité l'intérêt de fabriquer au laboratoire des molécules de synthèse ayant des effets spécifiques. Le cas le plus spectaculaire est celui de l'auxine synthétique ou 2,4-D, largement utilisé comme herbicide.

Plusieurs autres molécules de synthèse, de la famille des cytokinines, des gibbérelines et de l'acide abscissique sont actuellement disponibles pour diverses utilisations en agriculture : herbicides, régulateurs de croissance, inhibition de la germination, levée de la dormance, levée de la dominance apicale, retard de la sénescence, etc. L'application d'un produit tel que le cycocel (CCC) permet une meilleure répartition des assimilats entre les fruits qui sont, de ce fait, de tailles homogènes. Dans le cas des céréales, l'application des molécules de synthèse de cette nature permet un développement adéquat des épis et un remplissage homogène des grains.

D'autres exemples de l'utilisation des phytohormones en agriculture sont donnés au chapitre 18, et de plus amples informations sur le sujet peuvent être trouvées dans la bibliographie sélective en fin de ce chapitre.

6. ANALYSE QUANTITATIVE DE LA CROISSANCE ET DU DÉVELOPPEMENT

6.1. Concepts de base

Malgré une large variabilité de comportement des plantes (plantes de lumière et plantes d'ombre, plantes de jours courts, de jours longs ou neutres, plantes à croissance déterminée ou indéterminée, etc.), les lois qui régissent leur croissance et par conséquent leur productivité ultérieure ont une validité très générale. Pour comprendre le fonctionnement global d'une plante (ou d'un peuplement), l'analyse quantitative et le formalisme mathématique sont devenus, à partir des années 1920, des outils fondamentaux.

Comme déjà dit, la phase initiale de croissance (cellule, organe, plante entière, peuplement) suit une loi **exponentielle** tant qu'il n'y a pas de limitations intrinsèques à la plante ou liées à l'environnement (figure 6.2.a). Dès que la limitation est imposée, la croissance dans le temps est modifiée selon une courbe **sigmoïde** (figure 6.2.b).

Durant la phase exponentielle, la croissance est analogue à une accumulation de capital selon la **loi des intérêts composés**. Le poids de l'embryon représente le "capital initial", W_0 , et l'efficacité photosynthétique de la plante représente le "taux d'intérêt", r . De cette analogie, le poids W devient après une période t de croissance :

$$\begin{aligned} W(t) &= W_0(1+r)^t \\ \text{soit} \quad \ln W(t) &= \ln W_0 + t \ln(1+r) \approx \ln W_0 + rt \end{aligned}$$

En échelle logarithmique, c'est une droite dont la pente correspond au taux d'intérêt, r . Ce concept est à la base de l'analyse quantitative classique de la croissance.

L'analyse requière la détermination de 2 variables importantes :

- mesure de la biomasse présente à chaque instant, $W(t)$;
- mesure des surfaces assimilatrices à chaque instant, $L(t)$.

Dans la pratique, W et L peuvent représenter le poids sec et la surface foliaire d'une plante isolée, comme ils peuvent se référer à la biomasse par unité de surface de sol (A) et à la surface foliaire par unité de surface de sol. Ce sont les fonctions de croissance de la biomasse et de l'indice foliaire (voir plus loin).

A partir des fonctions de croissance $W = f(t)$ et $L = f(t)$, on peut dériver les concepts qui suivent :

- **Vitesse absolue de croissance (CGR)**. La vitesse absolue de croissance à chaque instant (*growth rate, crop growth rate*) se définit comme étant l'augmentation de biomasse (ou de poids sec de la plante) par unité de temps :

$$\begin{aligned} \text{GR} &= \frac{dW}{dt} \quad [\text{kg}\cdot\text{j}^{-1}] \quad \text{plante isolée} \\ \text{CGR} &= \frac{1}{A} \frac{dW}{dt} \quad [\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{j}^{-1}] \quad \text{peuplement} \end{aligned} \quad (1)$$

- **Vitesse relative de croissance (RGR)**. La vitesse relative de croissance (*relative*

growth rate) se définit pour une plante comme étant l'augmentation de poids sec par unité de poids existant par unité de temps :

$$\text{RGR} = \left(\frac{1}{W}\right) \left(\frac{dW}{dt}\right) = \frac{d(\ln W)}{dt} \quad [\text{kg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{j}^{-1} \text{ ou } \text{j}^{-1}] \quad (2)$$

Durant la phase de croissance exponentielle, RGR reste constant :

$$\ln W = \ln W_0 + rt \text{ soit } \text{RGR} = \frac{d(\ln W)}{dt} = r = \text{constante.}$$

Une fois cette phase initiale de croissance terminée, RGR n'est plus constant et diminue progressivement avec l'âge des plantes.

• **Taux d'assimilation nette (NAR).** Le taux d'assimilation nette (*net assimilation rate*) d'une plante se définit à chaque instant comme étant l'augmentation de biomasse par unité de surface assimilatrice existante par unité de temps :

$$\text{NAR} = \frac{1}{L} \frac{dW}{dt} \quad [\text{kg}\cdot\text{m}^{-2} \text{ feuille}\cdot\text{j}^{-1}] \quad (3)$$

Noter que NAR est différent du taux de photosynthèse brute en ce sens qu'il représente l'investissement net des assimilats dans la croissance, c'est-à-dire la différence entre gain de carbone par photosynthèse et perte de carbone par respiration.

• **Surface foliaire massique (LAR).** Ce ratio, appelé *leaf area ratio*, se définit pour une plante (ou un couvert) comme étant le rapport instantané des surfaces assimilatrices, L , par unité de biomasse présente, W .

$$\text{LAR} = \frac{L}{W} \quad [\text{m}^2\cdot\text{kg}^{-1}] \quad (4)$$

Ce ratio est aussi appelé "surface efficace pour la croissance de l'unité de poids de la plante".

On peut démontrer (Radford, 1967) que ces différents paramètres instantanés peuvent faire l'objet de mesures directes entre 2 états successifs de la croissance (t_1, W_1, L_1) et (t_2, W_2, L_2), et ont pour valeurs moyennes dans l'intervalle $[t_1, t_2]$:

$$\overline{\text{CGR}} = \frac{W_2 - W_1}{t_2 - t_1}$$

$$\overline{\text{RGR}} = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{t_2 - t_1}$$

$$\overline{\text{NAR}} = \left(\frac{W_2 - W_1}{L_2 - L_1}\right) \left(\frac{\ln L_2 - \ln L_1}{t_2 - t_1}\right)$$

$$\overline{\text{LAR}} = \left(\frac{L_2 - L_1}{W_2 - W_1}\right) \left(\frac{\ln W_2 - \ln W_1}{\ln L_2 - \ln L_1}\right)$$

• **Surface foliaire spécifique (SLA).** La surface foliaire spécifique (*specific leaf area*) se définit par le rapport de la surface foliaire présente à chaque instant (L) au poids sec des feuilles correspondantes (W_L) :

$$SLA = \frac{L}{W_L} \quad [m^2 \cdot kg^{-1}] \quad (5)$$

Le SLA définit “l’épaisseur” des feuilles et revêt une signification écologique, physiologique et agronomique particulière. Selon certaines théories, toutes les réponses des plantes aux variations internes ou externes sont intégrées dans le SLA (Charles-Edward, 1981).

• **Poids foliaire spécifique (LWR).** Le poids foliaire spécifique (*leaf weight ratio*) se définit par le rapport du poids sec des feuilles (W_L) au poids total de la plante (ou du couvert), W :

$$LWR = \frac{W_L}{W} \quad [\% \text{ ou sans dimension}] \quad (6)$$

Contrairement à SLA, LWR varie peu avec les fluctuations de l’environnement et avec les pratiques culturales.

• **Concept d’indice foliaire (LAI).** Par définition, l’indice foliaire (*leaf area index*) qui mesure la taille de l’appareil assimilateur représente le rapport entre la surface foliaire totale d’un couvert, L , et la surface de sol correspondante :

$$LAI = \frac{L}{A} \quad [\text{sans dimension}] \text{ ou } [m^2 \text{ feuilles}/m^2 \text{ sol}] \quad (7)$$

Si W_L est la masse foliaire (poids sec) contenue dans la surface A (sol), et SLA la surface spécifique des feuilles considérées, LAI est donné par le produit :

$$LAI = W_L \times SLA \quad (8)$$

Les méthodes de mesure de LAI sont diversifiées et leur précision variable (voir discussion dans Varlet-Grancher et al., 1993). On peut suggérer les méthodes suivantes :

– *Méthode des dimensions linéaires de Duncan.* Connaissant longueur (L) et largeur (l) des feuilles, on déduit leur surface $S = L \times l$ et on multiplie par un coefficient (voisin de 1 généralement). Cela donne la surface par plante ; il faut la densité de peuplement ou la surface de sol par plante pour calculer LAI. Cette méthode est typiquement utilisée sur maïs et sorgho.

– *Méthode du disque de Watson.* Elle est particulièrement utilisée pour les plantes à feuilles larges (letterave, tabac). Pour une surface fixée (celle du disque), on détermine le poids sec correspondant et donc le SLA. L’indice foliaire se déduit en multipliant par le poids total des feuilles/unité de surface de sol.

– *Méthode de cartographie des feuilles de poids connu,* utilisée sur diverses graminées et basée sur le même principe que le planimétrage électronique.

– *Mesure de surface foliaire par planimètre électronique* d’un échantillon de feuilles de poids sec connu ; en déterminant SLA et en multipliant par la quantité de matière sèche des feuilles par unité de surface, on obtient le LAI. Très utilisée chez les céréales et graminées fourragères, cette méthode sert aussi à mesurer la surface racinaire de nombreuses cultures.

• **Durée d’action foliaire (LAD).** La durée d’action foliaire (*leaf area duration*) intègre l’indice foliaire et la durée de persistance de la surface foliaire. C’est tout simplement l’intégrale de LAI par rapport à la durée de croissance considérée.

LAD représente la persistance du feuillage du couvert ou la durée photosynthétique de celui-ci, et de ce fait a une dimension de temps [j]. Si au lieu d'intégrer LAI on considère L (la surface foliaire), LAD admet pour dimension [$m^2 \cdot j$].

6.2. Lois fondamentales de l'analyse classique de la croissance

• **Décomposition du CGR.** Par définition, on a pour une communauté de plantes :

$$CGR = \frac{1}{A} \frac{dW}{dt} = \underbrace{\left(\frac{L}{A}\right)}_{LAI} \underbrace{\left(\frac{dW}{L dt}\right)}_{NAR}$$

soit $CGR = LAI \times NAR$ (9)

• **Décomposition du RGR.** Par définition,

$$RGR = \frac{1}{W} \frac{dW}{dt} = \underbrace{\left(\frac{L}{W}\right)}_{LAR} \underbrace{\left(\frac{dW}{L dt}\right)}_{NAR}$$

soit $RGR = LAR \times NAR$ (10)

Remarques

– Les équations (9) et (10) sont valides à chaque instant mais les relations ne sont pas valables pour les valeurs moyennes des paramètres ($RGR \neq NAR \times LAR$) sauf dans des situations particulières (phase de croissance exponentielle ; phase de croissance linéaire, s'il y a relation de linéarité entre W et L).

– La première équation ($CGR = LAI \times NAR$) est généralement utilisée pour analyser la croissance d'un peuplement (communauté de plantes) et la seconde est plus appropriée pour l'analyse de la croissance de plantes isolées.

• **Décomposition du LAR.** Le paramètre LAR qui définit les capacités assimilatrices d'une plante (d'un couvert) peut être décomposé en deux autres paramètres importants à considérer pour analyser les réponses des plantes aux facteurs de l'environnement (température, éclairage, etc.) ou aux pratiques culturales (densité de peuplement, fertilisation, etc.). On peut écrire :

$$LAR = \frac{L}{W} = \underbrace{\left(\frac{W_L}{W}\right)}_{LWR} \underbrace{\left(\frac{L}{W_L}\right)}_{SLA}$$

soit $LAR = LWR \times SLA$ (11)

Les concepts de LWR et SLA permettent d'analyser les variations du LAR en termes de :
 – variations de la distribution des produits de photosynthèse entre la croissance foliaire (W_L) et la croissance des autres organes ;
 – variations de "l'épaisseur" des feuilles (L/W_L) c'est-à-dire de la surface foliaire par unité de poids sec de feuille.

Il est intéressant de noter que les équations fondamentales de l'analyse classique permettent d'analyser la croissance en termes de :

taux de croissance = taux d'assimilation \times taille de l'appareil assimilateur

Le tableau 6.5. résume les outils de l'analyse quantitative de la croissance dans sa forme classique et sous l'angle des développements récents.

Tableau 6.5. Analyse quantitative classique de la croissance et développements récents.

• Analyse quantitative classique		
Genèse		
Analogie avec la loi des intérêts composés :		
$W(t) = W_0(1 + r)^t$, $r =$ taux d'intérêt		
Si $r \ll 1$, $\ln W(t) \approx \ln W_0 + rt$, soit $W(t) = W_0 e^{rt}$ croissance exponentielle		
Concepts de base		
$GR = dW/dt$	[kg j ⁻¹]	Vitesse absolue de croissance (plante)
$CGR = (1/A) (dW/dt)$	[kg m ⁻² j ⁻¹]	Vitesse absolue de croissance (peuplement)
$RGR = (1/W) (dW/dt)$	[kg kg ⁻¹ ·j ⁻¹ ou j ⁻¹]	Vitesse relative de croissance (plante ou peuplement)
$NAR = (1/L) (dW/dt)$	[kg m ⁻² feuille·j ⁻¹]	Taux d'assimilation nette
$LAR = L/W$	[m ² ·kg ⁻¹]	Surface foliaire massique
$SLA = L/W_L$	[m ² feuille kg ⁻¹]	Surface foliaire spécifique
$LWR = W_L/W$	[% ou sans dimension]	Poids foliaire spécifique
$LAI = L/A$	[m ² feuilles/m ² sol]	Indice foliaire
$LAD = \Sigma(LAI \times D)$	[m ² ·jour, ou jour]	Durée d'action foliaire
Lois classiques		
$CGR = LAI \times NAR$, $RGR = LAR \times NAR$; $LAR = LWR \times SLA$		
• Développements récents		
$CGR = \text{Biomasse} \times RGR$ Relation entre CGR et RGR		
$CGR = I_0 E_i E_u$ Relation entre CGR et rayonnement incident		
• Symboles utilisés		
N	Nombre de plantes/m ²	
$W(t)$	Poids sec à l'instant t [kg ; kg/m ²]	
W_0	Poids sec initial, ou capital [kg ; kg/m ²]	
W_L	Poids sec des feuilles [kg]	
$L(t)$	Surface foliaire à l'instant t [m ²]	
A	Sueface de sol correspondant à L [m ²]	
D	Durée de croissance [jour]	
t, t_0	Temps instantané et temps initial t_0 [jour]	
I_0, J	Rayonnement incident ou intercepté [MJ m ⁻²]	
E_i	Efficience d'interception du rayonnement incident [%]	
E_u	Efficience d'utilisation du rayonnement intercepté [g MS·MJ ⁻¹]	

6.3. Développements récents

6.3.1. Relation entre CGR et RGR

Classiquement, on utilise les 2 équations fondamentales (9) et (10), l'une pour analyser la croissance de plantes isolées ou de communautés de plantes espacées, comme on les observe au début du développement du couvert avec l'absence de compétition :

$$RGR = LAR \times NAR \quad (dW/dt) = (L/W) (dW/Ldt)$$

et l'autre pour analyser la croissance d'un peuplement dense :

$$CGR = LAI \times NAR$$

En considérant que W est le poids sec d'une plante, N le nombre de plantes par unité de surface et L la surface foliaire d'une plante, on peut écrire :

$$N (dW/dt) = (NL) \times (1/L) (dW/dt)$$

soit
$$\text{CGR} = \text{LAI} \times \text{NAR}$$

On peut aussi écrire par analogie :

$$N (dW/dt) = (NW) \times (1/W) (dW/dt)$$

soit
$$\text{CGR} = \text{biomasse} \times \text{RGR} \quad (12)$$

Dans la pratique, un peuplement commence par être ouvert (plantes espacées) et progressivement tend à devenir dense (couvert fermé).

Cette formulation permet donc, en combinant les équations (9) et (12), de fournir un outil d'analyse valable durant tout le cycle de croissance (Warren-Wilson, 1981). L'approche permet aussi de pousser le développement de l'analyse classique, pour l'étendre à la discussion d'autres processus.

6.3.2. Relation entre CGR et rayonnement incident

On peut écrire :

$$N \left(\frac{dW}{dt} \right) = (I_0) \left(\frac{NJ}{I_0} \right) \left(\frac{1}{J} \right) \left(\frac{dW}{dt} \right)$$

où : I_0 = rayonnement incident ($\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$, ou $\text{MJ}\cdot\text{m}^{-2}$)

J = rayonnement intercepté par plante ($\text{W}\cdot\text{m}^{-2}$ ou $\text{MJ}\cdot\text{m}^{-2}$)

N = nombre de plantes/ m^2 .

Soit
$$\text{CGR} = I_0 E_i E_u \quad (13)$$

où : $E_i = NJ/I_0$ représente le rapport du rayonnement intercepté par rapport au rayonnement incident. C'est, par définition, l'efficacité d'interception (en %) de la lumière par le couvert végétal ;

$E_u = (1/J) (dW/dt)$ correspond à l'accroissement de la matière sèche accumulée par une plante ramené au rayonnement intercepté par cette plante. C'est, par définition, l'efficacité d'utilisation du rayonnement intercepté par le couvert végétal ($\text{g MS}\cdot\text{MJ}^{-1}$), en considérant les N plantes.

On verra au paragraphe 6.5 que ce développement constitue un cadre analytique intéressant pour l'élaboration de modèles simples de la croissance et de la productivité des plantes cultivées.

6.4. Analyse quantitative du développement

6.4.1. Caractérisation du développement

Nous avons déjà souligné l'idée que le développement est un phénomène discret, repérable dans le temps et non directement mesurable comme c'est le cas pour la croissance. Ainsi, une semence germe ou ne germe pas, une plantule émerge ou n'émerge pas, une plante fleurit ou ne fleurit pas et un grain mûrit ou avorte. Après germination et émergence, la croissance des cellules primordiales et leur différenciation donnent naissance aux futures feuilles, tiges, inflorescences et racines, selon une chronologie génétiquement contrôlée. On caractérise alors le développement

en termes de *durée* des périodes d'apparition des différents organes et de *vitesse* d'apparition de ces organes durant chacune des périodes considérées.

6.4.2. Échelles de développement

Conventionnellement, on utilise des échelles quantitatives permettant de caractériser les périodes de développement et les stades de développement dans chaque période par des nombres arbitrairement fixés, plus particulièrement dans le cas des céréales.

La figure 6.7 représente le **code décimal de Zadoks**, numéroté de 10 à 100, et l'**échelle de Feeke**, allant de 1 à 11.5. A titre d'illustration, l'échelle de Feeke permet de caractériser la période de tallage (*stades 1 à 5*), la phase de montaison (*stades 6 à 10*), la phase épisaison (*stades 10.1 à 10.5*) et la phase de maturation (*stades 10.5 à 11.4*). Il existe plusieurs variantes correspondant à des échelles modifiées pour faire apparaître de manière plus détaillée certaines phases comme la floraison (*stades 10.5.1 à 10.5.3*) mais elles sont toutes basées sur le repérage des caractères visibles extérieurement à l'œil nu et la correspondance avec un nombre déterminé sur l'échelle.

Ce type d'échelles est très utilisé en amélioration des plantes. Les agronomes utilisent plutôt l'**échelle de Jonard** basée sur la détermination des stades de l'apex, dont une variante est décrite dans la figure 6.1, plus haut. Des illustrations détaillées de ces échelles sont présentées dans Jonard et al. (1952), Large (1954) et Zadoks et al. (1974).

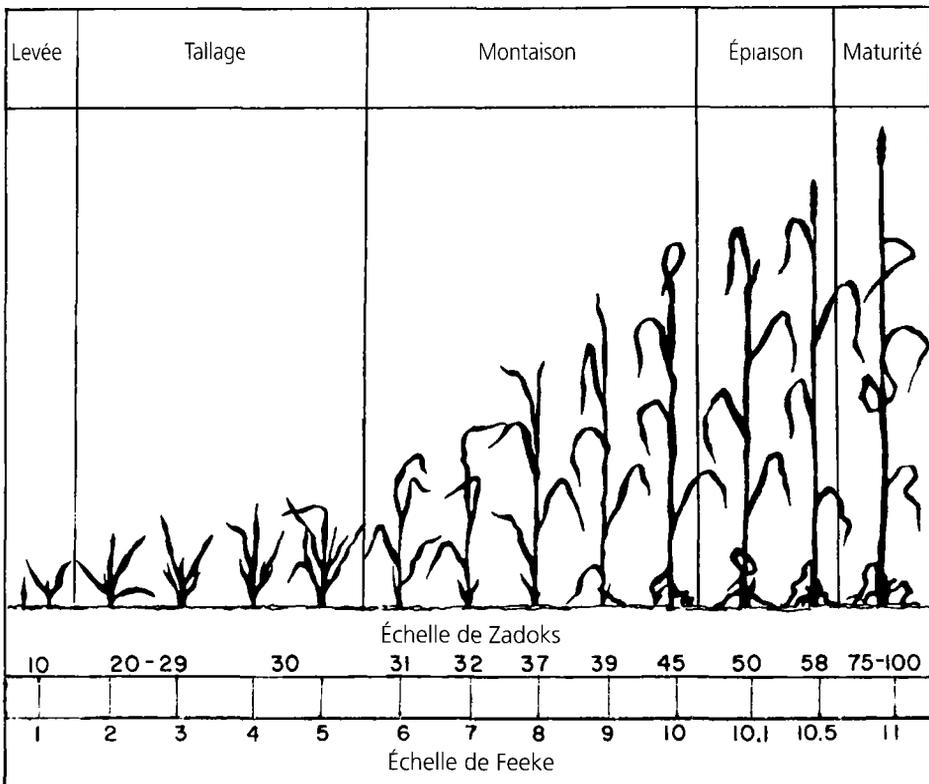


Figure 6.7. Appréciation quantitative des stades de développement des céréales par les échelles de Zadoks et de Feeke.

6.4.3. Développement et élaboration du rendement

La caractérisation des stades de développement est souvent couplée avec la méthode de l'analyse de l'élaboration du rendement et de ses composantes. Cela permet de situer les périodes de formation des composantes du rendement dans le cycle de développement de la culture. Un exemple de cette démarche est donné dans la figure 6.8 pour le blé et le soja.

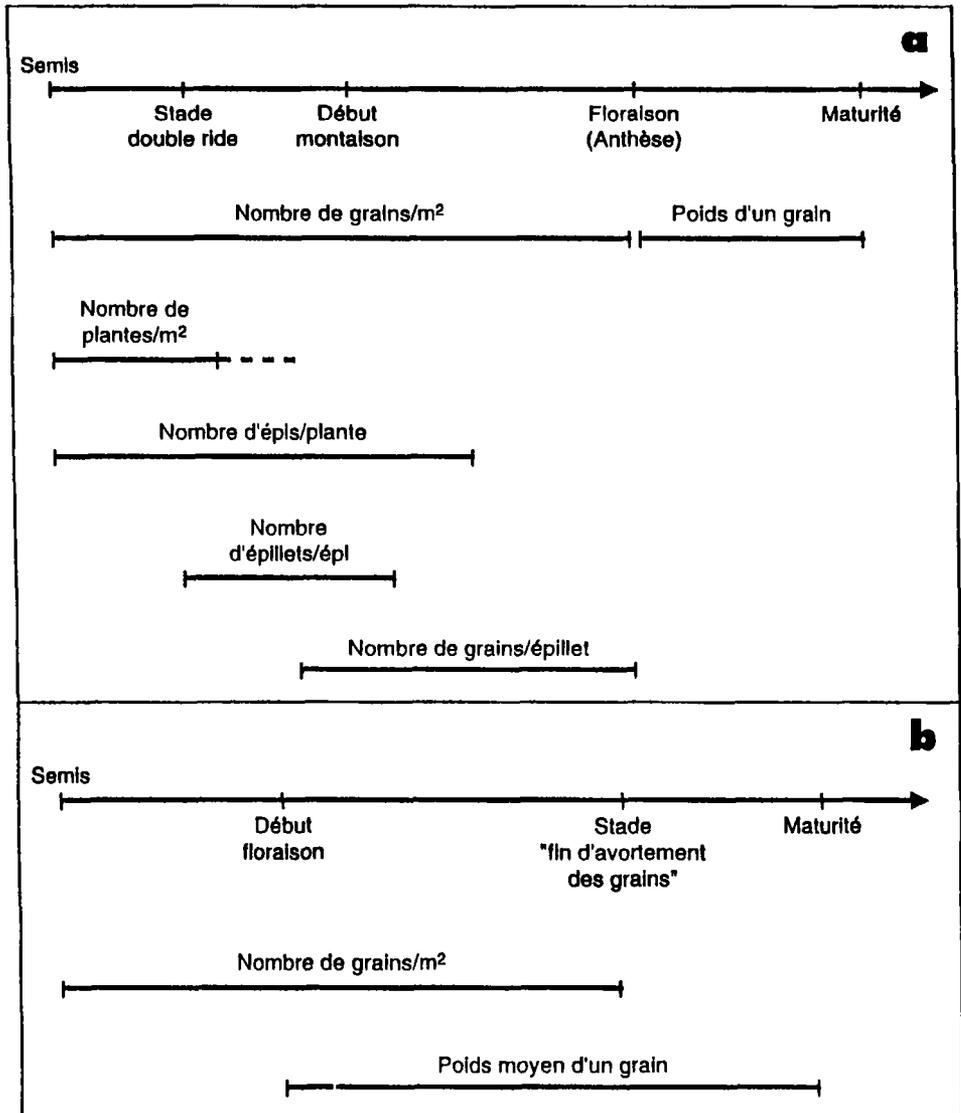


Figure 6.8. Périodes de formation des composantes du rendement du blé d'hiver (a) et du soja (b).

Source : Meynard J.-M. et David G. (1992), *Cahiers Agricultures*, 1 : 9-19, p 12

Pour le blé et de nombreuses autres espèces cultivées, on peut écrire :

$$\left. \begin{array}{l} \text{Rendement} \\ \text{grains/m}^2 \end{array} \right\} = NP \times NEP \times NGE \times PMG$$

où : NP = nombre de plantes par m²
 NEP = nombre d'épis par plante
 NGE = nombre de grains par épi
 PMG = poids moyen d'un grain.

Chaque composante de rendement est influencée par les facteurs et conditions de milieu pendant sa phase de formation. Les effets – favorables ou défavorables – se manifestent le plus souvent au niveau de la durée des périodes de développement, de la vitesse des processus mis en jeu et des valeurs atteintes par chaque composante. De ce fait, l'analyse des composantes du rendement constitue un outil intéressant de diagnostic des problèmes agronomiques pour chacune des périodes considérées.

La période de développement est généralement repérée à partir d'une date initiale qui correspond à la date de semis, à la date d'émergence des plantules ou à tout autre événement du cycle de croissance de la plante. La durée t de développement est celle de la période séparant deux événements successifs. La vitesse v est définie comme étant l'inverse de t , soit

$$v = \frac{1}{t} \text{ [jour}^{-1}\text{]}$$

Pour la plupart des phénomènes biologiques, la vitesse de développement est fortement dépendante de la température. Le concept de somme de degrés \times jour est utilisé pour rendre compte de cette dépendance et on considère que v est proportionnelle à la température moyenne journalière, T , diminuée d'une température de base T_b , de sorte que :

$$v = a (T - T_b), \quad a = \text{constante}$$

La somme de degrés \times jour est alors $\sum (T - T_b)$, cumulé sur la durée des phases de croissance. On peut montrer que la vitesse de développement dépend de la photopériode de manière similaire.

L'intervention des autres facteurs et conditions dans le déclenchement des phénomènes de développement (qualité de la lumière, stress hydrique et minéral, concentrations hormonales dans la plante, etc.) est discutée dans les ouvrages cités en référence. L'analyse quantitative de ces effets reste limitée. Une synthèse récente à ce sujet est donnée dans Fowden et al. (1993) où l'apport de la modélisation est également discuté.

6.5. Modélisation de la croissance et du développement

6.5.1. Définition d'un modèle

On peut définir un **modèle** comme étant une représentation simplifiée d'une réalité complexe. Au terme "modèle" on associe le vocable "système" qui représente la réalité qu'on se propose de modéliser. Un système peut avoir plusieurs sous-systèmes et composantes qui ont des interconnexions et qui correspondent aux différents niveaux d'étude. En agronomie, le système est représenté par le complexe "**climat-sol-plante**" dont le comportement est modifié par les techniques culturales appliquées. En d'autres termes, le système est le peuplement cultivé dans des conditions de sol, de climat et de techniques données. La modélisation consiste alors en l'intégration des connaissances d'ordre micro-météorologique, agrono-

mique et physiologique dans un cadre conceptuel plus ou moins élaboré selon le degré de simplification du système étudié.

La conception d'un modèle est liée aux objectifs qui lui sont assignés. Un modèle peut servir pour :

- explorer le contour du système étudié et délimiter sa structure en identifiant les composantes et sous-systèmes, les variables et paramètres qui le caractérisent ainsi que les facteurs qui déterminent son comportement ;
- expliquer les interconnexions entre sous-systèmes et les relations fonctionnelles entre les variables, en précisant les niveaux d'étude et le degré de précision voulue ;
- intégrer les fonctionnements des sous-systèmes pour comprendre le fonctionnement global du système étudié ;
- prévoir les changements d'états du système et les résultats attendus, suite aux changements des valeurs des variables et paramètres du modèle (simulation).

Un modèle peut être de nature purement conceptuelle (image mentale qu'on se fait de la réalité), de nature physique ou de nature mathématique. Dans tous les cas, le formalisme mathématique est un outil précieux pour décrire les caractéristiques du système modélisé et pour résumer le modèle qui le représente.

6.5.2. Techniques de modélisation

Les techniques de modélisation en physiologie et agronomie sont décrites dans de nombreux ouvrages dont celui fort didactique de France et Thornley (1984). L'élaboration d'un modèle, depuis sa construction jusqu'à son utilisation dans la pratique, nécessite les étapes suivantes :

- définition du système à modéliser, des sous-systèmes et composantes ;
- analyse des données disponibles sur le système et définition des objectifs du modèle, des approches à utiliser et des moyens à mettre en œuvre ;
- construction du modèle, élaboration de sa structure et des relations fonctionnelles entre ses variables ;
- validation du modèle pour tester sa généralité ;
- analyse de la sensibilité du modèle pour tester sa capacité prédictive ;
- utilisation du modèle comme outil de prévision, de diagnostic ou de recherche.

Une des étapes les plus décisives est la validation du modèle. Elle consiste à le tester en utilisant des données indépendantes de celles ayant servi à sa construction. En outre, le modèle ne pourra être utilisé dans la pratique qu'une fois validé.

6.5.3. Types de modèles

En privilégiant le type d'approche utilisé, on peut distinguer deux grandes catégories de modèles : les modèles empiriques et les modèles explicatifs. Le modèle empirique est simple dans sa structure mathématique et poursuit des objectifs limités. Le modèle explicatif est plus complexe parce qu'il intègre les principaux processus intervenant dans le fonctionnement du système étudié. D'autres critères sont utilisés pour différencier ces deux catégories de modèles : échelle de temps (dynamique ou statique), source de données (expérimentale ou statistique), but poursuivi (analyse, explication et/ou prévision) et application du modèle (outil de recherche ou outil de diagnostic). Cependant, il n'y a pas de limite claire entre la catégorie des modèles empiriques et celle des modèles explicatifs ou "mécanistiques".

6.5.4. Modèles empiriques

Un modèle empirique est un outil qui n'a pas de fondement théorique mais qui repose plutôt sur un raisonnement intuitif ou corrélatif. Le modèle qui consiste à prévoir le rendement en matière sèche d'une culture fourragère à partir de sa hauteur de végétation est un bon exemple : intuitivement, il y a une relation entre le volume de végétation, et donc la hauteur de l'herbe, et la masse d'herbe présente. Le modèle ainsi obtenu, qui est une simple régression linéaire entre rendement et hauteur, n'est pas suffisamment précis pour remplacer les mesures directes de biomasse mais il peut être utilisé comme outil de gestion du stock d'herbe disponible et d'aide à la décision dans la conduite du pâturage.

Un autre modèle empirique, également utilisé dans le domaine de la production fourragère, consiste à prévoir la qualité du fourrage produit à partir de sa composition morphologique. Les différents paramètres de qualité sont en effet tous liés à la proportion de feuilles (F) par rapport à celle des tiges (T) dans la biomasse totale, mesurée en matière sèche. De ce fait, le rapport F/T peut être utilisé dans la prévision de la qualité fourragère, comme le montre le tableau 6.6.

Tableau 6.6. Équations de régression entre le rapport F/T (X) et les composantes de qualités (Y) chez la luzerne cultivée en zone méditerranéenne irriguée

Composante de qualité	Équation	n	R^2	R	S_{xy}
% MS	$Y = 33,00 - 15,98 X$	36	0,71	0,84***	2,74
MAT	$Y = 7,59 + 9,71 X$	36	0,64	0,80***	1,96
NDF	$Y = 53,77 - 25,41 X$	36	0,76	0,87***	3,84
ADF	$Y = 40,10 - 15,27 X$	36	0,61	0,78***	3,25
ADL	$Y = 10,36 - 5,71 X$	36	0,77	0,88***	0,85

% MS = teneur en matière sèche (%)

MAT = teneur en protéines brutes

ADF, NDF, ADL = teneurs en constituants pariétaux

*** = hautement significatif

n = nombre d'observations

R = coefficient de corrélation

S_{xy} = écart-type

6.5.5. Modèles semi-empiriques

Un modèle semi-empirique est intermédiaire dans sa structure et sa complexité entre un modèle empirique simple et un modèle physiologique plus élaboré. Deux exemples intéressants permettent d'illustrer cette catégorie de modèles semi-empiriques.

• **Modèle basé sur l'efficacité d'interception de la lumière et de son utilisation par un couvert végétal.** Monteith (1977) propose un modèle selon lequel la croissance des plantes et la production de matière sèche peut être analysée en termes de :

- rayonnement incident ;
- fraction de ce rayonnement qui est interceptée par le couvert végétal ;
- efficacité d'utilisation de la lumière interceptée par le couvert.

Le rayonnement incident photosynthétiquement actif (PAR) se situe dans la gamme spectrale allant de 0,4 à 0,7 μm . Dans la plupart des stations météorologiques conventionnelles, le PAR n'est pas directement mesuré. Dans ce cas, le PAR incident est approximativement 50 % du rayonnement global incident, qui est mesuré en station ou estimé à partir de la durée d'insolation.

La fraction de lumière incidente transmise à travers un couvert végétal d'indice foliaire L et de coefficient d'extinction K est égale à e^{-KL} et la différence $1 - e^{-KL}$ représente la somme des fractions absorbées et réfléchies. Dans la plupart des cas, la réflexion du PAR est inférieure à 10 %, et on peut la négliger. De ce fait, la fraction absorbée devient proportionnelle à $1 - e^{-KL}$; elle augmente linéairement avec le développement foliaire, atteint une valeur maximale puis reste plus ou moins constante à partir d'un indice foliaire voisin de 5 pour la plupart des espèces cultivées.

L'efficacité d'utilisation de la lumière par le couvert végétal ou efficacité d'utilisation du rayonnement intercepté par le couvert est définie par la quantité de matière sèche produite par unité d'énergie lumineuse absorbée, et se mesure en g MS/MJ. Des valeurs de l'ordre de 1 à 4 g MS/MJ sont souvent citées dans la littérature. Les causes de cette variabilité sont discutées par Ameziane (1986) qui fait apparaître deux controverses importantes concernant les valeurs d'efficacité d'utilisation de la lumière : l'une correspondant à la différence entre les plantes de type photosynthétique C_3 et C_4 (voir chapitre 7), l'autre se rapportant à la stabilité des valeurs d'efficacité pour de nombreuses plantes cultivées dans différents environnements. Certains auteurs admettent la stabilité de l'efficacité, tandis que d'autres la réfutent.

• **Modèle basé sur la loi de dilution des teneurs en éléments minéraux dans la biomasse.** Lemaire et Salette (1984) proposent ce modèle qui permet de prévoir la décroissance de la teneur en azote (ou d'un autre élément minéral) en relation avec l'augmentation de la biomasse (figure 6.9). Le fondement théorique de ce modèle fait que sa validité est générale (Greenwood et al., 1991).

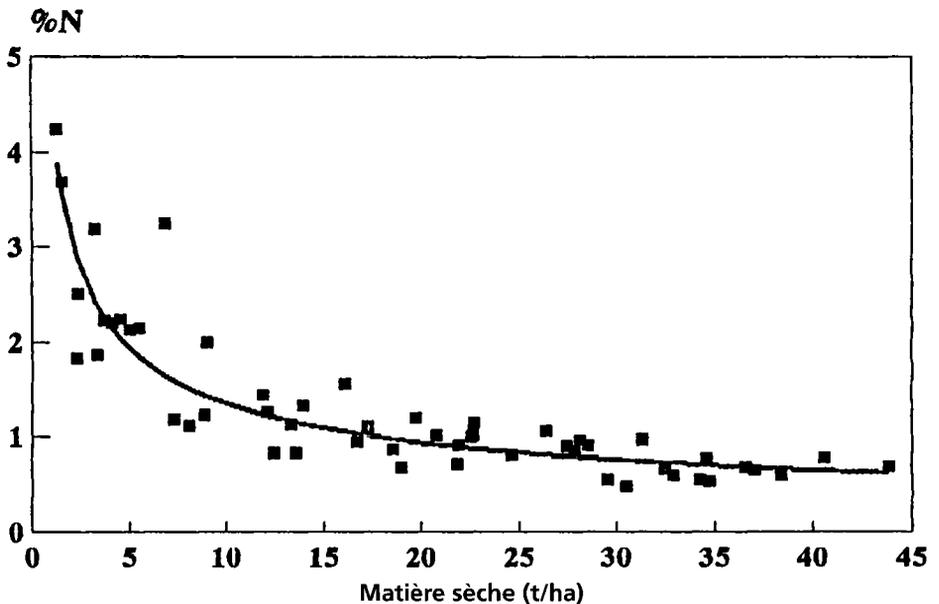


Figure 6.9. Évolution de la teneur en azote avec la matière sèche, chez la betterave à sucre, en zone méditerranéenne irriguée

6.5.6. Modèles physiologiques

Ces types de modèles intègrent la plupart des processus physiologiques qui sont mis en jeu dans la chaîne de production végétale et représentent sous forme de relations mathématiques les mécanismes régissant le fonctionnement des plantes cultivées. Les principaux processus pris en compte sont indiqués au tableau 6.7.

Tableau 6.7. Processus physiologiques pris en compte dans l'élaboration des modèles explicatifs.

<p>Interception de la lumière, photosynthèse et production d'assimilats</p> <ul style="list-style-type: none"> • Caractérisation du régime radiatif et du régime thermique • Architecture du couvert végétal, caractéristiques des feuilles et taux de photosynthèse <p>Nutrition minérale</p> <ul style="list-style-type: none"> • Caractérisation du régime minéral du sol • Architecture du système racinaire et activité racinaire <p>Alimentation hydrique</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bilan hydrique au niveau du sol et de la plante • Évapotranspiration et état hydrique des plantes <p>Croissance et développement</p> <ul style="list-style-type: none"> • Croissance, respiration et maintenance des structures • Développement foliaire • Morphogenèse (initiation, croissance et développement des feuilles, tiges, inflorescences, organes de stockage, racines, etc) • Sénescence des feuilles et des autres organes <p>Répartition des assimilats entre les différentes parties des plantes</p> <ul style="list-style-type: none"> • Pool carboné, pool minéral • Transport entre pools et translocation • Règles de priorités de répartition • Rendement biologique, indice de récolte et rendement économique

Une caractéristique majeure des ces modèles est leur structure élaborée et leur formulation mathématique plus ou moins complexe. Ils ont l'avantage de permettre des prédictions exactes et de faire des simulations souvent difficiles à réaliser expérimentalement. De ce fait, ils sont utilisés comme des outils de recherche. Le principal inconvénient de ces modèles est la difficulté de leur validation.

Un exemple simple de modèle physiologique validé sur les cultures fourragères en zones tempérée et méditerranéenne est représenté dans la figure 6.10. Ameziane (1986) en discute les fondements théoriques et les implications pratiques pour la prévision du rendement et de la productivité dans différentes conditions agronomiques.

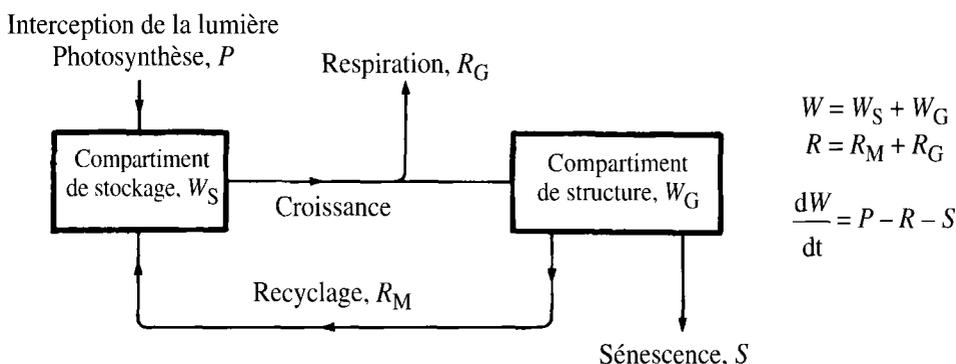


Figure 6.10. Modèle physiologique de croissance de l'herbe.

Source : Johnson I.R , Ameziane T.E , Thornley J H M. (1983), *Ann Bot* , 51, p 600

Selon ce modèle, une plante est constituée d'un compartiment de stockage et d'un compartiment de structure de poids respectif W_S et W_G dont la somme fait le poids total W . Le premier compartiment gagne du carbone par photosynthèse (P) et en perd pour satisfaire les besoins respiratoires de croissance (R_G) en vue d'élaborer la structure (feuilles, tiges, racines, inflorescences, etc.) et alimenter ainsi le second compartiment. Celui-ci perd à son tour du carbone par sénescence (S) mais en restitue une partie par recyclage au compartiment de stockage, au titre des besoins de maintenance (R_M) des structures élaborées.

On peut montrer que la vitesse de croissance est donnée par :

$$\frac{dW}{dt} = P - R - S,$$

indiquant que l'accumulation nette de matière sèche résulte du bilan entre l'acquisition de carbone par photosynthèse et la perte de carbone par respiration et sénescence, conformément aux faits expérimentalement établis.

7. CONCLUSION

Ce chapitre décrit brièvement les phénomènes de croissance et développement en insistant sur l'analyse quantitative de ces phénomènes et en montrant leurs liaisons avec la formation du rendement. L'élaboration de modèles de croissance est une démarche intéressante pour organiser la connaissance et faciliter la compréhension du fonctionnement des plantes cultivées. Les modèles dits explicatifs prennent en considération l'ensemble des mécanismes physiologiques qui sont traités dans les chapitres suivants.

BIBLIOGRAPHIE

- Ameziane T.E. (1986), *Growth studies in Lolium multiflorum in a mediterranean environment*, PhD thesis, University of Reading, England.
- Bradbeer, J.W. (1988), *Seed Dormancy and germination*, Blackie, Grassgrow and London, RU, 146 p.
- Brouwer R. (1962), "Distribution of dry matter in the plant", *Neth. J. Agric. Sc.*, 10 : 361-376.
- Brouwer R. (1983), "Functional equilibrium : sense or nonsense ?", *Neth. J. Agric. Sc.*, 31 : 335-348.
- Charles-Edwards D.A. (1981). "The mathematics of photosynthesis and productivity", *Experimental Botany Monograph* vol. 17, Academic Press, London, 127 p.
- Charles-Edwards D.A., Doley D., Rimmington G.M. (1986), *Modelling plant growth and development*, Academic Press, Sidney, 235 p.
- Duthil, J. (1971). *Éléments d'écologie et d'agronomie*, tomes 1,2 et 3, Collection des Ingénieurs des Techniques Agricoles, J.B. Baillièrre et Fils, Paris.
- Donald, C.M. and J. Hamblin (1976), "The biological yield and harvest index of cereals as agronomic and plant breeding criteria", *Advances in Agronomy*, 28 : 361-404, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- Evans, L.T. (ed.) (1975), *Crop physiology*, Cambridge University Press, 374 p.

- Fowden L., Mansfield T. and Stoddart J. (1993), *Plant adaptation to environmental stress*, Chapman and Hall, London, RU.
- France J. and Thornley J.H.M. (1984), *Mathematical Models in Agriculture*, Butterworths, London, 335 p.
- Greenwood D.J., Gastal F., Lemaire G., Draycott A., Millard P., Neetson J.J. (1991), "Growth rate and percentage N of field grown crops : theory and experiments", *An. Bot.*, 67 : 181-190.
- Hay, R.K.M., Kirby, E.J.M. (1991), "Convergence and synchrony, a review of the coordination of development in wheat", *Australian Journal of Agricultural Research*, 42 : 661-700.
- Heller, R., (1989), *Abrégé de physiologie végétale*, tome 1 : *Nutrition* en collaboration avec Esnault R. et Lance C., 4^e édition refondue et augmentée, 288 p. ; tome 2 : *Développement*, 3^e édition revue et mise à jour en 1985, 224 p. Collection "Actualités scientifiques et agronomiques de l'INRA", Paris.
- Jean, R.V. (1983), *Croissance végétale et morphogenèse*, coll. "Actualités scientifiques et agronomiques de l'INRA", Paris, 340 p.
- Johnson, C.B. (1981), *Physiological processes limiting plant productivity*, Butterworths, London, RU, 395 p.
- Jolivet, E. (1983), *Introduction aux Modèles Mathématiques en Biologie*, coll. "Actualités scientifiques et agronomiques de l'INRA", Paris, 152 p.
- Jonard P., Koller J., Vincent A. (1952), "Évolution de la tige et de l'épi chez la variété de blé Vilmorin 27 au cours de la période de reproduction", *Ann Amél. Plantes*, 2 : 31-54.
- Large E.C. (1954), "Growth stages in cereals : illustrations of the Feekes' scale", *Plant pathology*, 3 : 128-129.
- Le Guyader H. (1987), *Le développement des végétaux. Aspects théoriques et synthétiques. Biologie théorique*, coll. "Actualités scientifiques et agronomiques de l'INRA", Paris, 440 p.
- Lemaire G., Salette J. (1984), "Relations entre dynamique de croissance et dynamique de prélèvement d'azote pour un peuplement de graminées fourragères : I - Étude de l'effet du milieu ; II- Étude de la variabilité entre génotypes", *Agronomie*, 4 (5) : 423-436.
- Leopold, A.C. and Kriedmann, P.E. (1975), *Plant growth and development*, McGraw-Hill, I.N.C., New York, USA, 545 p.
- McLaren J.S. (1982), *Chemical manipulation of crop growth and development*, Butterworth, London, RU, 564 p.
- Meynard J.M. et David G. (1992), "Diagnostic de l'élaboration du rendement des cultures", *Cahiers Agricultures*, 1 : 9-19.
- Milthorpe, F.L. and Moorby, J. (1979), *An introduction to crop physiology*, 2^e édition, Cambridge University Press, Cambridge, RU, 243 p.
- Monteith J.L. (1977), "Climate and the efficiency of crop production in Britain", *Philosophical Transaction of the Royal Society*, series B. 281, 277-294.
- Porter, J.R. and D.W. Lawlor (eds) (1991), *Plant growth : interactions with nutrition and environment*, Society for Experimental Biology, Seminars series 43, Cambridge University Press, Cambridge, RU.
- Radford P.J. (1967), "Use and misuse of crop growth formula", *Crop Science*, 7 : 171-175.
- Rees M., Lawton J.H. (1993), "What can models tell us ?" in *Plant adaptation to environmental stress*, Fowden L., Mansfield T. and Stoddart J. (eds.), Chapman & Hall, London, RU, 65-83.
- Russel G. Marshall B. and Jarvis P.G. (eds.) (1989), *Plant canopies : their growth, form and function*, Society for experimental biology, Seminar series 31, Cambridge University Press, Cambridge, RU.

- Salisbury F.B. and Ross C.W. (1985), *Plant Physiology*, Wordsworth Publishing Co., Belmont, California, USA.
- Sebillotte M. (1982), *Cours d'agronomie générale*, chaire d'agronomie, INA Paris-Grignon, polycopié.
- Squire, G.R. (1990), *The physiology of tropical crop production*, CAB International, Oxon, RU, 236 p.
- Tesar, M.B. (ed.) (1984), *Physiological basis of crop growth and development*, American Society of Agronomy and the Crop Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA, 341 p.
- Thimann, K.V. (ed.) (1980), *Senescence in Plant*, C.R.C. Press, Boca Raton, Florida, USA, 276 p.
- Varlet-Grancher C., Bonhomme R. and Sinoquet H. (eds.) (1993), *Crop structure and light microclimate. Characterization and applications*, INRA, Versailles, 518 p.
- Warren-Wilson J. (1981a), "Analysis of light interception by single plants", *An. Bot.*, 48 : 501-505.
- Warren-Wilson J. (1981b), "Analysis of growth, photosynthesis and light interception for single plants and stands", *An. Bot.*, 48 : 507-512.
- Wilkins, M.B. (1984), *Advanced Plant Physiology*, Pitman, London, RU, 514 p.
- Zadoks J.C., Chang P.T. and Konzak E.F. (1974), "A decimal code for the growth stages of cereals", *Eucarpia Bul.*, 7 : 42-52.

Chapitre 7

PHOTOSYNTHÈSE ET PHOTORESPIRATION

S. Mauro, J.-F. Ledent*, M.-F. Scharll et R. Lannoye

Université libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique

* Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgique

Sommaire

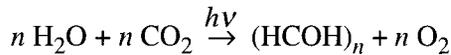
- 1. Introduction : bilan réactionnel et efficacité photosynthétique**
- 2. Le chloroplaste : un ensemble de compartiments où s'effectue la photosynthèse**
- 3. L'unité photosynthétique : un système optimisé de conversion de l'énergie lumineuse**
 - 3.1. Mécanismes de base de la photoconversion
 - 3.2. Les systèmes collecteurs d'énergie
- 4. Les chaînes de transporteurs d'électrons dans la membrane thylacoïde**
 - 4.1. De l'eau au centre réactionnel du PS_{II}, P₆₈₀⁺
 - 4.2. Le transfert d'électrons intersystème
 - 4.3. Le transport d'électrons du PS_I au NADPH⁺
- 5. La synthèse d'ATP : théorie chimiosmotique**
- 6. La photo-inhibition**
 - 6.1. Mécanismes moléculaires de la photo-inhibition
 - 6.2. Mécanismes de protection
- 7. Le métabolisme carboné**
 - 7.1. Le métabolisme C₃
 - 7.2. Le métabolisme C₄
 - 7.3. Le métabolisme CAM
 - 7.4. Les échanges stroma-cytoplasme
- 8. Photosynthèse et résistances à la diffusion**
 - 8.1. Photosynthèse, diffusion du CO₂, analogie électrique
 - 8.2. Diffusion du CO₂ en phase gazeuse
 - 8.3. Diffusion en phase liquide, résistance du mésophylle
 - 8.4. "Résistances" de carboxylation, une pratique discutable
 - 8.5. Courbe de demande et courbe d'offre du CO₂
 - 8.6. Ajustement réciproque entre transpiration et assimilation
 - 8.7. Efficacité d'utilisation de l'eau et discrimination
- 9. Méthodes de mesure de la photosynthèse**
 - 9.1. Méthodes aérodynamiques
 - 9.2. Mesures en chambres d'assimilation
 - 9.3. Méthode basée sur l'utilisation du carbone 14
 - 9.4. Méthode de la sonde à oxygène et méthodes manométriques
 - 9.5. Méthodes gravimétriques
 - 9.6. Mesure de la respiration sombre de la photorespiration
- 10. Photosynthèse et rendement**
 - 10.1. De la photosynthèse au niveau d'une feuille à celle d'un couvert végétal
 - 10.2. Relation entre matière sèche produite et rayonnement absorbé
 - 10.3. Photosynthèse et rendement en grains

Bibliographie

PHOTOSYNTHÈSE ET PHOTORESPIRATION

1. INTRODUCTION : BILAN RÉACTIONNEL ET EFFICIENCE PHOTOSYNTHÉTIQUE

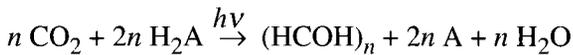
La photosynthèse est le processus par lequel la lumière solaire incidente est convertie en biomasse. Chez les plantes supérieures ou chez certains procaryotes, comme les cyanophycées, le bilan réactionnel du métabolisme photosynthétique associe fixation de CO_2 et production d' O_2 :



où $(\text{HCOH})_n$ représente les hydrates de carbone.

La photosynthèse constitue ainsi la seule voie de régénération de l'oxygène atmosphérique consommé par l'activité respiratoire et la combustion d'énergies fossiles.

Cependant, d'autres organismes captent l'énergie solaire pour réaliser leurs synthèses organiques. Ces organismes, bactéries pourpres ou vertes, sont des anaérobies stricts ou partiels qui utilisent l'hydrogène, l'acide sulfurique ou des molécules organiques comme source d'électrons. Par conséquent, l'équation générale de la photosynthèse doit, pour rendre compte de la diversité des substrats donneurs d'électrons, s'écrire :



où H_2A représente le substrat oxydable.

Bien que les organismes procaryotes aient une fonction écologique très importante, l'essentiel de la production primaire, au niveau de la biosphère, est assuré par les végétaux supérieurs. On estime que chaque année, $2 \cdot 10^{11}$ tonnes de matière sèche sont produites par les écosystèmes végétaux. Ces estimations, impressionnantes par leurs valeurs, cachent cependant mal la modestie des rendements réels de la conversion photosynthétique estimés, dans le meilleur des cas, à environ 1 %. Les causes des écarts observés entre les rendements réel et théorique (± 40 %) peuvent être appréciées au travers de l'analyse des déterminants de la productivité végétale. En effet, bien que la photosynthèse soit le facteur déterminant de la productivité, d'autres éléments interviennent dans l'élaboration du rendement. C'est ainsi que la productivité nette (PN) d'une culture ou d'une végétation naturelle est principalement déterminée par la quantité d'énergie lumineuse disponible (Q), la proportion interceptée par le couvert (B), l'efficacité de photoconversion (E) et, finalement, les pertes respiratoires (R) (voir chapitres 2, 6, et 8).

L'équation suivante peut être proposée pour une excellente approximation de la productivité nette :

$$\text{PN} = QBE - R \quad (1)$$

Cette relation indique trois voies d'amélioration de la productivité. Parmi celles-ci, la *réduction des pertes respiratoires* est certainement la plus prometteuse, ainsi que

le suggèrent les différences importantes dans l'intensité respiratoire de génotypes de graminées d'herbages (voir chapitre 8). *L'efficacité de l'interception lumineuse* dépend du développement, de la structure et de la couleur du couvert. La plupart des pratiques culturales qui ont conduit à des améliorations du rendement interfèrent directement sur les caractéristiques du couvert. Finalement, l'efficacité de la photoconversion est directement dépendante du *processus photosynthétique*. C'est le seul paramètre dont l'amélioration génétique peut conduire à des augmentations de rendement indépendantes d'apports supplémentaires en fertilisants.

Ce paramètre est très influencé par les contraintes du milieu. En particulier, les dommages de la photo-inhibition, combinaison d'une lumière excessive et d'une contrainte majeure du milieu, sont importants. L'identification de génotypes possédant une efficacité de photoconversion moins influencée par l'environnement représente un axe de recherche prioritaire en agronomie.

2. LE CHLOROPLASTE : UN ENSEMBLE DE COMPARTIMENTS OÙ S'EFFECTUE LA PHOTOSYNTÈSE

D'un point de vue cytologique, les chloroplastes dérivent des plastes, organites cellulaires peu différenciés et spécifiques aux eucaryotes. Spécialisés dans l'accomplissement de la photosynthèse, les chloroplastes représentent, à eux seuls, 60 % de la masse totale des protéines foliaires. Généralement, la forme d'un chloroplaste peut être ramenée à un ellipsoïde dont les valeurs des grand et petit axes s'échelonnent respectivement entre 7 et 10 microns et 2 et 5 microns. Il est constitué de deux réseaux membranaires totalement indépendants.

Chacune de ses parties jouent un rôle bien spécifique dans la photosynthèse.

- **Le réseau membranaire externe**, encore appelé enveloppe, est constitué d'une double membrane unitaire. Frontière entre deux compartiments cellulaires, il contrôle les échanges bidirectionnels de matière entre le **cytosol** et la matrice amorphe interne appelée **stroma**.

- **Le réseau membranaire interne** est organisé en un ensemble de vésicules aplaties : les **thylacoïdes granaires** qui, par leur empilement, donnent naissance aux **grana**. Ils sont reliés entre eux par des ponts membranaires, les **thylacoïdes stromatiques** ou **lamelles stromatiques**. La microscopie électronique nous montre que les lamelles stromatiques s'enroulent autour des grana et assurent la continuité spatiale de l'espace interne du système thylacoïde (**lumen**). Les constituants des membranes thylacoïdes sont regroupés en trois groupes fonctionnels :

- les complexes protéines-pigments. Ils assurent l'absorption et la stabilisation de la lumière sous la forme de dipôles électriques transmembranaires. La nature des pigments (chlorophylle a et b, caroténoïdes) et leur stœchiométrie au sein des complexes protéiques varient, non seulement en fonction du rôle spécifique de chaque complexe, mais aussi en fonction des facteurs de l'environnement ;

- les transporteurs d'électrons. Leurs interactions dans la membrane conduisent à un flux vectoriel d'électrons de l'eau au NADPH. Ce flux d'électrons est couplé au transport de protons dans le lumen ;

- les complexes protéiques de l'ATP synthase responsable de la production d'ATP. Dans la théorie de la chimiosmose, l'énergie nécessaire à la synthèse d'ATP est fournie par le gradient électrochimique des protons photo-induits.

• Le troisième compartiment envisagé est le stroma. Il contient les enzymes qui assurent l'incorporation du dioxyde de carbone dans des molécules glucidiques. Il contient aussi l'ADN dont l'information sert à la synthèse d'une partie des protéines nécessaires au fonctionnement du chloroplaste.

3. L'UNITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE : UN SYSTÈME OPTIMISÉ DE CONVERSION DE L'ÉNERGIE LUMINEUSE

Le concept d'unité photosynthétique a été formulé dès les années 30 par R. Emerson et W. Arnold pour expliquer la collaboration de plusieurs milliers de molécules de chlorophylle à la production d'une seule molécule d'oxygène.

Cette stœchiométrie singulière les a conduit à postuler l'existence de deux populations de pigments :

– les **pigments antennes, accessoires ou secondaires**. De nature chimique variable, chlorophylle a et b, caroténoïdes, ils sont dépourvus d'activité photochimique et assurent la collecte et le transfert de l'énergie lumineuse vers les centres de photoconversion proprement dits (centres réactionnels) qui contiennent les pigments pièges ;

– les **pigments pièges**, organisés en dimères de chlorophylle a, constituent le cœur du centre réactionnel ; c'est à leur niveau que s'effectue la conversion de l'énergie d'excitation en énergie électrique (figure 7.1).

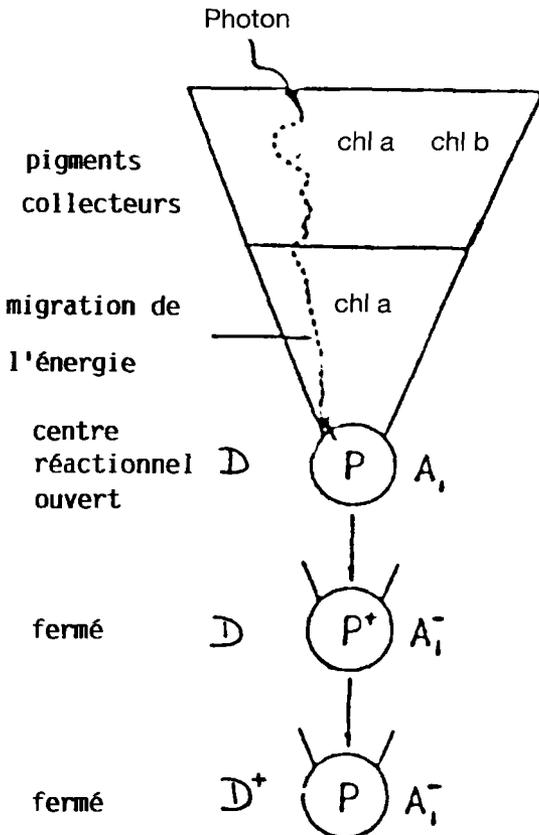


Figure 7.1. Représentation schématique du fonctionnement d'une unité photosynthétique.

Les pigments collecteurs constituent un puits pour l'énergie d'excitation qui est dirigée vers le centre réactionnel avec une probabilité proche de 1. Le centre réactionnel peut réaliser une séparation de charges, il est dit "ouvert". Lorsque le piège est oxydé ou l'accepteur secondaire A réduit, l'excitation de la paire spéciale peut survenir, mais elle ne donne pas lieu à une séparation stable de charges.

Le blocage photochimique a une origine différente suivant que l'on considère l'une ou l'autre situation. Dans le cas DP⁺A⁻, le blocage résulte de l'incapacité de P⁺ à éjecter un second électron. Dans la situation D⁺PA⁻, une séparation de charge peut être réalisée (DP⁺X⁻A), mais la présence d'un électron sur A⁻ prévient la seconde phase de la stabilisation de l'énergie et favorise la recombinaison de charges produite par la réaction.

Le retour à l'état actif est généralement conditionné par l'oxydation de A⁻, elle-même dépendante de l'activité des chaînes de transfert d'électrons.

Le regroupement des pigments en unités photosynthétiques représente une solution élégante et efficace conduisant à une harmonisation des activités photo- et électrochimiques. En effet, si la fréquence des réactions photochimiques est conditionnée par l'intensité de la lumière actinique, l'activité de la chaîne de transporteurs d'électrons est limitée par une réaction dont le temps de demi-vie est de l'ordre de 20 milli secondes. Dès lors, comme chaque pigment, sous forte illumination, est excité une fois toutes les 0,1 seconde, l'option d'une activité photochimique indépendante pour chaque pigment réduirait le rendement de conversion à $0,02/0,1 = 0,2$ soit 20 % !

3.1. Mécanismes de base de la photoconversion

Le "centre réactionnel" est l'entité minimale capable de photoconversion. Il est constitué d'un ensemble de protéines dont l'organisation tridimensionnelle est maintenant bien connue chez les bactéries pourpres, grâce au succès des tentatives de cristallisation de leurs centres réactionnels et à l'analyse de leurs images de diffraction des rayons X.

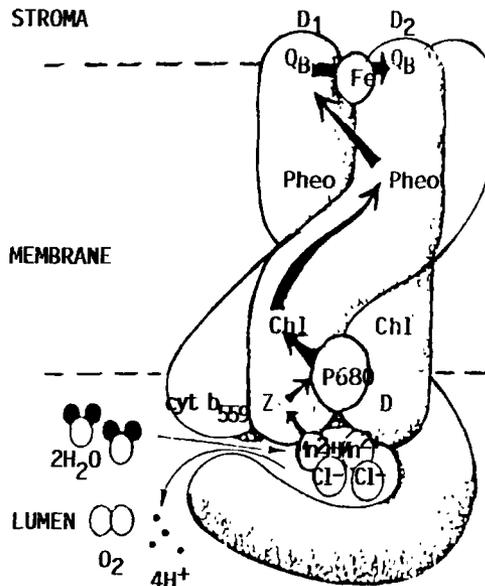


Figure 7.2. Organisation et composition du centre réactionnel du photosystème II

Trois protéines constituent le centre réactionnel du PSII. Les protéines D₁ et D₂ complexent la paire spéciale et les accepteurs et donneurs primaires et secondaires d'électrons. La troisième protéine, composée de deux sous-unités, complexe le cytochrome b₅₅₉ dont la fonction est encore inconnue aujourd'hui.

Suite à l'excitation du pigment-piège (chl a), un électron est transféré à une phéophytine (accepteur primaire), puis stabilisé sur un complexe quinone-Fe (accepteur secondaire ou Q_A). Par analogie avec les systèmes bactériens, on pense qu'une des deux molécules de chlorophylle a relaie le transfert d'électrons de P₆₈₀ à la phéophytine. Cependant, aucune fonction précise n'a pu être attribuée aux deux molécules de chlorophylle a et de phéophytine additionnelles : elles sont qualifiées de molécules "voyageuses". Le rôle de donneur d'électrons au piège est assuré par un résidu tyrosine présent sur la protéine D₁. La tyrosine est ensuite réduite par un complexe enzymatique extrinsèque capable d'oxyder l'eau et dont l'activité dépend de la présence d'ions Mn²⁺ et Cl⁻.

La protéine D₁ contient une "loge" qui stabilise une molécule de plastoquinone (Q_B) provenant de la matrice lipidique. Deux réactions photochimiques consécutives sont nécessaires à la production d'un plastoquinol qui quitte alors le centre réactionnel.

Certains herbicides dérivés de l'urée ou de l'atrazine entrent en compétition avec les quinones pour le site de fixation sur D₁. Ils inhibent l'activité photosynthétique en prévenant la production de plastoquinols.

Cependant, les centres réactionnels des plantes vertes, des algues ou des bactéries répondent à un mode de fonctionnement similaire, basé sur la photo-oxydation d'un dimère de (bactério) chlorophylle a, encore appelé "pigment piège" ou "paire spéciale" (figures 7.1 et 7.2).

A l'état excité, le pigment piège transfère un électron à une molécule acceptrice X qui le cède ensuite à une seconde molécule acceptrice A. L'état initial est rétabli grâce à l'intervention d'un donneur d'électrons D :



Cette séquence de réactions d'oxydoréduction justifie les appellations de donneur et d'accepteur primaires d'électrons conférées respectivement à P et à X et, de donneur et d'accepteur secondaires données à D et à A.

En quelques centaines de picosecondes (10^{-12} s), l'essentiel de la conversion énergétique est réalisé : l'énergie d'excitation est transformée en énergie potentielle associée aux deux charges électriques présentes sur P et X. L'action des accepteur et donneur secondaires A et D est de renforcer la stabilisation du dipôle, formé par la photo-réaction, en accentuant la délocalisation des charges sur l'épaisseur de la membrane thylacoïde soit, environ, 50 Å. Ces intermédiaires, relativement stables (durée de vie de l'ordre de la milliseconde) sont à l'origine des flux électroniques qui quittent les centres réactionnels et dont l'énergie sera utilisée pour les synthèses des "molécules riches en énergie" spécifiques à chaque type de métabolisme photosynthétique.

Les cinétiques ultrarapides des réactions d'oxydoréduction observées dans les centres réactionnels conditionnent à la fois leur intégrité et le rendement de ces réactions. En effet, le transfert quasi instantané des charges sur A et D prévient, pratiquement totalement, les pertes d'énergie que causeraient les réactions de recombinaison de charges. Parallèlement, il limite la durée de vie des espèces P^* et P^+ capables de dénaturer les protéines constituant le centre réactionnel et dont l'accumulation, chez les végétaux supérieurs, détermine une diminution importante de la productivité (photo-inhibition).

Chez les eucaryotes photosynthétiques et les cyanophycées, deux formes de pigments pièges coexistent. Elles se différencient non seulement par la position de leur maximum d'absorption, mais aussi par la nature des réactions chimiques qu'elles catalysent. La forme absorbant à 680 nm (P_{680}) produit un oxydant puissant capable de photo-oxyder l'eau (Z^+) et un réducteur faible (Q_A^-) ; celle absorbant à 700 nm (P_{700}) produit un oxydant faible capable d'oxyder Q_A^- et un réducteur puissant responsable de la réduction de $NADP^+$ en $NADPH_2$. Associées à leur système collecteur spécifique, elles constituent des entités fonctionnelles appelées respectivement photosystème II (PS_{II}) et I (PS_I) (voir plus loin).

3.2. Les systèmes collecteurs d'énergie

L'immense majorité des pigments photosynthétiques (99 %) est dépourvue d'activité photochimique ; elle a pour fonction de *collecter l'énergie lumineuse et de la transférer aux pigments pièges*.

Bien que fortement lipophiles, ces pigments ne sont pas libres dans les membranes thylacoïdes : ils sont engagés dans des liaisons non covalentes avec des protéines

dont le nombre varie peu en fonction des espèces : ainsi, une quinzaine de protéines différentes ont été détectées dans les systèmes collecteurs d'organismes aussi différents que le maïs ou *Chlamydomonas*, une algue unicellulaire. La plupart d'entre elles, codées par des gènes nucléaires, sont synthétisées dans le cytoplasme sous forme de précurseurs solubles. Leur passage au travers de l'enveloppe et leur insertion dans les membranes thylacoïdes sont contrôlés par une séquence peptidique N-terminale, appelée **séquence signal**.

Leur maturation, c'est-à-dire l'élimination de la séquence signal et la complexation des pigments caroténoïdes et chlorophylles, est réalisée dans les membranes stromatiques.

La fonction des chromophores chlorophylliens ne se limite toutefois pas à un rôle de collecte de lumière. C'est un des acquis de ces quinze dernières années de recherche d'avoir démontré leur implication dans la régulation des réactions primaires de la photosynthèse et, partant, du métabolisme photosynthétique tout entier.

3.2.1. Absorption et migration de l'énergie d'excitation

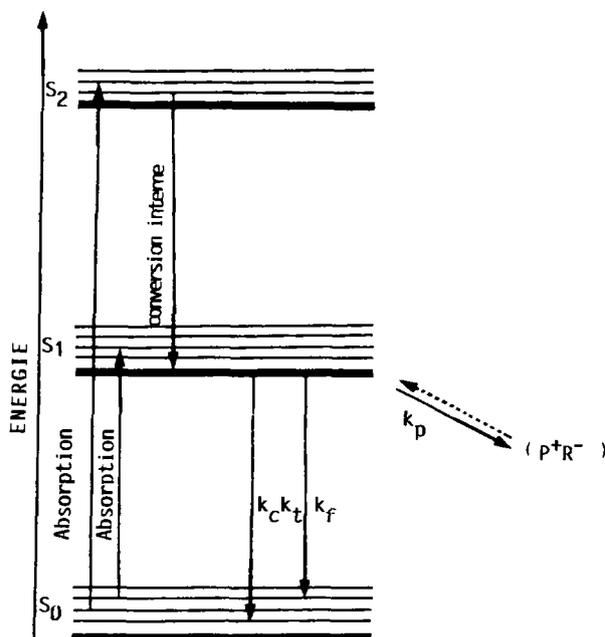


Figure 7.3. Représentation schématique des différents états électroniques d'une molécule de chlorophylle.

Les différents niveaux d'énergie correspondent à une occupation différente des orbitales de la molécule. Chaque niveau principal se subdivise en un ensemble de sous-niveaux énergétiques correspondant à différents états de vibration des atomes qui constituent la molécule. L'absorption d'un photon se produit lorsque l'énergie qu'il contient correspond exactement à la différence d'énergie entre deux niveaux. Chez la chlorophylle, la relaxation (conversion interne) vers l'état vibrationnel le plus bas précède tout autre événement.

A ce stade, l'énergie d'excitation peut être dissipée thermiquement (k_c), par transfert vers une autre molécule de chlorophylle (k_t), par émission d'un photon de fluorescence (k_f), ou encore par photochimie (k_p). Chacun de ces processus est caractérisé par une constante cinétique et contribue à la dépopulation des états excités dans une proportion établie par le quotient de la constante cinétique et de la somme de toutes les constantes.

En particulier, les systèmes photosynthétiques sont très efficaces puisque le rendement de photoconversion donné par $(k_p) / (k_p + k_f + k_c + k_t)$ est égal à $\approx 0,99$! Cette efficacité repose tant sur les cinétiques des réactions catalysées par le centre réactionnel, que sur l'efficacité du transfert d'énergie d'excitation des pigments.

En réalité, la conversion de l'énergie lumineuse commence dès son absorption par un pigment : on parle alors d'énergie d'excitation.

L'absorption d'un photon est un acte "instantané" (10^{-15} s) qui aboutit à l'apparition d'un état "excité" où l'énergie du photon permet à un électron d'accéder à une orbitale moléculaire "plus élevée", c'est-à-dire plus énergétique (figure 7.3).

Ces sauts électroniques se produisent sur la base d'une loi de tout ou rien : l'accès aux différentes orbitales n'est permis que si l'énergie des photons répond à la relation :

$$E = E_{\text{exc}} - E_{\text{f}} = h\nu \quad (2)$$

où E_{exc} correspond à la différence d'énergie entre les états excité et fondamental de la molécule ;

h : constante de Planck ($6,626 \cdot 10^{-34}$ J·s) ;

ν : fréquence de la radiation.

La variation de la probabilité d'absorption en fonction de la longueur d'onde de la radiation, c'est-à-dire de l'énergie des photons, définit le spectre d'absorption de la substance (figure 7.4.a). Au sein de l'unité photosynthétique cette relation exclusive n'est pas satisfaite, ou plutôt elle doit être étendue au complexe protéine-pigment. En effet, les différents pigments acquièrent, en fonction de l'environnement spécifique que leur confère chaque protéine, une identité spectrale (figure 7.4.b). On pense que ces formes spectrales seraient distribuées dans l'unité photosynthétique de manière à piloter l'énergie d'excitation vers les pigments pièges.

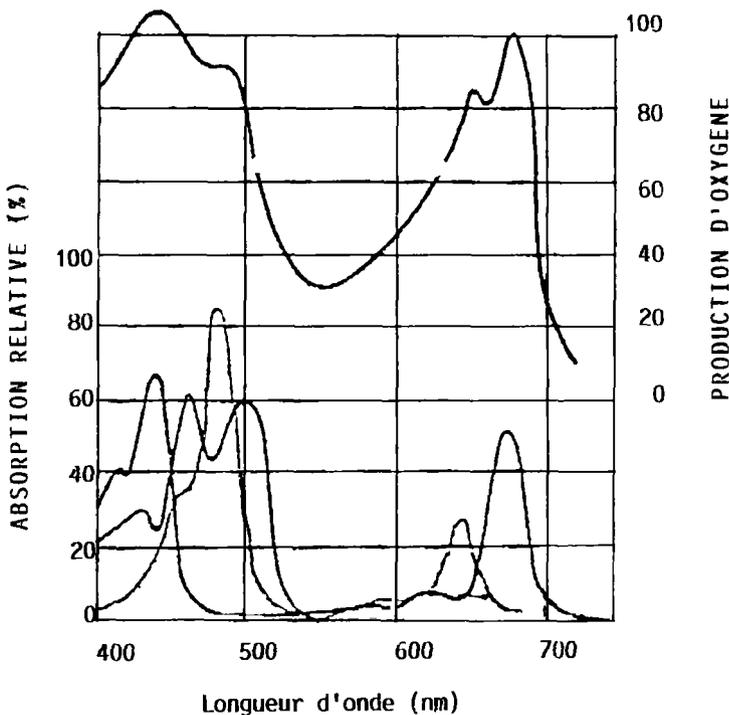


Figure 7.4.a. Spectres d'absorption des pigments photosynthétiques.

Les chlorophylles présentent deux zones d'absorption maximale centrées dans le bleu sur environ 450 nm et dans le rouge sur 650 nm. La présence de caroténoïdes permet de renforcer et d'élargir la gamme des rayonnements absorbés dans le bleu-vert. Cependant, comme l'indique le spectre d'action de la photosynthèse, il existe une fenêtre d'absorption minimale où le rayonnement lumineux (550 nm) n'induit pas une activité photosynthétique importante.

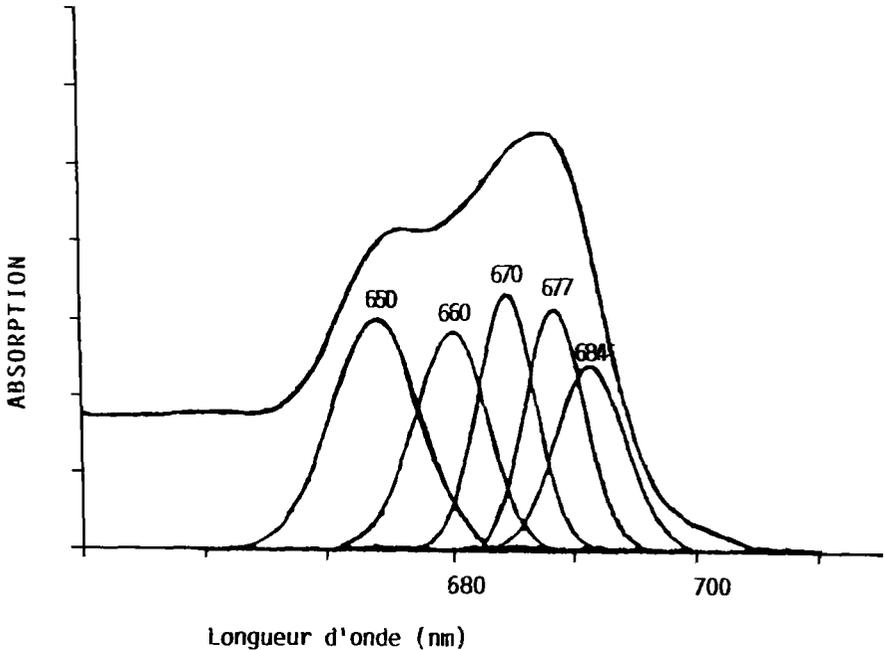


Figure 7.4.b. Formes spectrales de la chlorophylle *in vivo*.

In vivo, le spectre d'absorption des chlorophylles est sensiblement élargi par rapport au spectre obtenu en solution organique. On pense que cet élargissement du spectre est déterminé par l'existence de différentes formes spectrales de chlorophylle. Celles-ci résultent d'une modulation de leurs propriétés spectrales par les liaisons chlorophylle-protéine. Différents traitements mathématiques permettent d'extraire le nombre et les caractéristiques de chaque forme spectrale. Il semble toutefois que la décomposition en gaussienne donne les résultats les plus satisfaisants. Dans le cas des thylacoïdes granaires, la bande d'absorption dans le rouge résulte de l'absorption d'un minimum de cinq formes spectrales, dont quatre sont associées à la chlorophylle a ($\lambda_{\max} = 660, 670, 677$ et 684 nm) et une seule est associée à la chlorophylle b ($\lambda_{\max} = 650$ nm).

Il faut toutefois se garder de percevoir l'unité photosynthétique comme une structure rigide et statique, où chaque centre réactionnel serait associé à un nombre défini et constant de pigments (modèle des unités photosynthétiques indépendantes). Bien au contraire, l'ensemble des données expérimentales plaident en faveur des modèles où plusieurs centres réactionnels partagent un territoire collecteur commun. Dans ces îlots, l'énergie d'excitation migre librement et visite plusieurs unités photosynthétiques avant d'être stabilisée.

Le débat reste intense sur les modalités précises des relations pièges-collecteurs. En effet, si certaines données expérimentales plaident pour une limitation du "piégeage photochimique" consécutive à la relative lenteur des réactions du centre réactionnel par rapport à la vitesse de déplacement de l'excitation (limitation par le piège), d'autres attribuent cette limitation à la vitesse de diffusion de l'excitation. Cette incertitude résulte de l'impossibilité de préciser le mécanisme exact de la migration de l'énergie dont on retiendra, par conséquent, qu'il s'agit d'un processus non radiatif (photosensibilisation), dont l'efficacité est conditionnée par la position et l'orientation des pigments, le degré de recouvrement des spectres d'absorption des molécules concernées par le transfert.

Ce processus de transfert non radiatif de l'énergie lumineuse est très efficace, on calcule que la probabilité de transfert de l'excitation au centre réactionnel est proche de 1.

3.2.2. Hétérogénéité de composition des systèmes collecteurs

Le raffinement des techniques biochimiques de fractionnement membranaire a permis d'identifier différentes sous-populations de complexes pigments-protéines. La solubilisation de préparations enrichies en PS_{II} permet d'y différencier trois groupes fonctionnels. Leur rôle de collecteur de lumière se double d'une fonction bien précise dans l'organisation et/ou la régulation de l'activité des unités photosynthétiques.

- Deux complexes, CP₄₃ et CP₄₇, organisés en une couronne interne, sont intimement associés au centre réactionnel. Ils contiennent exclusivement de la chlorophylle a et leur présence est indispensable à la stabilité des centres réactionnels du PS_{II}.
- De découverte récente, les complexes mineurs CP₂₉, CP₂₆ et CP₂₄ interviennent dans l'ancrage des complexes antennes majeurs aux CP₄₃ et CP₄₇. Codés par les gènes nucléaires, ils complexent chlorophylles a et b dans un rapport compris entre 1,6 et 2,9.
- Les complexes antennes majeurs (LHC_{II}) sont quantitativement les plus importants puisqu'ils représentent à eux seuls 50 % des protéines membranaires. Codés par le noyau, ils complexent chlorophylles a et b dans un rapport de 1,6. Les LHC_{II} jouent un rôle déterminant dans la régulation à court et à long terme des réactions primaires.

Cette organisation, complexe, est caractéristique du PS_{II} ; on la retrouve chez toutes les espèces étudiées jusqu'à présent. A l'opposé, l'organisation du PS_I semble nettement plus simple puisque deux complexes chlorophylle a/b alimentent directement la couronne interne de collecteurs associés au centre réactionnel du PS_I.

3.2.3. Régulation des réactions primaires de la photosynthèse

L'existence de mécanismes régulateurs coordonnant l'activité des deux photosystèmes a été suggérée par des expériences démontrant le maintien, dans une large gamme de conditions d'illumination, d'un rendement photosynthétique à un niveau constant et maximal. Ces mécanismes perçoivent les fluctuations continues de la composition et de l'intensité de la lumière. On montre expérimentalement qu'en absence de régulation, des taux asymétriques d'excitations des deux photosystèmes conduisent à une limitation des réactions photosynthétiques par le photosystème sous-excité.

De même, on peut raisonnablement penser qu'une mauvaise appréciation de la quantité de lumière reçue détermine un sur- ou un sous-investissement énergétique dans la synthèse des constituants de la machinerie photosynthétique. Si le chloroplaste est parfaitement organisé pour percevoir et compenser de brèves fluctuations, quantitatives et qualitatives, de la lumière (secondes-heures), les changements de longue durée (jours) sont gérés par des chromophores non photosynthétiques (phytochrome). Cette question est abordée au chapitre 2.

Ces différentes voies régulatrices ont cependant comme point commun de modifier la structure, l'organisation et la composition des systèmes collecteurs.

- **Modalités de la régulation aux faibles intensités lumineuses.** Ce n'est que tout récemment que l'on a décrit les modalités du mécanisme qui harmonisait l'activité des deux photosystèmes en lumière limitante. Cette régulation repose sur le développement d'une boucle de rétrocontrôle négatif qui agit sur la composition et la taille des systèmes antennes associés aux centres réactionnels. Elle est mobilisée par des déséquilibres de composition spectrale en conditions de lumière non saturante (figure 7.5).

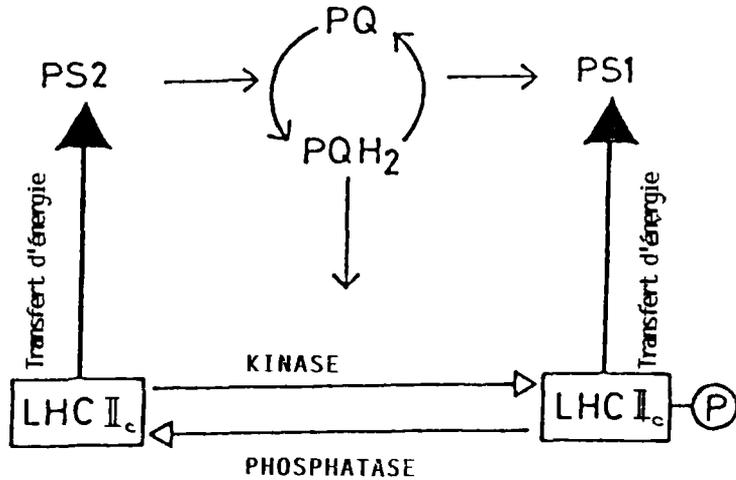


Figure 7.5. Adaptation de la membrane thylacoïde aux changements de composition spectrale de la lumière.

La dissociation des LHCII des centres réactionnels est déterminée par un éclaircissement préférentiellement absorbé par le PSII, la conformation membranaire qu'il détermine caractérise l'état 2. Réciproquement, un éclaircissement favorisant l'activité du PSI induit le retour des LHCII au PSII, la membrane se trouve alors dans l'état 1

Schématiquement on peut décrire ses grandes lignes comme suit :

- (1) Dans la conformation membranaire induite par une longue période d'obscurité, la composition et la taille des unités photosynthétiques favorisent l'activité des centres réactionnels du PSII. L'éclaircissement des membranes provoque l'accumulation des plastoquinols.
- (2) Une kinase membranaire, activée par les plastoquinols, phosphoryle des populations spécifiques de complexes chlorophylle-protéine (LHCII_c).
- (3) Les LHCII phosphorylés quittent le PSII pour s'associer aux unités du PSI. Leur transfert réduit le déséquilibre initial en stimulant l'activité du PSI.
- (4) Deux mécanismes interviennent pour limiter l'ampleur de la dissociation PSII-LHCII_c :
 - l'activité de la kinase diminue suite à l'oxydation des plastoquinols ;
 - une phosphatase membranaire hydrolyse les liens phosphates et favorise le retour des LHCII aux PSII.

La coordination de l'activité des deux photosystèmes est donc assurée par un contrôle dynamique des dimensions de leur système antenne grâce à l'intervention de deux enzymes membranaires dont l'action est modulée par l'intensité du flux d'électrons intersystèmes.

• **Modalités de la régulation aux fortes intensités lumineuses.** Aux intensités lumineuses proches de la saturation, la photosynthèse est limitée par l'activité des composantes biochimiques du métabolisme photosynthétique. La suppression de la voie préférentielle de dissipation de l'énergie pourrait donc conduire à une importante destruction des centres réactionnels puisque les capacités d'absorption restent inaltérées.

Expérimentalement, on constate cependant que la diminution des taux d'assimilation de CO₂ s'accompagne d'une augmentation proportionnelle de la dissipation d'énergie dans les antennes. Différents auteurs s'accordent à penser que la transformation de la violaxanthine en zéaxanthine dans les complexes pigments-protéines assure la dissipation thermique du surplus d'énergie d'excitation. A saturation, ce

piège est suffisamment efficace pour maintenir le rendement du transfert d'énergie au centre réactionnel à une valeur proche de zéro !

- **Modalités de la régulation à long terme.** L'adaptation aux changements prolongés de l'intensité ou de la composition spectrale est basée sur une modulation de la synthèse des composantes de l'antenne : les structures exposées aux faibles luminosités présentent des surfaces collectrices très importantes qui favorisent le piégeage des quelques photons disponibles ; à l'inverse, l'abondance de lumière favorise la réduction de la surface des antennes et, par conséquent, la réduction préférentielle de la synthèse en apoprotéines constituant la couronne externe des antennes.

4. LES CHAÎNES DE TRANSPORTEURS D'ÉLECTRONS DANS LA MEMBRANE THYLACOÏDE

Les modèles actuels du transport des électrons dans la membrane thylacoïde résultent de l'interprétation correcte du phénomène de "*red drop*" caractérisé par une diminution nettement plus importante du rendement photosynthétique par rapport à l'absorption aux longueurs d'onde supérieures à 700 nm. Sa suppression par des éclaircissements de longueurs d'onde plus courtes (680 nm) établissait non seulement l'existence de deux réactions photochimiques, mais aussi leur nécessaire interaction pour réaliser la photolyse de l'eau. Parallèlement, la mise en évidence d'un dégagement d'O₂ par une suspension de thylacoïdes éclairés en présence d'un oxydant ouvrait la voie à l'expérimentation directe sur organites isolés.

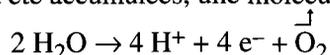
La détermination précise des potentiels redox de chaque intermédiaire de la chaîne de transport a permis l'élaboration du modèle dit du "schéma en Z", en raison de la disposition caractéristique que prennent les constituants membranaires sur une échelle de potentiels redox. Dans ce modèle, la séquence exacte des réactions et la topologie membranaire sont fixées par des paramètres thermodynamiques.

Les modèles actuels assimilent la membrane thylacoïde à une membrane de type mosaïque fluide, telle que l'ont définie Singer et Nicolson. Le caractère vectoriel du transfert des électrons et du flux de protons qui lui est couplé résulte de l'activité et de l'orientation de trois édifices protéiques transmembranaires : les deux photosystèmes et le cytochrome b₆f. Ils organisent l'activité des transporteurs qui diffusent dans la bicouche lipidique (plastoquinols) ou aux interfaces membranaires (ferredoxine et plastocyanine).

Pour des raisons de facilité, on distingue trois segments dans la chaîne de transporteurs d'électrons (figure 7.6).

4.1. De l'eau au centre réactionnel du PS_{II}, P₆₈₀⁺

Cette portion de chaîne est responsable de la photolyse de l'eau, elle fournit les électrons nécessaires au fonctionnement du PS_{II} en réduisant le donneur primaire associé à l'hétérodimère D₁/D₂. Après chaque photo-réaction, elle réduit D⁺. Lorsque quatre charges positives ont été accumulées, une molécule d'O₂ est libérée :



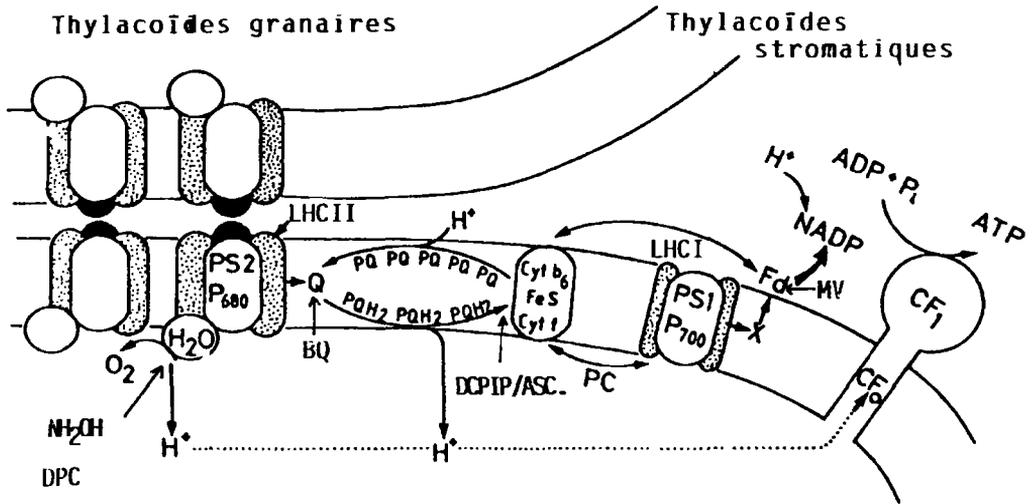


Figure 7.6. Illustration de l'asymétrie latérale et transversale des membranes thylacoïdes. L'activité des portions de la chaîne de transfert d'électrons peut être disséquée grâce au choix judicieux de couples oxydo-réducteurs. A titre d'exemple

- l'activité du photosystème II est mesurée, par polarographie, grâce au dégagement d'oxygène qui accompagne la réduction de l'accepteur artificiel benzoquinone (BQ).
- l'activité du centre réactionnel est quantifiée grâce aux réducteurs de P_{680}^+ que sont l'hydroxylamine ou le diphénylcarbazide (DPC).
- l'activité du photosystème I utilise les couples ascorbate (Asc)/dichlorophénolindophénol (DCPIP) comme donneurs d'électrons et le méthylviologène (MV) comme accepteur du PS_I .

La réaction de photolyse de l'eau nécessite la présence d'ions chlorure et manganèse ; elle a lieu dans un édifice protéique adsorbé à la surface interne de la membrane. Elle détermine l'acidification du lumen à raison de 1 H^+ libéré par électron transféré.

4.2. Le transfert d'électrons intersystème

Dans ce segment de chaîne, le transport "matériel" des électrons est réalisé par les **plastoquinols** et par une cuproprotéine, la **plastocyanine**. Ces deux intermédiaires diffusent respectivement dans la matrice lipidique de la membrane et à l'interface interne des thylacoïdes. Ils assurent la continuité redox entre le pôle réducteur des PS_{II} préférentiellement localisés dans les grana, et le pôle oxydant des PS_I situés dans les lamelles stromatiques.

L'activité de ces transporteurs "longue distance" est organisée par une plastoquinol-plastocyanine oxydoréductase, encore appelée cytochrome b_6f . Cette enzyme contient quatre groupes prosthétiques : deux cytochromes b_6 , un cytochrome f et un centre fer-soufre (Fe-S). Protéine enchâssée dans la membrane, elle présente, du côté interne, un site de fixation pour les plastoquinols (site p) et un site de fixation pour la plastocyanine et, du côté externe, elle présente un site à haute affinité pour les plastoquinones (site n).

Lorsque l'activité des deux photosystèmes est équilibrée, les électrons apportés au site p par un plastoquinol sont utilisés pour réduire deux plastocyanines. Celles-ci, par diffusion, atteignent les centres réactionnels du PS_I où elles réduisent P_{700}^+ . Au niveau du cytochrome b_6f , seul le centre Fe-S, puis le cytochrome f participent aux

réactions d'oxydoréduction, où un H^+ est libéré dans le lumen pour chaque électron transféré au PS_I . Dans certaines conditions, et notamment lorsque la demande en ATP est importante, une partie des électrons apportés par les plastoquinols empruntent une voie "latérale", constituée des deux cytochromes b_6 .

A l'état réduit, les deux cytochromes concourent à la réduction d'une molécule de plastoquinone fixée au site n du cytochrome b_6f . Après avoir prélevé deux protons, le plastoquinol formé diffuse vers le site photosynthétique où les électrons disponibles emprunteront soit la voie du centre Fe-S et du cytochrome f, soit la voie latérale des cytochromes b_6 . L'intérêt de cette boucle réside dans une stimulation de l'activité chimiosmotique des membranes thylacoïdes.

En empruntant la chaîne des cytochromes b_6 , chaque électron participe à l'acidification du lumen à raison de 2 H^+ libérés dans le lumen par électron délivré aux PS_I .

4.3. Le transport d'électrons du PS_I au $NADPH^+$

L'utilisation des électrons produits par les photo-réactions du PS_I est articulée sur une protéine, la ferredoxine, qui, à l'instar de la plastocyanine, diffuse à l'interface membranaire. La ferredoxine ne constitue toutefois pas l'accepteur primaire du PS_I , dont l'organisation précise reste encore inconnue aujourd'hui.

Lorsque la ferredoxine entre en contact avec la $NADP^+$ réductase, il y a production de $NADPH$, accepteur terminal du flux non cyclique (ou linéaire) d'électrons. Les électrons de la ferredoxine peuvent aussi être transférés au cytochrome b_6f et donner naissance à un flux cyclique d'électrons autour du PS_I .

De plus, la ferredoxine constitue le point de départ de réactions redox qui aboutissent à la réduction des nitrites, à l'activation des ATPases membranaires ou encore à l'activation de certaines enzymes du cycle de Calvin présentes dans le stroma.

5. LA SYNTHÈSE D'ATP : THÉORIE CHIMIOSMOTIQUE

La synthèse de l'adénosine triphosphate à partir d'adénosine diphosphate et de phosphore inorganique est réalisée par une enzyme membranaire, l'ATP synthase. Une fois activée, l'enzyme peut parfaitement utiliser des gradients protoniques créés artificiellement et synthétiser de l'ATP à l'obscurité.

Schématiquement, on y distingue deux parties. Une partie transmembranaire, appelée CF_0 , fonctionne comme un pore conduisant les protons à l'unité catalytique ou CF_1 . La fonction catalytique de l'enzyme ne s'exprime que suite à son activation par le $\Delta\mu_{H^+}$. Celle-ci implique la réduction de groupements SH par la ferredoxine et le déplacement de l'AMP situé au niveau des sites catalytiques.

Dans les membranes chimiosmotiques (chloroplastes, mitochondries, bactéries photosynthétiques), l'énergie nécessaire à la synthèse d'ATP est apportée par un gradient électrochimique de protons transmembranaires. Dans ces membranes, transferts d'électrons et flux de protons sont couplés, c'est-à-dire qu'ils ne peuvent se développer indépendamment l'un de l'autre : on constate expérimentalement que

lorsque le $\Delta\mu_{H^+}$ augmente, la vitesse du transfert d'électrons diminue, traduisant une "difficulté" croissante à accumuler des protons dans l'espace matriciel (mitochondries) ou dans le lumen (thylacoïde).

Différentes substances, tels les ionophores comme la gramicidine ou le NH_4Cl , sont appelées "découplants" parce qu'ils affectent la perméabilité passive aux protons et préviennent ou suppriment la formation d'un $\Delta\mu_{H^+}$. Dans ces conditions, on n'observe pas de rétroaction négative de $\Delta\mu_{H^+}$ sur le flux électronique, et la synthèse d'ATP est inhibée.

Dans les thylacoïdes, les modalités du couplage entre flux électronique et protonique ont été décrites dans le paragraphe précédent. Il convient toutefois de préciser que dans le cas des membranes thylacoïdes, l'apport de charges positives dans le lumen est compensé par des flux anioniques (influx) ou cationiques (efflux). La force électromotrice y est donc constituée par un gradient de pH généralement estimé à ≈ 3 unités.

6. LA PHOTO-INHIBITION

Le terme photo-inhibition recouvre un ensemble de situations paradoxales où la lumière, qui assure normalement la croissance de la plante, provoque des altérations irréversibles à l'appareil photosynthétique. Ces destructions photo-induites apparaissent lorsque les capacités d'absorption de la lumière sont supérieures aux capacités de son utilisation. Dans les situations réelles, cette condition est remplie lorsque l'activité photosynthétique est affectée par l'action de facteurs biotiques (virus, champignons,...) ou abiotiques (températures extrêmes, déficiences minérales, sécheresse,...).

L'importance agronomique de la photo-inhibition a été clairement établie par l'étude de la productivité d'espèces soumises à l'action conjointe de basses températures et d'un ensoleillement important. Dans ces conditions, les pertes de productivité ont été corrélées aux diminutions de rendement photosynthétique.

6.1. Mécanismes moléculaires de la photo-inhibition

Au niveau de la feuille, la *photo-inhibition se traduit essentiellement par une diminution des capacités photosynthétiques en lumière limitante*. Il est vite apparu que cette inhibition résultait d'une destruction sélective du PS_{II} et, plus précisément, d'une dénaturation de la protéine D_1 .

Une compréhension détaillée des bases moléculaires de la photo-inhibition a conduit à distinguer photo-inhibition de type oxydant et photo-inhibition de type réducteur.

Dans le **type oxydant**, la durée de vie prolongée de l'espèce P_{680}^+ , oxydant puissant, est à l'origine de la protéolyse de D_1 . Expérimentalement, on mesure une augmentation significative de la durée de vie de P_{680}^+ lors de fortes irradiations UV ou d'expositions à des températures inférieures à $0^\circ C$.

La photo-inhibition de **type réducteur** a pour origine un dysfonctionnement au niveau de l'accepteur Q_A . Celui-ci ne peut accepter l'électron de P_{680}^* et, par conséquent, la durée de vie de l'état excité du pigment piège augmente. Dans ces conditions, le retour à l'état fondamental passe par l'état triplet dont la désexcitation s'accompagne de la formation d' O_2 singulet, un oxydant très réactif capable d'altérer D_1 .

Dans tous les cas, la réactivation du centre réactionnel implique le remplacement de la protéine dénaturée. Le chloroplaste démontre une certaine autonomie dans le processus de réparation du centre réactionnel photo-inhibé. En effet, le centre réactionnel est capable de fragmenter D_1 et de préparer ainsi l'insertion d'une nouvelle protéine produite à partir de l'ADN chloroplastique.

6.2. Mécanismes de protection

Différentes données expérimentales et, notamment une variabilité génétique de la sensibilité à la photo-inhibition, démontrent l'existence de mécanismes protecteurs. Ceux-ci, encore mal connus, semblent toutefois être associés à une modification de l'organisation ou à la composition des systèmes collecteurs d'énergie.

En particulier, différents auteurs ont montré que les transitions d'état protégeaient de la photo-inhibition en réduisant la surface d'absorption des collecteurs du PS_{II} .

Une protection accrue a été associée à la présence dans les antennes de pigments caroténoïdes capables de dissiper très efficacement l'énergie d'excitation. D'une manière générale, ces mécanismes réduisent les flux d'énergie d'excitation destinés au PS_{II} .

7. LE MÉTABOLISME CARBONÉ

7.1. Le métabolisme C_3

Les travaux de Calvin et de ses collaborateurs ont permis d'élucider les réactions enzymatiques par lesquelles les plantes réalisent l'incorporation du CO_2 au niveau des hydrates de carbone.

En éclairant une algue verte unicellulaire (*Chlorella*) en présence de $^{14}CO_2$ radioactif pendant des temps de plus en plus courts et en séparant par chromatographie les composés marqués, ces chercheurs ont pu identifier le produit initial de la fixation du CO_2 : l'acide 3-phospho-D-glycérique (3-PGA), molécule à trois atomes de carbone. Ils constatent aussi que pour des expositions brèves, toute la radioactivité est portée par le premier carbone du PGA. Par contre, si l'on augmente la durée de l'exposition, la radioactivité apparaît également sur les carbones suivants de cette molécule. Les bases d'un processus cyclique régénérant le précurseur du PGA à partir de cette molécule elle-même sont ainsi établies.

Ce cycle de réaction, connu sous le nom de **cycle de Calvin**, se déroule dans le stroma du chloroplaste. Ce sont les composés à trois atomes de carbone qui sont à l'origine des appellations "plantes en C_3 ", "métabolisme en C_3 ".

ainsi formées, une sur six, est soit dirigée dans une voie métabolique qui conduit à la formation de l'amidon dans le stroma, soit transportée sous forme de DHAP, par l'intervention d'un translocateur localisé dans la membrane interne de l'enveloppe, vers le cytoplasme, où elle participe aux réactions de synthèse du saccharose.

- **La régénération de l'accepteur.** La phase de régénération du cycle est une séquence complexe d'interconversion de molécules de sucre de 3 à 7 carbones, formant trois molécules de ribulose-5-phosphate. Ces molécules sont finalement phosphorylées à partir de trois molécules d'ATP pour reformer trois Ru-1,5-BP.

Dans cette séquence complexe d'interconversion, certaines réactions sont réversibles, d'autres non. Les réactions réversibles sont catalysées par la transkétolase, l'aldolase, la ribulose-5-phosphate épimérase et la ribulose-5-phosphate isomérase. La fructose-1,6-biphosphatase, la sédoheptulose-1,7-biphosphatase et la phosphoribulokinase catalysent les réactions irréversibles.

- **Les enzymes du cycle de Calvin et leur régulation.** La régulation de l'activité des enzymes du cycle de Calvin s'effectue principalement au niveau des réactions impliquant les biphosphatases irréversibles, ainsi qu'au niveau des réactions faisant intervenir l'ATP et le NADPH. Cette régulation s'exerce via des mécanismes où interviennent la lumière, le pH et la teneur en Mg^{2+} du stroma.

L'activation lumineuse de certaines enzymes du cycle telles la glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, la fructose-1,6-biphosphatase, la sédoheptulose-1,7-biphosphatase et la phosphoribulokinase repose sur la modification de leur structure tertiaire suite à la réduction des ponts disulfures en groupes sulfhydryles. Les électrons impliqués dans cette réduction sont dérivés du flux électronique photosynthétique normal, à partir de la ferredoxine vers la thiorédoxine. Cette réaction est catalysée par une protéine soluble, la ferredoxinethiorédoxine réductase, dont la forme réduite est capable d'interagir avec les ponts disulfures des enzymes précités. On a également suggéré que certaines protéines membranaires pourraient activer des protéines disulfures par l'intermédiaire d'électrons dérivés du PS_I .

D'autres enzymes du cycle sont régulées par le pH et la concentration en Mg^{2+} du stroma. Au cours de la photosynthèse, un gradient de protons s'établit entre le stroma et les espaces intrathylacoïdiens. L'électroneutralité du système est maintenue par un efflux de Mg^{2+} vers le stroma. L'alcalinisation et les teneurs élevées en Mg^{2+} dans le stroma sont des conséquences directes des photo-réactions qui vont influencer directement l'activité de certains enzymes du cycle, comme la fructose-1,6-biphosphatase et la sédoheptulose-1,7-biphosphatase.

7.1.2. L'étape initiale du cycle catalysée par la RuBisCO

La RuBisCO est une enzyme fascinante. Sa fonction clé dans l'incorporation du dioxyde de carbone dans la biosphère, ses caractéristiques catalytiques particulières (la RuBisCO est une enzyme lente) en font la protéine la plus abondante dans la nature. Elle est constituée de huit unités comportant chacune une petite sous-unité codée par le génome nucléaire et une plus grosse codée dans le chloroplaste.

Il semble que l'activité enzymatique soit localisée aux grandes sous-unités, et les mécanismes de régulation aux petites. L'assemblage de l'holoenzyme a lieu au sein du chloroplaste.

L'activité catalytique d'une enzyme dépend, entre autres, de la concentration en substrat au niveau du site catalytique, et elle est maximale lorsque cette concentration est saturante. Il existe, pour un couple enzyme-substrat, une concentration caractéristique, le K_m , ou constante de Michaelis, à laquelle la vitesse de la réaction vaut exactement la moitié de la vitesse observée à saturation (V_{max}). Le K_m du couple RuBisCO-CO₂ est de l'ordre de 7 μM , et la concentration en CO₂ en phase aqueuse saturée en air de l'ordre de 10 μM .

Or, comme l'approvisionnement en CO₂ à partir de l'air ambiant s'effectue par diffusion au travers des stomates de la feuille, via les espaces intercellulaires, la paroi, la membrane et le cytoplasme des cellules du mésophylle jusqu'au chloroplaste, il est certain que la concentration en CO₂ au voisinage de la RuBisCO est de loin inférieure à 10 μM . La vitesse de carboxylation est, dans ces conditions, nettement inférieure à la vitesse à saturation.

Durant la photosynthèse, l'activité de la RuBisCO est modulée par des mécanismes impliquant le pH, CO₂ et Mg²⁺. A pH basique, la RuBisCO est carboxylée par une molécule de CO₂ au niveau d'un groupe Σ -amino d'un résidu lysine. Le CO₂, qui n'intervient pas dans la réaction de catalyse, fixe ensuite un ion Mg²⁺, activant ainsi l'enzyme. L'activation de la RuBisCO augmente considérablement la V_{max} de la réaction catalytique, ainsi que l'affinité de l'enzyme pour son substrat CO₂. On a tout raison de croire que cette activation est elle-même régulée par des protéines solubles, des RuBisCO activases.

En absence de lumière, la RuBisCO est inactivée par une substance phosphatée, le 2-carboxyarabinitol-1-phosphate, un analogue proche de l'intermédiaire issu de la réaction de carboxylation et qui se fixe au site catalytique.

La fonction oxygénase de la RuBisCO. La RuBisCO est une enzyme bifonctionnelle. Cette carboxylase qui réalise le couplage du CO₂ au Ru-1,5-BP, catalyse également une réaction compétitive dans laquelle le Ru-1,5-BP réagit avec l'oxygène. L'oxygénation du Ru-1,5-BP entraîne la formation de deux molécules différentes : le PGA, d'une part, et l'acide phosphoglycolique, molécule à deux atomes de carbone, d'autre part. Ce dernier composé est rapidement dégradé par une voie en C₂, au cours de laquelle environ 25 % du carbone contenu dans l'acide phosphoglycolique est dégagé sous forme de CO₂. Ainsi, cet ensemble de réactions, se manifestant par une incorporation d'oxygène et un dégagement de CO₂, est appelé **photorespiration**.

L'intensité de la photorespiration dépend en premier lieu de la concentration en oxygène moléculaire au niveau du site catalytique de la RuBisCO. Chez les plantes C₃, le rapport des concentrations en CO₂ et en O₂ est tel que les deux réactions de carboxylation et d'oxygénation du Ru-1,5-BP se déroulent simultanément. Comme ces deux substrats réagissent avec la RuBisCO en un même site catalytique, l'interaction entre CO₂ et O₂ est de type compétitif. Toute modification de la concentration de l'un des deux gaz dans l'environnement d'une plante, modifie les vitesses relatives de ces deux activités antagonistes. Ainsi, dans une atmosphère appauvrie en oxygène (2 %), la fixation photosynthétique du CO₂ est deux fois plus importante que dans les conditions atmosphériques normales. L'effet de l'oxygène peut aussi être atténué par un enrichissement de l'atmosphère en gaz carbonique.

Dans les conditions atmosphériques normales, pour quatre molécules de Ru-1,5-BP consommées, une est oxygénée. L'énergie requise pour recycler le CO₂ formé est dérivée des étapes photochimiques de la photosynthèse.

7.1.3. La photorespiration

La photorespiration est une **cause majeure de la perte d'efficacité photosynthétique chez les plantes en C₃**. Elle peut, selon les espèces, entraîner des chutes de rendement photosynthétique de 30 à 50 %.

La photorespiration se déroule dans trois organites cellulaires : le chloroplaste, le peroxyosome et la mitochondrie. La première réaction se déroule dans le chloroplaste et entraîne la déphosphorylation du phosphoglycolate par une phosphatase spécifique. Le glycolate formé est transféré dans le peroxyosome où cette molécule est oxydée par une glycolate oxydase en glyoxylate.

Le peroxyde d'hydrogène relâché durant cette réaction est rapidement converti en O₂ et H₂O par la catalase, enzyme très abondante dans le peroxyosome. Le glyoxylate est alors transaminé en glycine par une transaminase spécifique à partir du glutamate ou de la sérine. La glycine passe dans la mitochondrie.

Là, deux molécules de glycine donnent un autre acide aminé, la sérine, en perdant une molécule d'ammoniac (NH₃) et une molécule de gaz carbonique. Ces deux produits gazeux doivent être recyclés très rapidement par les cellules foliaires, faute de quoi ils diffusent vers l'atmosphère où ils sont perdus pour le métabolisme.

L'ammoniac est normalement réinjecté dans le métabolisme cellulaire avec une grande efficacité au niveau de la glutamine synthétase en présence d'ATP. Il faut savoir que la vitesse de désamination de la glycine dans la mitochondrie est 10 à 50 fois plus élevée que la vitesse d'assimilation de l'azote par la plante. Toute perte, même minime, de l'efficacité de cette récupération diminuerait considérablement la quantité d'azote utilisable par la plante et, par là, affecterait de manière significative le rendement de la culture. La sérine réintègre le peroxyosome où elle intervient dans la transamination des molécules de glyoxylate nouvellement arrivées. La transamination du glyoxylate à partir de la sérine entraîne la formation d'hydroxypyruvate rapidement réduit en glycérate. Cette dernière molécule est finalement exportée vers le chloroplaste en échange avec le glycolate, où elle est phosphorylée en 3-PGA, forme sous laquelle elle réintègre le cycle de Calvin.

Signification de la photorespiration. La photorespiration est souvent considérée comme un gaspillage métabolique, conséquence de l'activité oxygénase de la Ru-BisCO. Qu'une *seule* réaction enzymatique réduise de moitié la production photosynthétique *mondiale* est assez stupéfiant et démontre une fois de plus que l'efficacité de la photosynthèse est à la fois remarquablement simple et fantastiquement complexe.

Contrôler la photorespiration pourrait, semble-t-il, avoir des conséquences pratiques considérables sur l'efficacité de la photosynthèse des plantes cultivées. Si l'on parvenait à réduire, par voie génétique par exemple, l'activité oxygénase de la RuBisCO, sans affecter son activité carboxylase, on obtiendrait des plantes associant un haut rendement photosynthétique à une productivité élevée.

Sur la base des travaux et des connaissances actuelles, il est assez difficile de justifier une telle attitude scientifique.

En fait, en recyclant, sous forme d'acides aminés comme la sérine, trois quarts du carbone perdu par la formation du phosphoglycolate, elle en atténue fortement les

effets pervers. L'activité oxygénase de la RuBisCO, en maintenant la teneur en CO_2 dans le stroma à des valeurs proches du point de compensation, pourrait, en assurant un écoulement des électrons, minimiser les dommages de la photo-inhibition au niveau du PS_{II} . En effet, il existe de nombreuses situations où la quantité d'accepteurs naturels d'électrons est insuffisante pour assurer l'écoulement normal des électrons issus des réactions photochimiques et qui, de ce fait, sensibilisent les plantes à la photo-inhibition. Ainsi par exemple, la diffusion du CO_2 de l'air jusqu'au stroma du chloroplaste est fréquemment limitée par une augmentation de la résistance du trajet stromatique due à des situations de stress (manque d'eau, hautes températures, haut niveau d'irradiance...).

7.2. Le métabolisme C_4

En concentrant le CO_2 , la voie métabolique en C_4 atténue l'activité oxygénase de la RuBisCO et limite la photorespiration.

Chez certaines plantes d'origine tropicale, la fonction oxygénase de la RuBisCO est fortement atténuée par la mise en œuvre de voies métaboliques particulières concentrant le CO_2 au niveau du site d'action de la RuBisCO.

Ce sont des chercheurs australiens, M.D. Hatch et C.R. Slack qui, en 1960, ont montré que ces plantes effectuent une double carboxylation. La première permet la fixation du CO_2 sur une molécule à trois carbones, le phosphoénolpyruvate (PEPA) et forme une molécule tétracarbonée, d'où le nom de ces plantes. Ultérieurement, cette molécule est décarboxylée. La molécule de CO_2 récupérée participe à la seconde carboxylation et, grâce à l'intervention d'une RuBisCO, est introduite dans le cycle de Calvin.

Cette biochimie complexe est associée à des structures foliaires particulières. Chez les plantes C_4 , les feuilles possèdent deux types de cellules chlorophylliennes disposées en couronnes concentriques autour des vaisseaux conducteurs. Les cellules externes participent à la première carboxylation. Elles possèdent des chloroplastes granaires capables d'effectuer toutes les étapes photochimiques de la photosynthèse, y compris la production d'oxygène, mais incapables de réaliser la fixation du CO_2 via le cycle de Calvin par manque de RuBisCO.

Les chloroplastes des cellules de la couronne interne, ou gaine périvasculaire, réalisent le cycle de Calvin complet. Ils sont dotés du Ru-1,5-BP et de la RuBisCO et fonctionnent comme les chloroplastes des plantes C_3 . Chez le maïs, cependant, ils sont déficients en grana et donc incapables de produire de l'oxygène (chloroplastes agraires).

Un schéma simplifié des voies métaboliques C_4 est illustré par la figure 7.8. Il est important de noter les différences importantes associées à l'usage relatif du malate et de l'aspartate, comme éléments de communication entre les deux types de cellules et dépendants des spécificités de l'enzyme de décarboxylation des cellules de la gaine.

La phosphoénolpyruvate carboxylase (PEPase) est une enzyme très efficace et très rapide. Cette enzyme cytoplasmique possède une très grande affinité pour son substrat, HCO_3^- en équilibre avec CO_2 . Elle est aussi insensible à la présence d'oxygène. Ces propriétés font que la concentration en CO_2 dans la cellule de la couronne externe est très basse, créant ainsi un important gradient de concentration

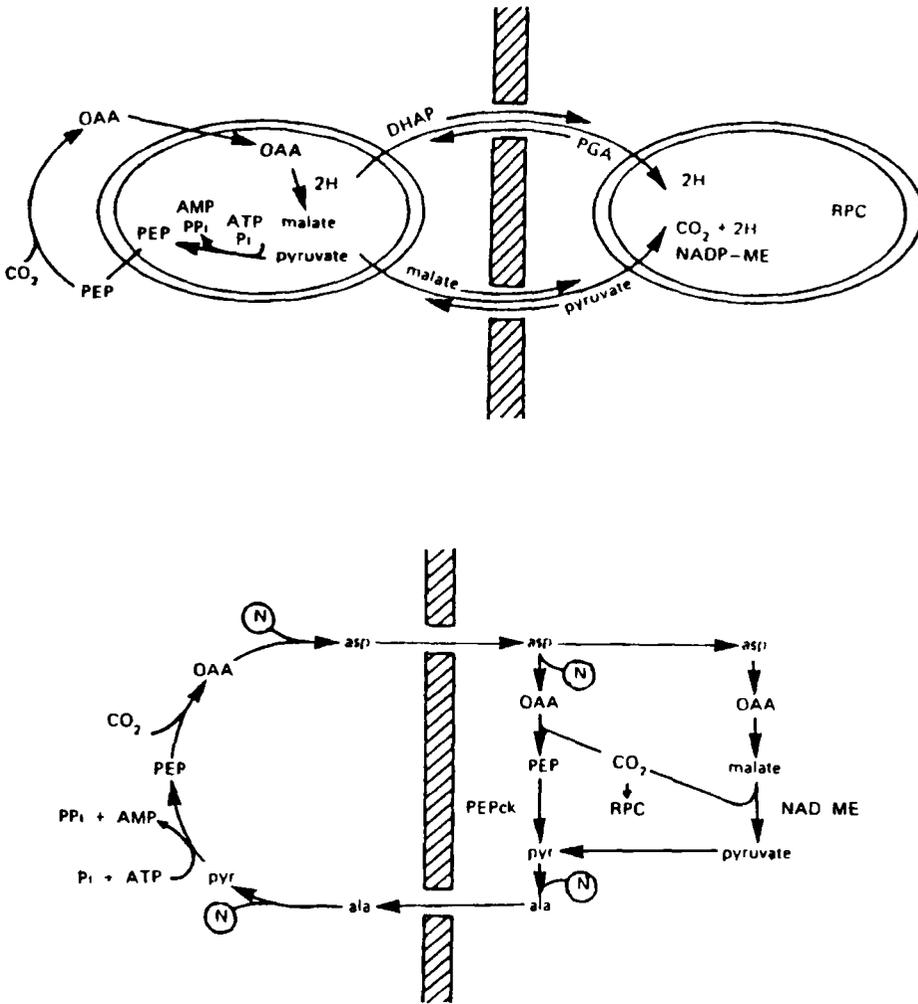


Figure 7.8. Le métabolisme C₄.

Les cellules du mésophylle (à gauche) assurent la conversion du pyruvate en phosphoénolpyruvate (PEP) dans le chloroplaste, et la carboxylation du PEP en acide oxaloacétique (OAA) dans le cytoplasme. Dans le type (a), l'OAA retourne au chloroplaste où il est réduit en malate, acheminé aux cellules de la gaine périvasculaire. Il est décarboxylé par l'enzyme malique NADP-dépendante. Les chloroplastes de type (a) acheminent également des équivalents réduits aux cellules de la gaine périvasculaire par le biais de la navette DHPA/PGA (voir figure 7 10) Les chloroplastes mésophylliens de type (b) et (c) transaminent l'OAA en aspartate (asp) dans le cytosol, et l'envoient vers les cellules de la gaine périvasculaire en échange d'alanine (ala). Les cellules de la gaine périvasculaire de type (b) décarboxylent l'OAA par le biais de la PEP-carboxykinase cytosolique (PEPCK), alors que celles de type (c) convertissent l'OAA en malate dans la mitochondrie, décarboxylé ensuite par l'enzyme malique NAD-dépendante. Les plasmodesmes sont indiqués dans la paroi cellulaire.

entre l'atmosphère et le cytoplasme des cellules. Des traces de CO₂ suffisent à cette première carboxylation. Dans les cellules de la gaine périvasculaire, le CO₂ atteint des concentrations très élevées, jusqu'à 50 fois supérieures à celles qui résulteraient d'un simple équilibre avec l'air extérieur, et suffisantes pour saturer les capacités de carboxylation de la RuBisCO de ces cellules.

Dans ces conditions, la fonction oxygénase est particulièrement atténuée et la photorespiration réduite. Cette situation est encore renforcée chez le maïs par l'absence de production d'oxygène par les chloroplastes de la gaine périvasculaire.

Les espèces en C_4 sont nombreuses chez les roseaux, les papyrus, les amarantes, les composées et les graminées où l'on compte plus de six cents représentants en C_4 . Certaines, originaires des pays chauds, sont connues pour leurs rendements exceptionnels : le maïs, la canne à sucre, le sorgho et le mil. La plupart de ces espèces expriment pleinement leurs potentialités physiologiques dans les conditions écologiques des régions tropicales sèches : forte lumière, température élevée et faible humidité.

7.3. Le métabolisme CAM

Les plantes crassulantes, fréquemment trouvées dans les zones désertiques, ont la particularité de fermer leurs stomates le jour, lorsque la demande évaporative est grande, et de les maintenir ouverts la nuit en conditions de faible transpiration.

Ces plantes CAM utilisent les mêmes réactions biochimiques que les C_4 pour fixer la nuit le CO_2 sous forme d'acides organiques tétracarbonés qui s'accumulent dans les vacuoles. Le jour, les acides sont décarboxylés et le CO_2 récupéré est incorporé dans le cycle de Calvin suivant le schéma illustré par la figure 7.9. En séparant dans le temps les deux réactions de carboxylation, les plantes CAM réalisent une absorption de CO_2 sans importante perte d'eau, ce qui leur confère un avantage écologique certain.

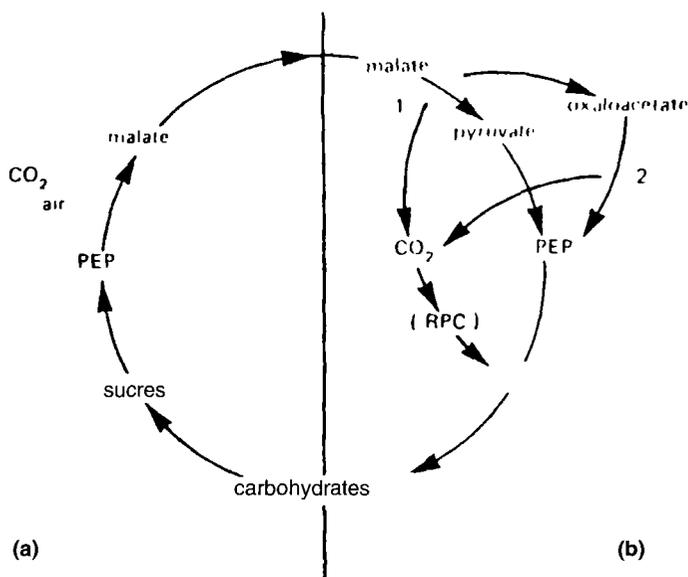


Figure 7.9. Le métabolisme CAM.

(a) Fixation nocturne du dioxyde de carbone en acides tétracarbonés.

(b) Dégagement diurne du dioxyde de carbone par le biais soit (1) de la PEP-carboxykinase, soit (2) de l'enzyme malique NADP-dépendante. Le dioxyde de carbone est fixé par la voie normale du cycle de réduction des pentoses (RPC)

7.4. Les échanges stroma-cytoplasme

L'enveloppe du chloroplaste exerce un contrôle strict des mouvements de nombreuses molécules entre le stroma et le cytoplasme. L'enveloppe est pratiquement imperméable à la plupart des intermédiaires du cycle de Calvin et aux produits de

l'activité photochimique, ATP et NADPH₂. A l'inverse, l'enveloppe est perméable aux molécules non chargées de faible poids moléculaire, comme l'eau, l'oxygène et le CO₂.

Enfin, l'enveloppe contrôle efficacement le passage de certaines molécules du stroma comme le GAP (ou son isomère, le DHAP), le glutamate et le malate, par l'intermédiaire de translocateurs localisés dans la membrane interne de l'enveloppe. La figure 7.10 illustre l'intervention de ces translocateurs. Il faut remarquer que l'acide oxaloacétique (OAA) n'est pas un substrat transportable en raison de sa très faible concentration dans le stroma. Les molécules de GAP exportées jouent un rôle essentiel dans l'économie carbonée de la cellule. Dans le cytoplasme, elles sont notamment transformées en saccharose. Dans ce cas, le translocateur permet au stroma de récupérer le phosphate extrait des molécules de GAP, phosphate indispensable à la synthèse d'ATP et à la phosphorylation des intermédiaires du cycle de Calvin.

Certaines plantes possèdent une capacité de synthèse particulièrement élevée. C'est le cas de la betterave sucrière. Chaque mètre carré de surface foliaire déverse dans

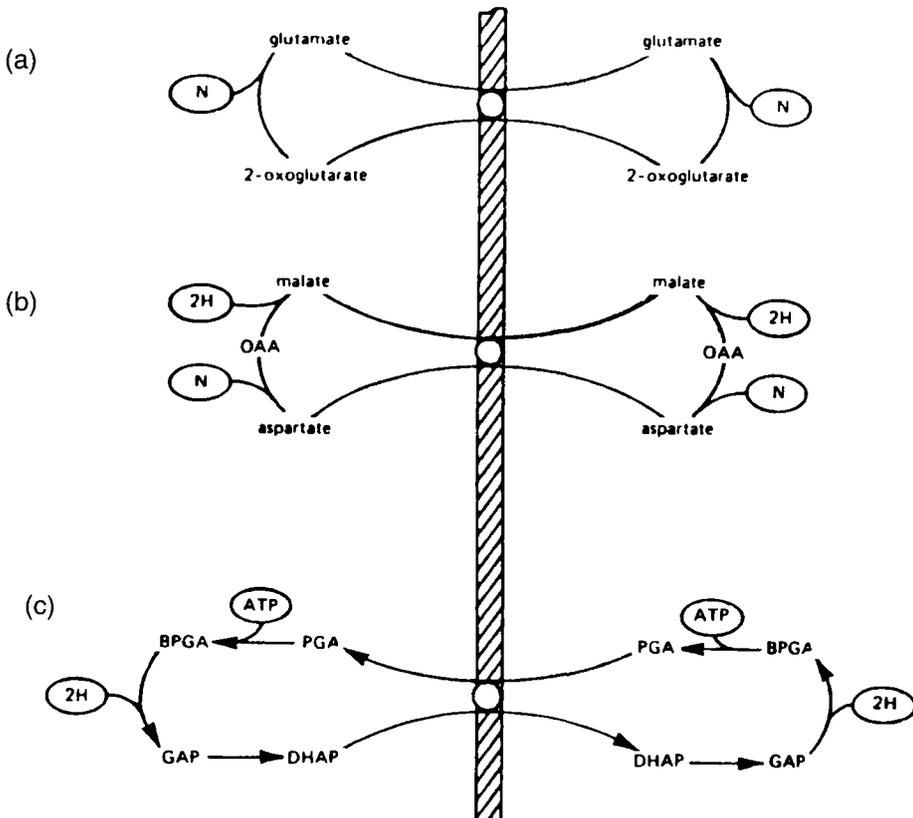


Figure 7.10. Les échanges stroma-cytosol.

Le schéma (a) représente le transporteur de dicarboxylate par le biais d'une navette assurant le passage d'amines à travers l'enveloppe du chloroplaste. La navette est bidirectionnelle, soit en mode exportation de glutamate, soit en association avec d'autres navette (voir figure 7.8). N représente les groupements aminés.

Le schéma (b) représente également le transport de dicarboxylates, associé aux transports opposés d'une part d'équivalents réduits (2H, par le biais du NADP vers le chloroplaste, du NAD vers le cytosol) et, d'autre part, de groupement aminés.

Le schéma (c) représente le translocateur de phosphate échangeant DHAP et PGA, ce qui résulte en un transport effectif de l'ATP et de (2H) hors chloroplaste. Si (a), (b) et (c) fonctionnent simultanément, l'ATP est transporté sans gains ni pertes.

les vaisseaux conducteurs environ 130 mg de saccharose à la minute. Une partie des molécules de GAP n'est pas exportée et participe à la synthèse d'amidon dans le stroma. Ce haut polymère du glucose n'entraîne pas d'élévation de la pression osmotique du stroma et peut s'y accumuler sans danger de rupture du chloroplaste par appel d'eau.

8. PHOTOSYNTHÈSE ET RÉSISTANCES À LA DIFFUSION

La photosynthèse implique des échanges gazeux (CO_2 et O_2) entre la plante et l'atmosphère. L'étude de ceux-ci permet de mieux cerner les limitations de la photosynthèse intégrées au niveau de la feuille entière.

8.1. Photosynthèse, diffusion du CO_2 , analogie électrique

L'assimilation du CO_2 se fait au niveau des molécules de RUBP-carboxylase dans le stroma des chloroplastes. Elle crée localement une baisse de diminution de la concentration en CO_2 et un gradient de concentration entre l'air extérieur, les espaces intercellulaires et les sites de fixation de CO_2 .

Le flux de CO_2 le long de ce gradient correspond à une diffusion pouvant se décrire par la **première loi de Fick** :

$$A = -D_{\text{CO}_2} \frac{\delta c}{\delta x} \quad (3)$$

avec A le flux de CO_2 par unité de surface (taux de photosynthèse nette ou densité de flux net de CO_2) ;

D_{CO_2} le coefficient de diffusion pour le CO_2 ;

c la concentration en CO_2 ;

$\delta c/\delta x$ le gradient de concentration.

Dans le cas des plantes en C_4 , cela s'appliquera plutôt au flux entre l'air et les premières carboxylations (par la PEP-carboxylase, dans le mésophylle).

Cette équation est le plus souvent réécrite sous forme analogue à celle de la loi d'Ohm :

$$A = \frac{1}{r} c = gc \quad (4)$$

avec r la résistance à la diffusion du CO_2 ;

$g = 1/r$ la conductance correspondante.

Le flux de CO_2 est ainsi traité de la même manière qu'un courant électrique passant à travers une (des) résistance(s) sous l'action d'une différence de potentiel (ici, une différence de concentration). On utilise alors les règles relatives aux circuits électriques (résistances en séries, résistances en parallèle, etc.) dans le cas du flux de CO_2 (figure 7.11).

Traditionnellement, les résistances devraient s'exprimer en $\text{s}\cdot\text{cm}^{-1}$ et les conductances en $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ ou, plus récemment, pour respecter le système international, en

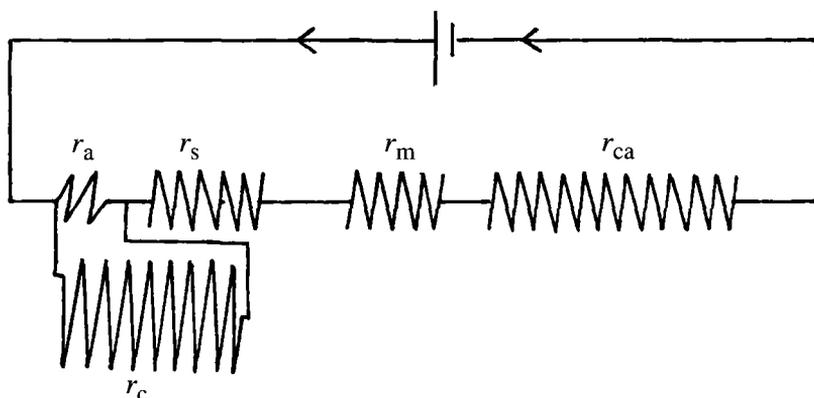


Figure 7.11. Analogie du circuit électrique.

r_a , r_s , r_m , r_{ca} , r_c : résistance de la couche limite, des stomates, du mésophylle, de carboxylation et de la cuticule (respectivement). La différence de potentiel au niveau de la "batterie" est la différence entre C_a et Γ (concentration en CO_2 dans l'air extérieur et point de compensation en CO_2)

$\text{s}\cdot\text{m}^{-1}$ et $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$; les concentrations s'exprimeraient par unité de volume (par exemple, $\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}$). Afin de rendre l'expression des conductances et résistances plus indépendantes de la pression et de la température, on préfère actuellement exprimer les concentrations (c) en fractions molaires (N , nombre sans dimensions) ou en fractions volumiques (ppm par volume = fraction molaire $\times 10^6$). C'est aussi le choix que nous avons fait dans ce texte.

Dans ce cas, les conductances s'expriment dans les mêmes unités que les densités de flux, c'est-à-dire en $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. La nouvelle expression de g correspond à l'ancienne expression, multipliée par P/RT , avec :

- P la pression atmosphérique ;
- R la constante des gaz parfaits ;
- T la température absolue.

(A 1 atmosphère et $20\text{ }^\circ\text{C}$: $P/RT = 41,6\text{ mol}\cdot\text{m}^{-3}$, c'est-à-dire qu'une conductance de $10^{-3}\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ correspond à $41,6\text{ mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.)

8.2. Diffusion du CO_2 en phase gazeuse, concentration en CO_2 des espaces intercellulaires

La première partie du cheminement du CO_2 vers les sites d'assimilation se fait sous forme gazeuse. Les étapes et résistances successives rencontrées correspondent à la couche limite, les stomates (antichambre, pore, cavité sous-stomatique), les espaces intercellulaires et la partie non remplie d'eau des microcapillaires dans les parois cellulaires du mésophylle.

Le cheminement en phase gazeuse au-delà des cavités sous-stomatiques est très court et ne rencontrerait que peu de résistance. C'est ainsi que la résistance foliaire sera considérée habituellement comme constituée essentiellement de la résistance de la couche limite r_a , et de résistance stomatique r_s , ces deux résistances étant en série. La résistance très élevée de la cuticule, résistance en parallèle avec les précitées, n'a habituellement qu'un rôle négligeable sur le flux et est le plus souvent ignorée. On a ainsi :

$$A = \frac{(C_a - C_i)}{(r_a + r_s)} = g (C_a - C_i) \quad (5)$$

avec g la résistance foliaire aux échanges de CO_2 ;

C_a et C_i la fraction molaire partielle du CO_2 dans l'air extérieur et dans les espaces intercellulaires, respectivement.

Les résistances r_a et r_s font que $C_i < C_a$, mais C_i est également influencé par l'efficacité des carboxylations (courbe de A en fonction de C_i). C'est ainsi que pour les plantes C_4 , C_i sera, en condition optimale, deux fois moindre que chez les plantes en C_3 (par exemple 150 ppm contre 270 ppm).

La conductance stomatique varie évidemment avec le degré d'ouverture des stomates, contrôlé par la plante. La résistance de la couche limite varie avec la vitesse et la direction du vent, la forme et les dimensions de la feuille, la présence de villosités, pilosité, etc. Rappelons que la couche limite est la couche d'air en étroit contact avec la feuille, et de ce fait soumise à des forces de cisaillement (le flux est nul, puis laminaire, puis de plus en plus turbulent au fur et à mesure qu'on s'éloigne de la feuille).

A partir de mesures de A (par exemple, méthode des chambres d'assimilation et analyseur à infrarouges) et de g (par exemple par porométrie), on peut calculer C_i :

$$C_i = C_a - \frac{A}{g} \quad (6)$$

La détermination de C_i est essentielle pour comprendre l'évolution de la photosynthèse en fonction des facteurs du milieu (importance de la courbe de A en fonction de C_i).

Cette partie du parcours du CO_2 est également suivie (mais en sens inverse) par la vapeur d'eau (transpiration). En fait, les mesures de g obtenues sont habituellement celles relatives à la vapeur d'eau ; les molécules d'eau n'ayant pas la même taille et les mêmes coefficients de diffusion que celles de CO_2 , on notera que :

$$g = \frac{g_{\text{H}_2\text{O}}}{1,61}$$

Pour être tout à fait rigoureux, on doit toutefois noter que dans la couche limite intervient une part de diffusion turbulente et $r_a = 1,37 r_{a,\text{H}_2\text{O}}$ (la correction n'est pas de 1,61 comme pour les stomates, où $r_s = 1,61 r_{s,\text{H}_2\text{O}}$) ; d'autre part, le gradient de pression dû au flux transpiratoire provoque un flux de masse entraînant des molécules de CO_2 et l'équation exacte est en fait :

$$A = (C_a - C_i)g - \frac{E}{2}(C_a + C_i) \quad (7)$$

avec E , le flux transpiratoire.

8.3. Diffusion en phase liquide, résistance du mésophylle

Pour continuer son cheminement vers les sites de carboxylation, le CO_2 doit encore passer différents obstacles : la partie remplie d'eau des microcapillaires des parois du mésophylle, le plasmalemmes, le cytosol, les membranes chloroplastiques et enfin le stroma. Il s'agit d'une diffusion en phase liquide. Elle peut être compliquée par des interconversions CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-} et la possibilité de processus actifs à certains endroits.

L'ensemble de ces résistances à la diffusion en phase liquide forme ce qu'on appelle la résistance du mésophylle proprement dite (r_m). Si C_c est la fraction molaire du CO_2 à l'intérieur des chloroplastes, on a :

$$A = \frac{(C_i - C_c)}{r_m}$$

et donc :

$$C_c = C_i - Ar_m \quad (8)$$

Regroupant cette partie du cheminement avec la partie précédente, et notant que les résistances sont en série, on a aussi :

$$A = \frac{(C_a - C_c)}{(r_a + r_s + r_m)} \quad (9)$$

La résistance du mésophylle (r_m) a été l'objet de pas mal de controverses. Les estimations de ces composantes varient beaucoup selon les auteurs, ainsi que l'évaluation globale de son importance comme facteur limitant la photosynthèse. On tend plutôt à considérer aujourd'hui que r_m est faible et donc que C_c est très proche de C_i .

Une autre source de problème et de confusion provient de ce que divers auteurs ont inclus dans r_m des résistances de carboxylation. Il s'agit alors de la résistance du mésophylle, au sens large, ou résistance résiduelle, c'est-à-dire résistance de tout ce qu'il y a au-delà de la couche limite et des stomates. Cette manière de procéder n'est pas recommandable (voir ci-dessous).

8.4. "Résistances" de carboxylation, une pratique discutable

En principe, une fois l'intérieur des chloroplastes atteint, le cheminement par diffusion est terminé. Certains auteurs ont toutefois voulu inclure dans le "circuit" les réactions enzymatiques de carboxylation. Celles-ci répondent approximativement à une cinétique de type Michaelis-Menten, et la courbe de réponse de A à C_c , ou pratiquement à C_i , comporte une première partie linéaire, suivie d'une partie curvilinéaire. Dans la première partie (linéaire) on aurait :

$$A = k(P_c - \Gamma) \quad (10)$$

avec k la partie de la droite correspondant à l'efficacité de la carboxylation ;

P_c la pression partielle de CO_2 au niveau de la carboxylase ;

Γ le point de compensation pour le CO_2 .

Chez les plantes en C_3 , le point de compensation pour le CO_2 correspond à 40-100 ppm (ou $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$), valeur variant avec la température et l'irradiance photosynthétique. Chez les plantes en C_4 , il est de 3 à 10 ppm (chiffres à multiplier par 10^{-6} pour obtenir C_c correspondant).

Dans le cas des plantes en C_4 , on remarquera toutefois que l'équation (10) impliquant Γ s'applique à la première carboxylation (pour la PEP-carboxylase, dans le mésophylle), il en est de même de C_c (proche de C_i).

Chez les plantes en C_4 , il y a ensuite transfert actif (contre le gradient de CO_2) vers les chloroplastes de la gaine périfasciculaire et deuxième carboxylation, au niveau

de la RUDP-carboxylase cette fois. A ce niveau (que nous noterons C_{c2}), C_c est de l'ordre de 500 à 1 200 ppm, c'est-à-dire à des valeurs proches de la saturation (alors que chez les C_3 , on n'est qu'à environ la moitié de cette valeur). Cette partie supplémentaire du circuit n'est souvent pas considérée de façon explicite dans les modèles. Son effet est toutefois pris en compte par son action sur l'efficacité globale des carboxylations (pente de la courbe de réponse de A à $C_i \approx C_c$) ; remarquons au passage que C_i tend à être moins élevé chez les plantes en C_4 , suite à l'efficacité plus élevée de la photosynthèse.

L'équation (10) peut se réécrire :

$$A = kP (C_c - C_0) \quad (11)$$

où C_0 est la fraction molaire partielle correspondant à Γ et P la pression atmosphérique.

Bien qu'il n'y ait aucune analogie réelle entre réaction enzymatique et diffusion, cette équation peut être traitée de la même manière que celle décrivant les étapes précédentes, c'est-à-dire en considérant kP comme une conductance, ou $(kP)^{-1}$ comme résistance de "carboxylation" r_{ca} , ou, plus largement encore, résistance biochimique (bien que cela puisse regrouper toutes les réactions de la photosynthèse, phase sombre et phase claire). On a ainsi :

$$A = \frac{C_c - C_0}{r_{ca}} \quad (12)$$

et, en regroupant r_{ca} avec les résistances précédentes,

$$A = \frac{C_c - C_0}{r_m + r_{ca}} \quad (13)$$

et

$$A = \frac{C_a - C_0}{r_a + r_s + r_m + r_{ca}} \quad (14)$$

Comme signalé plus haut, r_m et r_{ca} sont parfois regroupées sous la dénomination de résistance résiduelle (correspondant à $r_m + r_{ca}$), ou même de résistance du mésophylle (d'où source de confusion).

Pour donner un exemple d'ordre de grandeur de plante en C_3 , on aurait, avec une résistance totale de $4,5 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$, $r_a + r_s = 1 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$, $r_m + r_{ca} = 3,50 \text{ s}\cdot\text{cm}^{-1}$ et 70 % de cette dernière somme représentés par r_{ca} . La pente initiale (partie linéaire) de la courbe de A en fonction de C_i permet de calculer $r_m + r_{ca}$ (donné par l'inverse de la pente ; équation (13)). Les variations de C_i sont obtenues en faisant varier C_a .

Chez les plantes en C_4 , la résistance de carboxylation est plus faible, suite à la double carboxylation qui permet de limiter la photorespiration (l'effet des deux carboxylations est en principe intégré dans r_{ca}).

L'introduction de la notion de résistance de carboxylation, et l'utilisation des équations (12) à (14), est loin de faire l'unanimité. Ces équations ne sont applicables que dans la partie linéaire de la réponse de A à C_i (ou à C_a) ; or, dans la plupart des situations, on se trouve au-delà. De plus, elles ne tiennent pas compte des effets du milieu, et de l'état de la plante, sur la courbe de réponse de A à C_i , et plus particulièrement sur sa partie non linéaire.

Les conditions de stress affectent la transpiration, ce qui change le statut hydrique de la feuille, la température foliaire, et donc la courbe de réponse de A à C_i ; il y a en plus l'effet d'entraînement de certaines molécules de CO_2 par le flux de masse transpiratoire, etc. Il n'y a donc pas que l'effet direct dû à r_s lui-même. Si on ne tient pas compte de cela, on surestime le contrôle de la photosynthèse par les stomates (il n'est simplement pas donné pour le rapport entre r_s et la résistance totale, comme pourrait le faire croire l'équation (4)). D'ailleurs, la courbe de A en fonction de C_i , est asymptotique et, quand A approche la saturation, A est indépendant de r_s .

En fait, contrairement à une opinion répandue, il s'avère que la réduction de la conductance stomatique serait rarement la cause principale d'une réduction de l'assimilation (alors qu'elle affecte fortement la transpiration). Les stomates semblent fonctionner plus pour limiter les pertes d'eau que pour réduire l'assimilation.

Il s'avère également non correct d'affirmer que, puisque chez les plantes en C_4 les résistances de carboxylation sont plus faibles que chez les C_3 , le rôle des stomates dans la régulation de la photosynthèse serait plus important (r_s représente une fraction plus importante de la résistance totale). En effet, il faut aussi tenir compte de la courbe de A en fonction de C_i qui s'infléchit beaucoup plus vite chez les plantes en C_3 , ce qui fait que l'importance relative de r_s n'est pas moins élevée !

Dans le même ordre d'idées, les valeurs plus faibles de C_i chez les plantes en C_4 ne semblent pas dues à une résistance stomatique plus élevée, mais plutôt à une efficacité plus grande des carboxylations (courbe de A en fonction de C_i).

8.5. Courbe de demande et courbe d'offre du CO_2

Plutôt que de vouloir définir les résistances de carboxylation, il vaut mieux tenir compte de la courbe de réponse de A à C_i (dans son intégralité, partie non linéaire comprise).

Celle-ci peut être considérée comme la courbe de demande de CO_2 par la plante (pour atteindre une valeur donnée de A). Il y a, d'autre part, les contraintes liées aux résistances de diffusions et à la concentration de CO_2 de l'air extérieur (C_a) ; celles-ci sont exprimées par la droite correspondant à l'équation (5). Cette droite peut être considérée comme décrivant la courbe (droite) d'offre du CO_2 (sa pente dépend de r_s).

La valeur de A obtenue dans des conditions données est celle qui correspond à l'interception des deux courbes. Or A est influencé à la fois par les effets du milieu, de l'espèce, etc. sur la courbe de demande et par ceux affectant l'offre (c'est-à-dire essentiellement r_s). C'est la base d'une étude graphique de la limitation imposée par les stomates à la photosynthèse (figure 7.12) : remarquons qu'on a proposé une estimation de la limitation de la photosynthèse par les stomates par $1 - A/A_0$, avec A_0 égal à la valeur de A pour $C_i = C_a$, obtenue par extrapolation de la courbe de demande. Elle n'est pas parfaite, car les effets de la couche limite sont inclus (surestimation de l'effet de r_s) et ne tient pas compte des effets de la transpiration sur A .

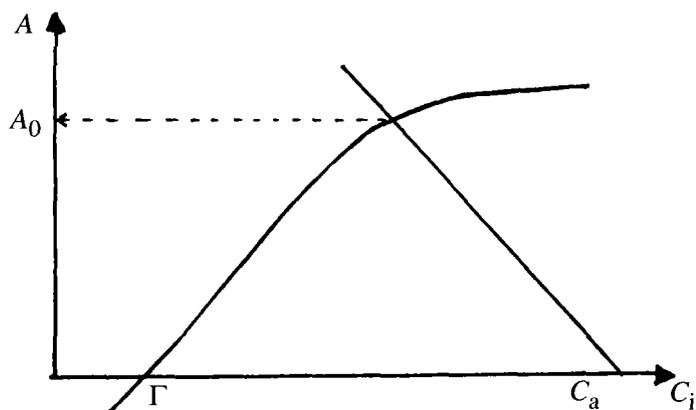


Figure 7.12. Taux de photosynthèse nette (A) en fonction de la fraction molaire partielle de CO_2 dans les espaces intercellulaires (C_i).

Γ point de compensation, C_a fraction molaire partielle de CO_2 dans l'air ambiant.

Source adapté de Farquhar G.D et Sharkey T.D. (1982), "Stomatal conductance and photosynthesis", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 33 : 317-345, p. 332.

8.6. Ajustement réciproque entre transpiration et assimilation, constance relative de C_i

On s'attend à ce que C_i diminue lorsque la photosynthèse décroît suite à une augmentation de la résistance stomatique (fermeture des stomates). Quand la diminution est due aux processus photosynthétiques eux-mêmes (courbe de demande), on s'attend à ce que C_i augmente. En fait, dans de nombreux cas, C_i est inchangé et peut même être augmenté après une augmentation de r_s (diminution de g) due par exemple à un stress... Cela s'explique par les effets simultanés sur les courbes de demande et d'offre.

Le changement de C_i dans le même sens qu'un changement de A est une condition nécessaire, mais pas suffisante pour affirmer qu'il est dû essentiellement à un effet stomatique. Il semble que la plante tende à minimiser sur une période donnée les pertes d'eau ($\int E dt$), tout en s'imposant de manière à maintenir autant que possible sa production photosynthétique ($\int A dt$). On peut montrer mathématiquement que cela implique le maintien d'un rapport constant (cte) entre les variations de photosynthèse (A) et de transpiration (E) :

$$\frac{\delta E}{\delta A} = \text{cte} \quad (15)$$

Le rapport constant est le coût marginal en eau de l'assimilation.

Ce modèle, inspiré des théories économiques et de principes de régulation, semble correspondre à de nombreuses observations. Il s'applique aux cas où la conductance est la source implicite de variation. Il y aurait ainsi ajustements réciproques, entre photosynthèse et transpiration, la plante réalisant un compromis entre entrée de CO_2 et perte d'eau. En conditions défavorables à la photosynthèse (faible lumière, nuit), cela ne vaut pas la peine d'ouvrir les stomates et de perdre de l'eau (quel que soit le statut hydrique de la plante). Une perte d'eau importante sera tolérée si elle en vaut la peine, c'est-à-dire si une photosynthèse est possible (lumière, etc.).

On observe finalement, suite à ces ajustements, une certaine constance de C_i et une corrélation assez étroite entre photosynthèse et conductance stomatique.

Remarquons que cette constance n'est pas absolue, la constance de C_i correspondrait à une relation linéaire entre A et g_s , et à une ordonnée à l'origine nulle, ce qui n'est généralement pas le cas. Si, suite à un stress, la fonction d'offre de la photosynthèse (conductance foliaire) diminue plus rapidement que la fonction de demande (courbe d'assimilation en fonction de C_i), alors C_i diminue.

8.7. Efficacité d'utilisation de l'eau et discrimination

Ces ajustements permettent une meilleure efficacité de l'utilisation de l'eau (WUE, *water use efficiency*), calculée par le rapport A/E , c'est-à-dire par le nombre de molécules de CO_2 fixées par molécule d'eau transportée au niveau de la feuille. Sachant que :

$$E = \frac{(e_i - e_a)}{P} g_{\text{H}_2\text{O}} = \nu g_{\text{H}_2\text{O}} \quad (16)$$

et tenant compte de (5), avec e_i et e_a la pression partielle de vapeur d'eau dans les espaces intercellulaires et dans l'air respectivement, et P la pression atmosphérique, on a :

$$\text{WUE} = \frac{C_a}{1,6\nu} \left(1 - \frac{C_i}{C_a}\right) \quad (17)$$

Pour obtenir l'efficacité à long terme, il faut tenir également compte de la respiration et des pertes d'eau nocturnes ; de plus, pour être tout à fait rigoureux, il faudrait aussi tenir compte des remarques faites au sujet des équations (5) et (6). Notamment, l'équation (16) devrait être remplacée par :

$$E = \frac{(e_i - e_a)}{P} g_{\text{H}_2\text{O}} - \frac{(e_i + e_a)}{2} \quad (18)$$

WUE peut être augmenté en diminuant C_i ou en diminuant ν .

La détermination de la composition isotopique ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) des tissus végétaux permet, d'autre part, d'obtenir des valeurs moyennes à long terme de C_i/C_a et, ainsi, d'estimer des différences de WUE entre espèces, génotypes, etc.

Les plantes en C_3 , en effet, effectuent une discrimination envers le ^{13}C , suite essentiellement à une plus faible réactivité du $^{13}\text{CO}_2$ vis-à-vis de la RUDP-carboxylase. Le rapport $R = ^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ de leurs tissus est d'environ 20 % moindre que dans l'air.

Chez les plantes en C_4 , la différence n'est que de 10 % (suite à la PEP-carboxylase).

La discrimination est souvent exprimée par

$$X = \frac{R_{\text{air}}}{R_{\text{plante}}} - 1$$

(la discrimination est positive, $X > 0$).

X étant lié de façon relativement simple à C_i/C_a , peut être considéré comme une mesure (moyenne) de C_i/C_a .

Quand r_s est grand par rapport à la capacité de fixation, C_i est petit et est bas ; quand r_s est petit (conductance élevée), X augmente (jusqu'à 30%).

9. MÉTHODES DE MESURE DE LA PHOTOSYNTHÈSE

La photosynthèse donne lieu à des échanges gazeux (consommation de CO_2 et émission de O_2) qui se superposent à ceux des respirations (photorespiration et respiration (dite sombre)). L'observation de ces échanges permet de quantifier la photosynthèse nette (photosynthèse brute moins respirations). Différentes techniques sont disponibles.

9.1. Méthodes aérodynamiques

Ces méthodes, parfois appelées méthodes **micrométéorologiques**, conviennent à la mesure de parcelles entières de grandes dimensions (champs entiers). On mesure le gradient de concentration (x) en CO_2 en fonction de la hauteur (z) et au-dessus du couvert. On utilise pour cela un analyseur à IR (voir 9.2.3).

A partir de ce gradient, on calcule le flux F de CO_2 , de l'atmosphère vers le couvert végétal, au moyen d'une équation de diffusion (diffusion turbulente) de type :

$$F = -K \frac{dx}{dz}$$

Pour déterminer le coefficient de transfert K , on utilise le principe de similarité : quelle que soit l'entité physique transportée par diffusion turbulente, chaleur sensible, chaleur latente ou quantité de mouvement de l'air, la constante est la même. En effet, en diffusion turbulente, ce sont des "paquets d'air" entiers qui se meuvent et transportent ensemble les diverses entités physiques. On peut ainsi calculer K à partir de mesures, à différentes hauteurs, de vitesse du vent, d'humidité ou de température, etc.

La méthode est directe, sensible et a l'avantage de ne pas influencer le milieu mesuré. Elle est cependant délicate. Il n'est pas question de mesurer des petites parcelles par cette méthode, à cause des effets importants de bordure.

9.2. Mesures en chambres d'assimilation

Pendant la mesure, le végétal (partie de plante, plante entière ou petites parcelles en champ) est enfermé ou recouvert dans une enceinte transparente.

9.2.1. Systèmes ouverts

Dans le cas d'un système ouvert, la chambre est traversée par un flux d'air qui, à la sortie de la chambre, s'échappe à l'extérieur sans être recyclé. Une partie du flux de sortie est toutefois constamment prélevée et traverse l'analyseur à IR pour la détermination de la concentration en CO_2 . L'analyseur est aussi traversé (en parallèle

ou alternativement) par de l'air n'étant pas passé à travers la chambre d'assimilation (référence) et dont la concentration est également déterminée.

Le taux de photosynthèse est calculé à partir du flux d'air (flux d'entrée dans la chambre d'assimilation) et de la différence de concentration (mesure différentielle) observée entre l'air de référence et l'air de sortie.

La chambre est en légère surpression et ne doit pas être totalement hermétique. Le flux est choisi de façon à obtenir un compromis entre baisse suffisante de la concentration en CO_2 lors du passage dans la chambre et effet minimal de cette baisse sur la photosynthèse mesurée. L'air à l'intérieur de la chambre est soumis à un brassage intense (ventilateur) afin que la concentration en CO_2 soit homogène et qu'il n'y ait pas de problème de couche limite.

L'analyseur à IR permet une mesure très précise et sensible ; des différences de concentration de l'ordre de 1 vpm (ou $\text{cm}^3 \cdot \text{m}^{-3}$ ou $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$) peuvent être détectées. La précision de la mesure de photosynthèse dépend toutefois aussi de la mesure et de la régulation du flux, et celle-ci est plus délicate. L'arrivée de fluxmètres à mesure thermique du flux massique, associés à des vannes électroniques, a nettement amélioré la situation. Il existe sur le marché des systèmes complets, portables, munis de petites chambres d'assimilation montées sur pince, enserrant la portion de feuillage à mesurer (celle-ci reste attachée à la plante) ; un exemple est celui de la firme ADC.

9.2.2. Systèmes fermés

La chambre d'assimilation est fermée hermétiquement durant la mesure. Chaque détermination (observation de la photosynthèse) est basée sur un ensemble de mesures de concentrations (mesure en absolu) effectuées automatiquement par un analyseur à IR, au cours d'intervalles de temps brefs (en fraction de minute, 10-20 s par exemple). Le système calcule automatiquement par régression la vitesse à laquelle la concentration en CO_2 diminue dans l'enceinte au cours de chaque intervalle et, à partir de là, calcule la photosynthèse.

Par exemple, en 35 s, trois déterminations portant sur des intervalles de 10 à 20 s et un ensemble de 25 mesures ponctuelles de concentration peuvent être effectuées. La mesure doit être brève afin de limiter les effets sur l'environnement de la feuille. En principe, le système ne requiert pas de mesures de flux d'air et est donc plus simple. Afin d'éviter des interférences dues à l'augmentation d'humidité dans la chambre, il est toutefois nécessaire de sécher constamment l'air de la chambre, et le flux correspondant doit être connu.

La technique permet de mesurer des taux de photosynthèse même très faibles. La mesure ne se fait cependant pas en régime permanent de concentration en CO_2 , ce qui soulève des questions. Cette méthode est celle utilisée dans le système portable de la firme LI-COR. Il est d'ailleurs prévu pour la mesure simultanée de la photosynthèse, de la conductance stomatique et de la transpiration.

9.2.3. L'analyseur à infrarouges

Composante essentielle des deux systèmes cités plus haut, l'analyseur à IR est devenu l'appareil classique des mesures de la concentration en CO_2 .

Le principe de base est l'absorption du rayonnement d'IR par les gaz à molécules formées d'atomes dissemblables (CO_2 , H_2O vap., etc.) dans des longueurs d'onde bien

caractéristiques (2,7 μm pour ces deux gaz). La coïncidence partielle des spectres d'absorption de ces deux gaz implique d'ailleurs la nécessité de certaines précautions pour la mesure du CO_2 : utilisation de filtres optiques, colonne de séchage, etc.

Dans le cas d'un système à double faisceau, l'appareil est constitué d'une double source de rayonnement IR, deux cellules à gaz (cellules d'analyse et de référence), traversées par les gaz à mesurer et de référence (respectivement), un détecteur de rayonnement, des pompes.

Dans le système portable de la firme ADC, l'appareil est à faisceau unique, l'unique cellule à gaz est traversée alternativement par les gaz à mesurer et de référence (technique d'alternance des gaz). Le rayonnement émis par la source infrarouge traverse la ou les cellules à gaz (placées par exemple en parallèle), et ce qui n'a pas été absorbé par le gaz (air) traversant les cellules est amené au niveau du détecteur.

Celui-ci est constitué d'une chambre scellée à deux compartiments séparés par un diaphragme, formant l'électrode d'un condensateur et contenant du CO_2 . Sous l'effet de l'absorption du rayonnement résiduel, le gaz se dilate et déforme le diaphragme. Le rayonnement étant interrompu périodiquement (mécaniquement ou électroniquement), le diaphragme vibre, la capacitance du condensateur change et un signal de mesure est obtenu. On utilise actuellement des détecteurs à transistors.

Le gaz à mesurer (par exemple air à la sortie de la chambre d'assimilation) passe à travers la cellule de mesure, le gaz de référence passe à travers la cellule de référence (le gaz de référence est de l'air venant directement de la source, avant passage dans la chambre d'assimilation (mesure en différentiel), ou de l'air dont le CO_2 a été éliminé après absorption sur une colonne (mesure en absolu)).

Dans le système à un faisceau d'ADC, le gaz de référence est toujours de l'air dépourvu de CO_2 (après absorption sur colonne). Une mesure pseudo-différentielle est obtenue en alternant dans la cellule à gaz l'air de sortie de la chambre d'assimilation, l'air dépourvu de CO_2 , l'air venant directement de la source et, de nouveau, l'air dépourvu de CO_2 . Le système stocke en mémoire les signaux et effectue les calculs pour chaque période de quelques secondes. Le cycle est ainsi doublé par rapport à une mesure en absolu.

Ce système ne convient pas à une mesure en circuit fermé (une partie de l'air est en effet déviée à travers les colonnes d'absorption du CO_2 , ce qui affecte la concentration en CO_2 dans la chambre où l'air est recyclé).

9.3. Méthode basée sur l'utilisation du carbone 14

La plante (ou partie de plante) placée dans une chambre d'assimilation est soumise à de l'air dont une partie du CO_2 est sous forme de $^{14}\text{CO}_2$. La chambre n'est laissée en place que le temps (court) de l'exposition au $^{14}\text{CO}_2$. Le $^{14}\text{CO}_2$ peut être généré directement dans la chambre par addition d'acide à du bicarbonate marqué, ou appliqué à partir d'un mélange (air + CO_2 + $^{14}\text{CO}_2$, en bonbonne) préparé à l'avance. Toute la plante ou seulement des parties minimales de celle-ci peuvent être exposées.

Une méthode rapide et peu destructive implique par exemple l'utilisation d'une mini-chambre montée sur pince qui, lors de sa fermeture, déclenche l'ouverture

d'une vanne délivrant, à partir d'une bonbonne, de l'air contenant du $^{14}\text{CO}_2$, pendant une vingtaine de secondes. La surface foliaire traitée peut être fort réduite, par exemple un cercle de moins d'un centimètre de diamètre.

Les parties exposées sont récoltées et "brûlées" par traitement avec des oxydants dans un récipient hermétique. Le $^{14}\text{CO}_2$ reformé à partir des assimilats oxydés est absorbé par une base organique placée dans le récipient. Après décoloration, la radioactivité est déterminée généralement par scintillation liquide.

Il faut connaître l'activité spécifique de l'air utilisé (dpm/ml), sa concentration en CO_2 (mesurée par IRGA, préalablement) et le flux pour calculer le taux de photosynthèse. Une incertitude quant à la mesure réellement effectuée (située entre la photosynthèse nette ou brute, le ^{14}C n'ayant pu avoir le temps de passer par les chaînes respiratoires), une discrimination en défaveur du $^{14}\text{CO}_2$ par la RUBP-carboxylase, sont des problèmes associés à cette méthode. A tout cela, il faut ajouter dans le cas de méthodes rapides avec chambres miniatures, la variabilité résiduelle élevée des mesures et des problèmes de couche limite. La mesure est au moins partiellement destructive et ne peut être faite en continu.

9.4. Méthode de la sonde à oxygène (électrode de Clark) et méthodes manométriques

Ces méthodes peuvent convenir pour la *mesure en laboratoire* d'organelles isolées, protoplastes, cellules, ou fragments de tissus séparés du reste de la plante.

Les mesures se font en milieu liquide, la source de CO_2 est une solution de bicarbonate. Pour les mesures de photosynthèse avec la sonde à oxygène, celle-ci doit être pourvue d'un système fournissant de la lumière, transmise par filtre optique dans la cellule de mesure (fermée hermétiquement durant la détermination).

Dans les méthodes manométriques (plus anciennes), la mesure de la production d' O_2 se fait dans des fioles spéciales, à volume et température constants (appareil de Warburg) ou à pression constante (appareil de Gilson). Chaque fiole est reliée à un manomètre. L'appareil de Gilson est plus facile à manier et moins délicat que celui de Warburg. Le CO_2 nécessaire émis par la respiration est absorbé par du KOH pour éviter des interférences avec la mesure d' O_2 .

9.5. Méthodes gravimétriques

Il s'agit de mesures d'augmentation de poids sec.

Les mesures sont destructives et ne permettent que des déterminations sur des intervalles suffisamment longs (une à deux semaines). Elles ne permettent pas de suivre les fluctuations instantanées de la photosynthèse.

9.6. Mesure de la respiration sombre de la photorespiration

Une mesure des échanges de CO_2 ou d' O_2 à l'obscurité permet la détermination de la respiration dite sombre, pour autant que celle-ci soit la même à la lumière et à l'obscurité (ceci n'est qu'approximativement le cas).

La mesure de la photosynthèse est plus difficile. Différentes approches sont possibles :

- mesure de la photosynthèse sous de basses concentrations en O_2 (1 %) ;
- détermination de la courbe de réponse de la photosynthèse à la concentration en CO_2 et extrapolation aux concentrations nulles ;
- mesure de l'émission de CO_2 en atmosphère dépourvue de CO_2 ;
- observation de points de compensation pour le CO_2 ou de pics momentanés d'émission de CO_2 juste après l'arrêt de l'éclairage ;
- utilisation de techniques à base d'isotopes (radioactifs ou non).

10. PHOTOSYNTHÈSE ET RENDEMENT

10.1. De la photosynthèse au niveau d'une feuille à celle d'un couvert végétal

Le lien entre activité photosynthétique et rendement n'est pas aussi évident qu'il ne pourrait paraître à première vue, surtout si les mesures de photosynthèse sont effectuées au niveau de feuilles isolées et qu'on s'intéresse à P_{max} , la photosynthèse à saturation (C_3) ou à irradiance élevée (C_4).

Dans un couvert végétal, la plupart des feuilles ne fonctionnent pas à P_{max} , suite à l'ombragement par les feuilles des couches supérieures de feuillage et l'ombragement mutuel des feuilles voisines ; une augmentation de P_{max} peut n'avoir qu'un effet négligeable sur l'activité photosynthétique du couvert.

Les caractéristiques de la photosynthèse aux irradiances plus faibles sont sans doute plus importantes que P_{max} .

D'autre part, il apparaît que ce n'est pas la quantité de rayonnement incident qui importe, mais le *rayonnement intercepté par la culture*, d'où l'importance déterminante de l'établissement (aussi tôt que possible) et du maintien aussi longtemps que possible d'une surface foliaire active suffisante.

10.2. Relation entre matière sèche produite et rayonnement absorbé

Comme on l'a vu au chapitre 6, on observe qu'il y a une relation simple entre la matière sèche produite (biomasse, MS/m^2) et le rayonnement photosynthétique actif absorbé (RPA_a , MJ/m^2) :

$$MS = k \cdot RPA_a$$

avec, par exemple, $k = 2,5$ (plante C_4), $1,9$ (plante C_3)... si on se limite aux parties aériennes.

Ce genre de relation est utilisé dans les modèles de croissance.

Le calcul de RPA_a se fait à partir de données météorologiques (RPA incident) et de la fraction interceptée par le couvert : cette dernière est la plupart du temps très simple-

ment décrite par une relation de type $1 - e^{-K \cdot \text{LAI}}$ (loi de Lambert-Beer), où K est un coefficient sans dimension caractéristique du feuillage (sa valeur = 0,6 pour les graminées par exemple ; $K = 0,65$ dans le modèle Ceres-maize) ; LAI est l'indice foliaire (surface foliaire / surface de sol occupée par les plantes). Les valeurs de K étant assez constantes, la production sera fortement déterminée par les valeurs de LAI.

La relation entre MS et RPA_a permet de calculer la croissance potentielle ; pour obtenir la croissance réelle, on multiplie habituellement par des coefficients compris entre 1 et 0 et calculés en fonction des limitations dues à la température, l'eau, etc.

10.3. Photosynthèse et rendement en grains

Le problème de l'efficiencia se complique pour les cultures dont seule une partie est récoltée ou est importante commercialement (grains de céréales, etc.). Dans ce cas, il faut également prendre en considération l'indice de récolte.

Dans le cas des céréales à paille, il ne semble pas que le progrès génétique ait amélioré la capacité photosynthétique du couvert et donc la production de biomasse, jusqu'il y a peu, tout au moins.

Dans le cas du maïs aussi, l'essentiel du progrès est lié à l'obtention de variétés dont la production en grains par plante chute moins quand le peuplement à l'hectare augmente (**tolérance aux densités élevées**). Il y aurait eu toutefois également une certaine amélioration de la biomasse, mais, par rapport à l'ensemble des cultures, ce cas serait plutôt exceptionnel.

La question de savoir dans quelle mesure la photosynthèse limite les rendements demande une réponse nuancée : la limitation et les composantes du rendement affectées dépendent du stade de développement de la plante. Les expériences réalisées sur blé, avec modification de la photosynthèse pendant des phases bien définies du développement, le montrent clairement (enrichissement en CO_2 , ombrage, etc.).

De toute manière, le problème du rendement n'est pas seulement un problème de photosynthèse (c'est-à-dire de "source"), et dans de nombreux cas il reste bien difficile de définir ce qui de la source (photosynthèse) ou du puits (capacité de stockage, etc.) a joué le rôle déterminant.

Tant que l'important problème des relations source-puits ne sera pas mieux résolu, il est douteux qu'on puisse donner des réponses précises. Cette question fondamentale est traitée de manière détaillée dans le chapitre 9.

BIBLIOGRAPHIE

- Barber J. (1976), "Ion regulation in intact chloroplasts and its effects on primary photosynthetic processes", in *The Intact chloroplast*, vol. 1, *Topics in photosynthesis*, Barber J. (ed.), Elsevier, Amsterdam, 88-134.
- Coombs J., Hall D.O., Lang S.P. and Scurlock J.M.O. (ed.) (1985), *Techniques in bioproductivity and photosynthesis*, Pergamon Press, Oxford.

- Daynard T.B. et Tollenaar M. (1984), "Prospects for improving the productivity of early maize", in *Physiologie du maïs*, Gallais A. (ed.), INRA, Paris, 533-570.
- Demmig-Adams B. (1990), "Carotenoids and photoprotection in plants : a tale for the xanthophyll-zeaxanthin", *Biochimica et Biophysica Acta*, **1020** : 1-24.
- Farquhar G.D. et Sharkey T.D. (1982), "Stomatal conductance and photosynthesis", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **33** : 317-345.
- Gosse G., Varlet-Grancher C., Bonhomme R., Chartier M., Allirand J.-M. et Lemaire G. (1986), "Production maximale de matière sèche et rayonnement solaire intercepté par un couvert végétal", *Agronomie*, **6** : 47-56.
- Gregory R.P.F. (1989), *Photosynthesis*, Chapman and Hall, New York.
- Johnson C.B. (ed.) (1981), *Physiological processes limiting plant productivity*, Butterworths.
- Nobel P.S. (1983), *Biophysical plant physiology and ecology*, W.H. Freeman and Company, San Francisco.
- Pearson C.J. (ed.) (1984), *Control of crop productivity*, Academic Press, Sydney.
- Rawl J.D. (1989), *Biochemistry*, Weil Patterson Publishers, Burlington, North Carolina, USA.
- Salisbury F.B. et Ross C.W. (1985), *Plant physiology*, Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, USA.
- Tollenaar M. et Bruuselma T.W. (1988), "Efficiency of maize dry matter accumulation during periods of complete leaf area expansion", *Agron. J.*, **80** : 580-585.

Chapitre 8

RESPIRATION ET AUTRES CATABOLISMES OXYDATIFS

Patrick du Jardin

Faculté des sciences agronomiques de Gembloux, Belgique

Sommaire

1. Introduction

2. Substrats des oxydations

3. Inventaire des voies cataboliques oxydatives et leur compartimentage

3.1. La glycolyse

3.2. Voie oxydative des pentoses-phosphates

3.3. Oxydations terminales : cycle de Krebs et phosphorylation oxydative

3.4. Fermentation

4. Particularités des voies oxydatives chez les plantes

4.1. La glycolyse

4.2. Voie oxydative des pentoses-phosphates

4.3. Fermentation

4.4. Respiration mitochondriale

5. Vers une interprétation physiologique des particularités végétales

5.1. Catabolisme et anabolisme sont indissociables

5.2. Voies alternatives et homéostasie cellulaire

6. La respiration diminue-t-elle les rendements culturaux ?

Bibliographie

RESPIRATION ET AUTRES CATABOLISMES OXYDATIFS

1. INTRODUCTION

Près de la moitié des assimilats photosynthétiques produits au cours d'une journée sont respirés au cours de celle-ci. Cette proportion dépend bien sûr de l'âge de la plante et des conditions environnementales.

Dans une optique de production végétale, donc dans celle des sélectionneurs et agronomes, il est important de définir la signification physiologique de la respiration et de considérer la diversité des phénomènes qui s'expriment derrière une consommation d'oxygène, avant d'utiliser un tel paramètre comme critère de sélection en amélioration des plantes ou comme indicateur écophysio-logique des performances de croissance d'une population végétale.

C'est dans cette perspective que le présent chapitre est écrit. Il ne s'agit pas d'une description exhaustive des phénomènes. Seules seront décrites les singularités des systèmes végétaux sur le plan de la respiration mais aussi des voies oxydatives en amont, comme la glycolyse. Ces particularités seront ensuite discutés sur le plan de leur signification fonctionnelle éventuelle.

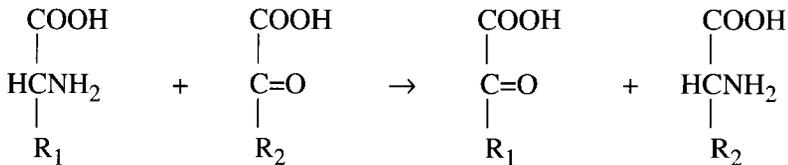
Plusieurs ouvrages et articles de revue sont cités en fin de chapitre, permettant au lecteur d'enrichir ses connaissances dans les domaines qui auront plus particulièrement retenu son attention.

2. SUBSTRATS DES OXYDATIONS

Les organes de propagation stockent différents types de polymères qui alimenteront les catabolismes producteurs d'énergie lors de la germination et des premiers stades de développement. *L'amidon est le principal polysaccharide de réserve*, sa teneur atteignant fréquemment 70 % par rapport à la matière sèche dans les graines et les tubercules. L'amidon est également synthétisé dans les chloroplastes des tissus photosynthétiques où il joue le rôle de réservoir provisoire de carbone réduit. Au cours de la journée, le carbone photo-assimilé est partiellement exporté sous forme de saccharose pour satisfaire la demande métabolique de la plante, l'excédent étant immobilisé sous forme d'amidon dans les tissus photo-assimilateurs. Celui-ci sera consommé au cours de la nuit pour soutenir la croissance de la plante. La dépolymérisation de l'amidon procède selon deux voies : la voie **hydrolytique** et la voie **phosphorolytique**. Les amylases sont les acteurs principaux de la dégradation hydrolytique. Il s'agit d' α -glucosidases attaquant le glucane par l'intérieur de la chaîne (α -amylases) ou par son extrémité non réductrice (β -amylases spécifiques du règne végétal). Les deux types clivent les liens $\alpha 1 \rightarrow 4$. L'hydrolyse complète de l'amidon nécessite l'intervention d'iso-amylases rompant les liaisons $\alpha 1 \rightarrow 6$

responsables du branchement des glucanes. Les phosphorylases quant à elles clivent les liaisons $\alpha 1 \rightarrow 4$ séquentiellement à partir de l'extrémité non réductrice en conservant dans le lien phosphoester entre le phosphate inorganique et le résidu glucose l'énergie de la liaison $\alpha 1 \rightarrow 4$ des monomères glucosidiques de l'amidon. La phosphorylyse est donc énergétiquement plus favorable que l'hydrolyse, qui dissipe cette énergie de liaison sous forme de chaleur. Les deux voies coexistent toutefois au niveau de la majorité des tissus mobilisant leur amidon.

D'autres organes stockent des quantités importantes de *réserves protéiques* (ex. les légumineuses) ou *lipidiques* (les espèces oléagineuses de façon générale). Dans les organes de propagation, la dégradation des protéines produit un stock d'acides aminés permettant d'initier de nouvelles protéosynthèses ; elle libère potentiellement de l'énergie par l'oxydation subséquente de ces acides aminés. Toutefois, le taux de respiration mesuré est généralement bien supérieur à celui de la dégradation des protéines et il n'y a pas d'argument convaincant en faveur de l'importance des protéines en tant que source d'énergie. Par ailleurs, lors de la germination, le spectre des acides aminés libérés par l'hydrolyse des protéines doit être ajusté aux besoins spécifiques des nouvelles protéosynthèses et cet ajustement de la composition du stock des acides aminés libres fait largement appel au cycle de Krebs. Des conversions réciproques entre les aminoacides libérés et les cétoacides du cycle sont catalysées par des transaminases, selon le schéma réactionnel suivant :



Par exemple, oxaloacétate (cétoacide) \rightarrow aspartate (aminoacide) pendant que glutamate (aminoacide) \rightarrow α -cétoglutarate (cétoacide)

Glutamate et aspartate étant eux-mêmes des précurseurs de plusieurs acides aminés, les transaminations utilisant les métabolites du cycle conduisent à équilibrer les groupes d'aminoacides des deux familles. D'autres acides aminés gagnent le cycle de Krebs par désamination oxydative plutôt que par transamination, avec plusieurs points d'entrée. *Ce rôle carrefour du cycle de Krebs dans le catabolisme et l'anabolisme des acides aminés attire d'ores et déjà notre attention sur la fonction anabolique des processus oxydatifs*, fournissant les modules carbonés capables d'initier des synthèses nouvelles.

Les lipides forment la troisième grande classe de substances de réserve chez les plantes. Les sphérosomes désignent les corpuscules cytoplasmiques formés par l'accumulation de triglycérides entre les deux couches phospholipidiques du réticulum endoplasmique. La masse lipidique finit par quitter l'endomembrane et former des globules libres limités par une couche phospholipidique unique. Contrairement aux systèmes animaux, la mobilisation des triglycérides au niveau d'une jeune plantule n'a pas pour principal objet d'alimenter en énergie le métabolisme, via la β -oxydation des acides gras et le cycle de Krebs. Ces organes sont plutôt le siège d'une gluconéogenèse active conduisant au saccharose, disaccharide exporté et qui sera respiré au niveau des points de croissance, principaux demandeurs d'énergie. La conversion en saccharide des acides gras libérés des triglycérides intervient en plusieurs étapes, au niveau de trois compartiments cellulaires successifs : β -oxydation et cycle du glyoxylate dans les glyoxysomes (acides gras \rightarrow acétyl-CoA \rightarrow succinate), parcours limité du cycle de Krebs dans la mitochondrie (succinate \rightarrow

malate), enfin gluconéogenèse et saccharogenèse dans le cytosol (malate → phosphoénolpyruvate → hexoses-P → saccharose).

Polysaccharides, protéines et triglycérides ne peuvent être transloqués dans la plante (à de très rares exceptions près). Le saccharose joue le rôle principal de véhicule du carbone réduit. La problématique complexe de sa translocation, du chargement du phloème dans les organes “sources” et de son déchargement dans les organes “puits” est décrite dans le chapitre 9 du présent ouvrage.

Deux voies cataboliques introduisent le carbone réduit du saccharose dans la glycolyse et la voie oxydative des pentoses-phosphates. L'invertase clive le saccharose en glucose et fructose. La rupture de la liaison glycosidique rend la réaction nettement exergonique ($\Delta G_0' = -29,3 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) et donc irréversible. La saccharose synthétase clive le saccharose en UDP-glucose et fructose en consommant une molécule d'UDP et en conservant dans l'UDP-glucose, l'énergie de la liaison glycosidique du disaccharide. La variation d'énergie libre est donc proche de zéro ($\Delta G_0' = -3,99 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) et il s'agit d'une réaction typiquement réversible. Afin de gagner les voies oxydatives glycolytiques et des pentoses-P, les catabolites du saccharose doivent entrer dans le *pool* des hexoses-P. Par la voie des invertases, glucose et fructose doivent être phosphorylés par des kinases plus ou moins spécifiques qui ont pour point commun d'utiliser l'A(U)TP comme donneur de phosphoryle. On voit donc qu'après avoir dissipé l'énergie de liaison entre les unités glucose et fructose du saccharose, la voie invertase exige un apport d'énergie préalablement à l'oxydation du carbone. La voie saccharose synthétase paraît plus avantageuse : l'UDP-glucose est converti en glucose-1-phosphate par une UDP-glucose pyrophosphorylase travaillant près de l'équilibre thermodynamique et puisant de l'énergie libre dans le pyrophosphate inorganique (abondant dans le cytosol végétal) plutôt que dans l'ATP, d'où l'appellation de “pyrophosphorolyse” pour la réaction dans cette direction. De l'ATP est toutefois nécessaire à la phosphorylation du fructose “co-produit” par la saccharose synthétase. Il y a donc consommation de deux équivalents ATP pour amener le carbone du saccharose dans le *pool* d'hexoses-P via la voie invertase, contre un équivalent par la voie saccharose synthétase.

Il est délicat à ce stade de préciser la signification physiologique et développementale de ces deux voies. La coexistence des deux types d'activité a été démontrée au niveau de nombreux organes. L'une peut toutefois largement excéder l'autre. C'est le cas des organes de réserve en développement comme l'albumen des céréales et le tubercule de pomme de terre où l'activité saccharose synthétase est abondante contre une activité invertase très faible. Chez la pomme de terre, la transition entre le stolon en élévation et le stolon initiant la tubérisation est accompagnée d'une inversion du rapport des niveaux d'activité invertase/saccharose synthétase. En l'absence de données plus détaillées sur les formes enzymatiques et leur localisation tissulaire et cellulaire, toute hypothèse sur d'éventuelles fonctions spécifiques des voies invertase et saccharose synthétase demeure spéculative. On sait d'ores et déjà que des saccharose synthétases sont spécifiquement exprimées au niveau des cellules compagnes du phloème et participent certainement à leur fonctionnement particulier. Des enzymes distinctes opèrent dans l'albumen et contribuent à fournir les précurseurs d'amidon (importés essentiellement si non exclusivement sous forme d'hexoses-P dans l'amyloplaste). La situation des invertases est plus complexe. Deux types d'activité sont généralement distinguées : l'invertase acide regroupant des isoformes vacuolaire et apoplastique et l'invertase alcaline ou neutre opérant dans le cytosol. L'activité acide intervient dans l'accumulation d'hexoses dans la vacuole (donc dans l'osmorégulation, le développement de la pression de turgescence et la croissance cellulaire), ainsi que dans le passage apoplastique des sucres depuis ou vers le symplasme. Il existe à

cet égard de nombreux cas de figure selon les espèces. Chez la canne à sucre, le déchargement du phloème fait intervenir une invertase apoplastique suivie du franchissement actif de la membrane plasmique par les hexoses produits, alors que chez la betterave, le saccharose déchargé du phloème dans l'apoplasme gagnera le symplasme sans hydrolyse préalable dans la paroi, donc sans intervention d'invertase.

A cette diversité interspécifique et à la complexité cellulaire s'ajoute apparemment une régulation développementale qui demeure largement à étudier. La biologie moléculaire, notamment par l'obtention d'anticorps spécifiques des différentes isoformes et de sondes moléculaires spécifiques des différents gènes de structure, est le meilleur atout pour explorer cette diversité.

3. INVENTAIRE DES VOIES CATABOLIQUES OXYDATIVES ET LEUR COMPARTIMENTAGE

Plusieurs voies contribuent au gain d'énergie par oxydation et sont réparties dans de multiples compartiments cellulaires. Le *compartimentage de ces voies est un aspect essentiel de la régulation du métabolisme*. La figure 8.1 situe les catabolismes oxydatifs d'une cellule végétale hétérotrophe, avec le saccharose comme substrat initial.

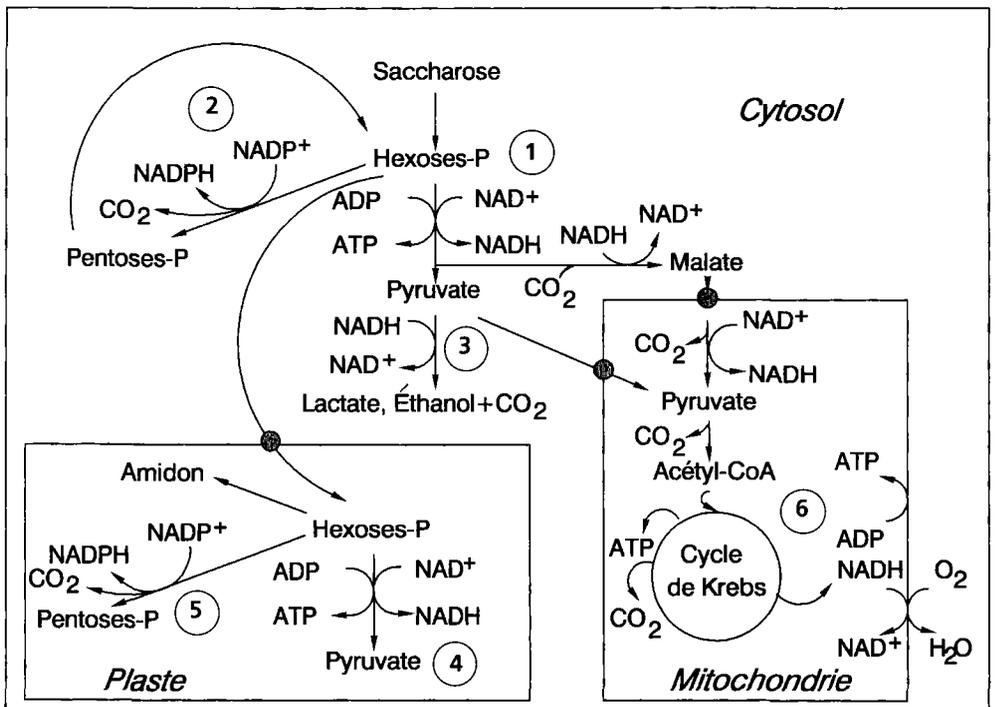
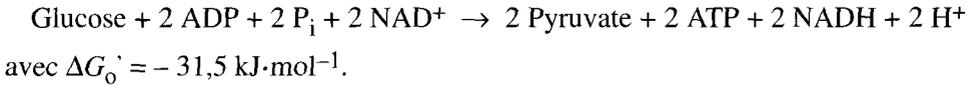


Figure 8.1. Schéma simplifié des voies oxydatives d'une cellule végétale hétérotrophe, au départ du saccharose . 1, glycolyse cytosolique ; 2, voie (cycle) oxydative des pentoses-phosphates cytosolique ; 3, fermentations lactique et alcoolique ; 4, glycolyse plastidique ; 5, voie oxydative des pentoses-phosphates plastidique ; 6, oxydations terminales (cycle de Krebs et phosphorylation oxydative) Une flèche reliant deux métabolites peut désigner une suite de réactions.

3.1. La glycolyse

Elle est définie par le bilan réactionnel suivant :

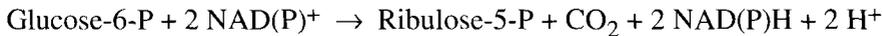


Bien que le rendement énergétique du processus puisse sembler modeste (2 ATP par molécule de glucose), le pyruvate et le NADH ont un contenu en énergie libre élevé, disponible pour la formation de nouvelles molécules d'ATP au cours de la phase aérobie du catabolisme.

Notons par ailleurs que les hexoses-P plutôt que les hexoses peuvent être considérés comme les véritables substrats glycolytiques. Ainsi, la voie saccharose synthétase/UDP-glucose pyrophosphorylase fournit du glucose-P qui peut être directement injecté dans la glycolyse. La consommation d'ATP, nécessaire à la première étape de la glycolyse au départ du glucose (phosphorylation en glucose-P) et qui grève le bilan énergétique, est donc évitée.

3.2. Voie oxydative des pentoses-phosphates

La phase oxydative de cette voie est définie par le bilan réactionnel suivant :



Il s'agit donc d'une décarboxylation oxydative. Cette voie forme un cycle lorsque les pentoses-5-P sont utilisés pour régénérer des hexoses-P. Le cycle permet théoriquement l'oxydation complète du glucose-6-P en CO_2 avec la production concomitante d'équivalents réducteurs NADPH, sans intervention d'oxygène moléculaire. Toutefois les pentoses-P produits par la phase oxydative du cycle ainsi que des intermédiaires de la phase régénérative (érythrose-4-P) sont des précurseurs importants de nucléotides, d'acides aminés aromatiques, de cofacteurs, d'hormones et de métabolites secondaires (flavonoïdes, alcaloïdes,...). L'oxydation complète du glucose-6-P en CO_2 s'avère donc très théorique.

3.3. Oxydations terminales : cycle de Krebs et phosphorylation oxydative

Le cycle de Krebs (synonymes : cycle du citrate, cycle tricarboxylique) peut être résumé par le bilan suivant :



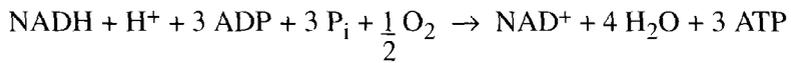
avec $\Delta G_o' = -105 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Les deux carbones du groupement acétyle sont donc complètement oxydés en CO_2 au départ d'une forme activée par liaison au coenzyme A. Cette dernière est produite par décarboxylation oxydative du pyruvate, selon la réaction suivante :



avec $\Delta G_o' = -33,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Au cours de la phosphorylation oxydative, les équivalents réduits NADH sont régénérés en NAD⁺ par transfert des protons et électrons à l'oxygène moléculaire, selon le bilan suivant :



(3 molécules d'eau se forment lors de la phosphorylation des trois ADP)

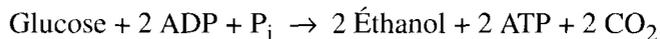
avec $\Delta G_0' = -128,5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Cette oxydation du NADH par l'oxygène moléculaire au niveau de la chaîne respiratoire génère donc une grande quantité d'équivalents ATP. Dans la production d'énergie chimique au départ du pyruvate, ce que nous avons appelé les oxydations terminales, on peut donc distinguer une phase (cycle de Krebs) de *production d'équivalents réducteurs* (NADH) par décarboxylation puis une phase de *conversion* des équivalents réducteurs en énergie chimique (ATP) par protonation de l'oxygène moléculaire (phosphorylation oxydative).

3.4. Fermentation

Les processus de fermentation oxydent le glucose par voie glycolytique mais ont pour particularité de régénérer les cofacteurs NAD⁺ par voie anaérobie, contrairement à la respiration mitochondriale qui utilise l'oxygène moléculaire comme accepteur final des électrons du NADH. Le carbone n'est pas complètement oxydé en CO₂ par la fermentation. Deux produits terminaux, l'éthanol et le lactate, caractérisent les deux types de fermentation, alcoolique et lactique, qui coexistent chez les végétaux.

Le gain d'équivalents ATP par la fermentation est modeste comparé à celui obtenu par l'oxydation aérobie du glucose en CO₂ :



avec $\Delta G_0' = -174 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

4. PARTICULARITÉS DES VOIES OXYDATIVES CHEZ LES PLANTES

4.1. La glycolyse

4.1.1. Duplication de la glycolyse dans la cellule végétale

Les plastes ont pour ancêtres des procaryotes photosynthétiques proches des cyanobactéries actuelles. L'origine endosymbiotique de ces organites repose sur de nombreux arguments, le principal étant la présence d'un ADN structuré à la façon des génomes eubactériens. La glycolyse est une voie métabolique acquise très tôt dans l'évolution, et que l'endosymbion et la cellule hôte protoeucaryotique possédaient tous deux au moment de leur association. Au cours de l'évolution ultérieure de l'endosymbion conduisant à un plaste privé désormais de son autonomie, de nombreux remaniements ont eu lieu dans son fonctionnement génétique et métabolique. Toutefois, une partie au moins de la voie glycolytique a été conservée dans le plaste. La fonction de la glycolyse peut y être de fournir l'ATP et divers métabo-

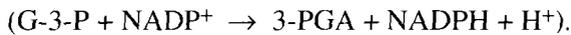
lites nécessaires aux biosynthèses actives dans ce compartiment. Par ailleurs, des translocateurs d'adénylates et de carboxylates sont identifiés dans les enveloppes des plastes, capables d'importer ces molécules du cytosol. Une activité acétyl-CoA synthétase est également présente dans les plastes leur permettant, au moins *in vitro*, de prélever directement des modules acétate et de les activer en acétyl-CoA, sans utiliser le pyruvate, produit terminal de la glycolyse. L'acétyl-CoA est ensuite utilisé pour les synthèses lipidiques du plaste, comme celles des acides gras et des caroténoïdes.

Il est donc bien difficile de définir l'importance de la voie glycolytique plastidique et il est imprudent de proposer des principes applicables à tous les types différenciés de plastes.

La duplication des voies glycolytiques, spécifiquement végétale, complique singulièrement l'interprétation des mesures d'activités enzymatiques globales dans des extraits végétaux. A une même activité globale peuvent correspondre des rapports d'activités cytosolique/plastidique très différents. Il peut arriver toutefois que les isoenzymes des deux compartiments soient suffisamment différenciées structurellement pour que leurs caractéristiques cinétiques diffèrent notablement et permettent la conception d'essais spécifiques de chaque forme sans fractionnement préalable de l'extrait.

4.1.2. Voies glycolytiques parallèles dans le cytosol

La cellule végétale présente un niveau de complexité supplémentaire en ce qui concerne la glycolyse. A côté des étapes enzymatiques classiquement décrites dans tout ouvrage de référence de biochimie, le cytosol végétal présente des activités originales, ou partagées par de rares organismes. La phosphofructokinase ATP-dépendante peut être contournée par une phosphofructokinase utilisant le pyrophosphate inorganique comme donneur de phosphoryle. La conversion du glyceraldéhyde-3-P en 3-P-glycérate, normalement opérée en deux étapes, peut être catalysée en une seule étape par une glyceraldéhyde-3-P déshydrogénase dépendante de NADP⁺ et non phosphorylante



Une interprétation de ces voies alternatives dans un même compartiment sera tentée plus loin, mais on peut d'ores et déjà les considérer comme une illustration de la flexibilité du métabolisme des plantes et de leurs capacités adaptatives remarquables.

4.2. Voie oxydative des pentoses-phosphates

A nouveau, cette voie métabolique est dupliquée dans la cellule végétale, avec une double localisation cytosolique et plastidique. Toutefois, tous les plastes ne semblent pas munis du bagage enzymatique complet (pour les phases oxydative et régénératrice du cycle). L'étape d'engagement de cette voie métabolique est catalysée par la glucose-6-P déshydrogénase et des formes immunologiquement distinctes de cette enzyme ont été identifiées dans le plaste et le cytosol.

Les plastes sont les sites de synthèse principaux sinon exclusifs des acides gras. Ils assurent également la réduction des nitrites en ammonium. Ces activités sont grandes consommatrices de pouvoir réducteur sous forme de NADPH. Puisque

aucun cas d'importation d'équivalents réduits NADPH à partir du cytosol n'a été décrit, la fourniture du NADPH est une des fonctions classiquement assignées à la voie des pentoses-phosphates dans le plaste.

De façon particulière chez les végétaux, le NADH produit au cours de la glycolyse, laquelle est, on le sait au moins partiellement, active dans le plaste, peut partiellement se substituer au NADPH dans la synthèse des acides gras. Une transhydrogénation entre NADH et NADPH pourrait également intervenir. Dans les chloroplastes illuminés, ce sont les réactions photochimiques au niveau des thylakoïdes qui produisent les cofacteurs NADPH. Dans les chloroplastes à l'obscurité et dans les plastes non photosynthétiques, la voie oxydative des pentoses-P prend le relais. Le chloroplaste à l'obscurité dégrade son amidon pour fournir les hexoses-P ou en synthétise à partir de trioses-P tandis que les plastes non photosynthétiques importent des glucoses-P du cytosol pour alimenter la voie oxydative des pentoses-P.

Comme déjà évoqué, cette voie métabolique est un fournisseur actif de précurseurs biosynthétiques et elle ne peut être réduite à sa fonction de fournisseur d'équivalents réducteurs. En absence de données précises sur la fonction physiologique des voies oxydatives des pentoses-P chez les plantes, on peut évoquer le cas de mutants de levure *Saccharomyces cerevisiae* bloqués dans l'activité glucose-6-P déshydrogénase et dont le phénotype associé est une **auxotrophie** pour quelques acides aminés (c'est-à-dire une dépendance à l'égard d'un apport exogène de ces composés), mais pas un blocage des biosynthèses réductrices.

4.3. Fermentation

La plante traverse au cours de son existence des périodes d'**hypoxie** ou d'**anoxie**. L'appareil racinaire, qui représente fréquemment une biomasse supérieure à celle du reste de la plante, est par exemple confronté à une baisse de la tension en oxygène dans des sols gorgés d'eau et mal aérés. C'est dans ce contexte que les métabolismes fermentatifs prennent une importance physiologique particulière. Ils permettent de soutenir la croissance de la plante en oxydant le carbone réduit, bien qu'à moindre rendement. Ce métabolisme n'est qu'une roue de secours et n'est donc utilisé qu'en situation d'urgence. Ce qu'on peut appeler la "réponse anaérobie" fournit ainsi un exemple particulièrement intéressant d'adaptation biochimique et de régulation des mécanismes adaptatifs.

L'alcool déshydrogénase (ADH), enzyme catalysant la production de l'éthanol et régénérant le NAD⁺ voit son activité cellulaire augmenter très nettement sous l'effet de la contrainte anoxique. Cette activation a pour origine une synthèse accrue de la protéine enzymatique. La synthèse d'une protéine fonctionnelle est le point d'aboutissement de l'expression du gène correspondant avec, entre l'ADN et son produit protéique, de nombreuses étapes qui toutes sont des sites potentiels de régulation génétique. Dans le cas de l'alcool déshydrogénase, l'initiation de la transcription du gène de structure a été identifiée comme niveau important de régulation. On assiste tout d'abord à une décondensation locale de la chromatine, ouvrant l'accès de la région promotrice à l'ARN polymérase II et à des facteurs protéiques nucléaires qui vont contrôler le taux d'initiation de la transcription. A l'intérieur de la région promotrice, de courts motifs nucléotidiques ont pu être reconnus comme essentiels à l'activation du gène par l'anoxie et sont précisément liés par des protéines nucléaires, probablement des acteurs du complexe d'activation transcriptionnelle. L'une d'elles manifeste une transition conformationnelle lors de la contrainte anaérobie.

Un des motifs de régulation transcriptionnelle a été trouvé dans le promoteur du gène *Sh1* chez le maïs qui code pour la saccharose synthétase, cette activité enzymatique étant précisément activée par l'anoxie. Puisque le rendement énergétique de l'oxydation anaérobie des sucres est inférieur à celui de la respiration aérobie, une stimulation de la dégradation du saccharose et du flux glycolytique sont susceptibles de maintenir le taux de production d'ATP. Parmi les protéines dont la synthèse est activée par le stress anoxique figurent ainsi la saccharose synthétase, enzyme opérant *in vivo* essentiellement dans le sens dégradatif comme on sait, et des enzymes glycolytiques (hexoses-P isomérase et aldolase). Il reste toutefois à comprendre pourquoi une activité glycolytique importante comme la pyruvate kinase, étape produisant précisément de l'ATP, n'est pas stimulée par l'anaérobiose.

La régulation de la réponse anaérobie n'est pas limitée à un contrôle de l'expression génétique ; il s'y ajoute un contrôle biochimique ajustant l'activité spécifique des protéines après leur synthèse. On sait par exemple que la pyruvate décarboxylase qui convertit le pyruvate en acétaldéhyde, substrat de l'ADH, présente une forme dimérique peu active et une forme tétramérique beaucoup plus active. Lors de l'installation de la contrainte anoxique, la fermentation lactique abaisse le pH du cytosol. Cette baisse du pH favorise l'assemblage des tétramères au détriment des dimères et contribue ainsi à l'amorçage de la fermentation alcoolique. Celle-ci ne tardera pas à prendre le pas sur la fermentation lactique.

4.4. Respiration mitochondriale

4.4.1. Particularités des chaînes respiratoires des mitochondries végétales

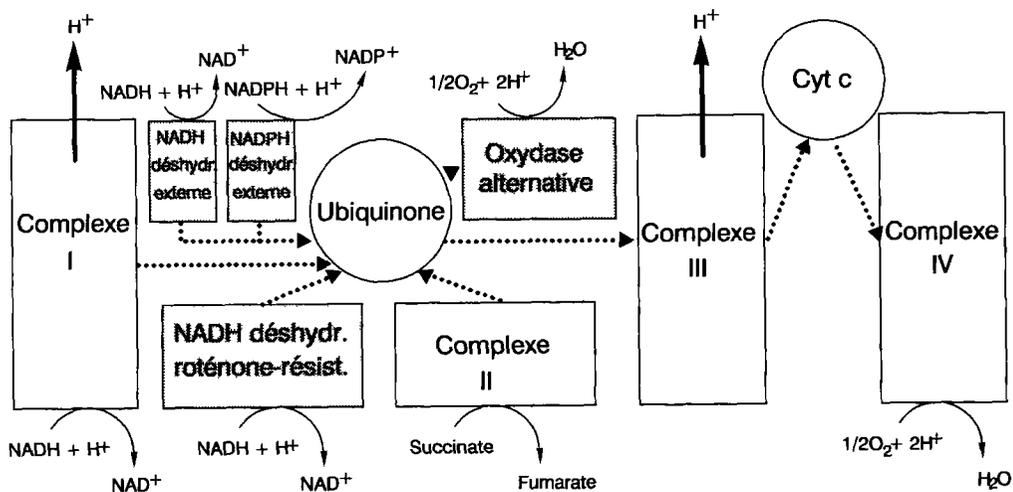
Comme chez les animaux, les mitochondries des plantes contiennent quatre complexes (I-IV, voir figure 8.2) insérés dans la membrane interne mitochondriale et impliqués dans le transfert d'électrons, et un cinquième complexe membranaire synthétisant de l'ATP.

Les complexes I et II transfèrent des électrons respectivement du NADH et du succinate vers l'ubiquinone. Le complexe III transfère des électrons de l'ubiquinol (l'ubiquinone réduite) vers le cytochrome c. Enfin le complexe IV, appelé aussi complexe cytochrome c oxydase, transfère les électrons du cytochrome c à l'oxygène, accepteur final. L'ubiquinone et le cytochrome c sont des molécules mobiles dans la phase hydrophobe membranaire et jouent le rôle de navettes d'électrons entre les complexes multiprotéiques oxydo-réducteurs. La dépréciation énergétique des électrons est accompagnée de l'extrusion de protons de la matrice mitochondriale vers l'espace intermembranaire, au niveau des complexes I et III. La différence de potentiel électrochimique du proton de part et d'autre de la membrane interne mitochondriale permet de coupler le retour du proton de l'espace intermembranaire vers la matrice à une synthèse d'ATP. Cette différence de potentiel électrochimique des protons a une composante électrique, liée à un déséquilibre des charges de part et d'autre de la membrane, et une composante osmotique, liée au gradient de concentration en protons. Telle que formulée par Mitchell dans sa théorie chimiosmotique, la force proton-motrice Δp représente cette différence de potentiel électrochimique divisée par la constante de Faraday et est décrite par la relation :

$$\Delta p = \Delta \psi - 2,3 \frac{RT}{F} (\Delta \text{pH})$$

(R , constante des gaz parfaits ; F , constante de Faraday ; T , température absolue ; $\Delta\psi$, différence de potentiel électrique transmembranaire ; ΔpH , variation de pH).

La mitochondrie végétale présente des particularités remarquables sous la forme de complexes oxydoréducteurs membranaires supplémentaires par rapport aux mitochondries animales (figure 8.2).



Matrice

Figure 8.2. Organisation des chaînes transporteurs d'électrons dans la membrane interne d'une mitochondrie végétale. Les complexes protéiques absents des mitochondries animales sont représentés en grisé. Les flèches en pointillé indiquent les parcours des électrons. Abréviations : NAD(P)H déshydr., NAD(P)H déshydrogénase ; Cyt c, cytochrome c.

Tout d'abord une NADH-ubiquinone oxydoréductase distincte du complexe I par son insensibilité à la roténone a été identifiée. Sur le plan fonctionnel, cette oxydoréductase ne couple pas le transfert électronique vers l'ubiquinone à une extrusion de protons, contrairement au complexe I. Ensuite, deux complexes faisant apparemment face à l'espace intermembranaire sont capables de transférer les électrons des cofacteurs réduits NADH pour l'un, NADPH pour l'autre vers le pool d'ubiquinone. Ces activités contrastent avec le complexe I par l'oxydation de cofacteurs réduits du cytosol et non de la matrice mitochondriale, et à nouveau par l'absence d'extrusion protonique associée à leurs activités redox. Enfin, une "oxydase alternative", faisant apparemment face elle aussi à l'espace intermembranaire, transfère les électrons de l'ubiquinol à l'oxygène moléculaire en court-circuitant les complexes III et IV. La mitochondrie végétale est donc capable de consommation d'oxygène sans faire appel aux cytochromes. Cette voie alternative étant insensible au cyanure, inhibiteur de la cytochrome c oxydase, elle est fréquemment évoquée sous l'appellation de voie "résistante au cyanure". Par ailleurs, cette voie est spécifiquement bloquée par l'acide salicylhydroximique (SHAM) et elle est donc parfois appelée voie sensible au SHAM. Thème récurrent, l'activité de l'oxydase alternative découple le transfert des électrons de l'ubiquinol à l'oxygène de l'extrusion de protons, opéré par le complexe III de la voie des cytochromes.

4.4.2. Substrats importés dans la mitochondrie et cycle de Krebs

Comme dans les cellules animales, le pyruvate est un substrat respiratoire important et gagne la matrice via un transporteur spécifique. Le malate est un substrat majeur dans la cellule végétale, contrairement aux systèmes animaux. Le malate est synthétisé dans le cytosol à partir du phosphoénolpyruvate (PEP) dérivé de la glycolyse, converti en oxaloacétate par carboxylation (intervention de la PEP-carboxylase) lui-même réduit en malate par la malate déshydrogénase utilisant le cofacteur NADH. Le malate est introduit dans la matrice mitochondriale grâce à un transporteur spécifique. Le transport est électroneutre grâce au passage d'un orthophosphate en sens opposé. Dans la matrice mitochondriale, le malate peut gagner directement le cycle de Krebs ou être décarboxylé en pyruvate par l'enzyme malique à NAD^+ , rencontré chez toutes les mitochondries végétales. Cet enzyme permet donc au cycle de Krebs de tourner même en l'absence de pyruvate importé du cytosol et d'utiliser spécifiquement le malate comme substrat respiratoire. Cet acide dicarboxylique est stocké dans les vacuoles de nombreux végétaux et pas uniquement chez les plantes à métabolisme de type CAM.

La glycine, produit de la photorespiration, représente un substrat respiratoire additionnel chez les végétaux. Les modalités d'entrée de la glycine dans la mitochondrie (diffusion simple ou importation contrôlée par des transporteurs spécifiques) restent une question ouverte. Une fois dans la matrice, la glycine subit une décarboxylation oxydative qui fournit du NADH à la chaîne transporteuse d'électrons. La photorespiration fait l'objet du chapitre 7 du présent ouvrage, auquel le lecteur peut se référer pour plus de détails.

Quant aux enzymes du cycle de Krebs, peu d'entre elles ont été spécifiquement étudiées chez les végétaux. Quelques différences ont pu être relevées par rapport aux systèmes animaux (comme la production d'ATP plutôt que de GTP par la succinyl-CoA ligase ou l'absence d'inhibition de l'isocitrate déshydrogénase par l'ATP chez les plantes contrairement aux animaux), mais les données sont trop fragmentaires pour dégager des conclusions générales sur le fonctionnement du cycle chez les plantes comparativement aux autres systèmes.

4.4.3. Contrôle de la respiration

Deux niveaux de contrôle sont classiquement envisagés : un contrôle par les adénylates et un contrôle par les substrats.

L'ATP étant le principal pourvoyeur d'énergie chimique sous forme de liens phospho-anhydrides, l'évolution des concentrations en adénylates est un indicateur du statut énergétique de la cellule, du tissu ou de l'organe. Les concentrations mesurées des différents types (ATP, ADP, AMP) dépendent de leurs taux de production et de consommation au niveau d'un nombre considérable de réactions, ainsi que de l'activité de l'enzyme réversible adénylate kinase ($\text{ATP} + \text{AMP} \leftrightarrow 2 \text{ADP}$) maintenant les concentrations en adénylates dans des rapports de concentration proches de ceux définis par la constante d'équilibre. Atkinson a proposé le concept de "charge énergétique des adénylates" (CEA) exprimé par le rapport :

$$\text{CEA} = \frac{[\text{ATP}] + 0,5 [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

et qui représente le degré relatif de saturation des adénylates en liens phospho-anhydrides. Les activités enzymatiques peuvent être mesurées en fonction des valeurs de CEA. Plusieurs activités semblent ainsi répondre au statut des adénylates : des en-

zymes participant à la production d'ATP travaillent activement pour des valeurs basses de CEA, tandis que des voies consommatrices d'ATP sont peu actives à ces mêmes valeurs. L'utilisation de ce concept qui postule que les liens phospho-anhydrides de l'ATP et de l'ADP sont équivalents n'est justifiée que dans la situation de quasi-équilibre entre les concentrations en adénylates, permise par l'adénylate kinase. Appliqué à des cas concrets de régulation de voies métaboliques, ce concept peut s'avérer peu manipulable. En particulier le compartimentage exceptionnellement complexe de la cellule végétale (figure 8.3) complique singulièrement le calcul des concentrations en adénylates dans un compartiment donné ainsi que l'étude de la distribution des activités adénylate kinases. De telles activités ont d'ores et déjà été démontrées dans le stroma chloroplastique et dans l'espace intermembranaire mitochondrial (susceptible de créer une situation de quasi-équilibre dans le cytosol), mais pas dans la matrice mitochondriale. En conséquence, il y a un sens à appliquer la notion de régulation par la CEA à l'enzyme glycolytique phosphofructokinase mais pas à l'enzyme respiratoire pyruvate déshydrogénase, pour laquelle des adénylates ou des rapports entre adénylates précis peuvent néanmoins intervenir.

Devant la difficulté de cette approche réductionniste qui tente d'identifier des enzymes régulatrices par leur aptitude à répondre aux concentrations en adénylates, peut-on présenter des arguments en faveur d'un contrôle *in vivo* de la respiration par ces molécules ?

La réponse est affirmative et repose en particulier sur l'utilisation d'agents découplants (DNP, CCCP, FCCP), des protonophores qui permettent le transfert de protons de l'espace intermembranaire vers la matrice mitochondriale en absence de synthèse d'ATP. Lors de tels traitements, le débit électronique de la chaîne mitochondriale augmente typiquement, indiquant qu'en absence de traitement, l'ATP synthétisé par couplage limite le flux électronique. L'utilisation d'inhibiteurs spécifiques des différentes voies (des cytochromes et alternative) suggère que le contrôle est exercé principalement au niveau du complexe I (NADH-ubiquinone oxydo-réductase). De plus, en condition physiologique de demande accrue en ATP, la respiration augmente typiquement : dans des organes incubés dans des solutions salines, la stimulation de la respiration fait face à la consommation accrue d'ATP par les transports ioniques actifs.

La respiration est également contrôlée par le niveau de ses substrats. Divers travaux font état d'une corrélation positive entre le contenu en sucres non structuraux d'un organe et son activité respiratoire. L'observation banale de la stimulation de la croissance par l'augmentation de la photoassimilation (par optimisation de l'illumination et de la pression partielle en CO₂) indique que les substrats produits stimulent les catabolismes oxydatifs qui soutiennent cette croissance. Les mécanismes en cause sont toutefois rarement évoqués. Une régulation simple par effet de masse est suggérée, mais l'observation selon laquelle le saccharose stimule l'expression de gènes multiples codant pour des enzymes et des protéines de réserve chez les plantes permet de penser qu'une régulation métabolique de la synthèse d'enzymes glycolytiques et respiratoires pourrait intervenir.

4.4.4. Biogenèse de la mitochondrie

Comme le chloroplaste, la mitochondrie a un ancêtre endosymbiotique eubactérien, que l'on a identifié proche des bactéries pourpres. Le génome actuellement présent dans les mitochondries est le fruit d'une longue évolution subséquente, peu comprise et très différente selon les groupes phylogéniques.

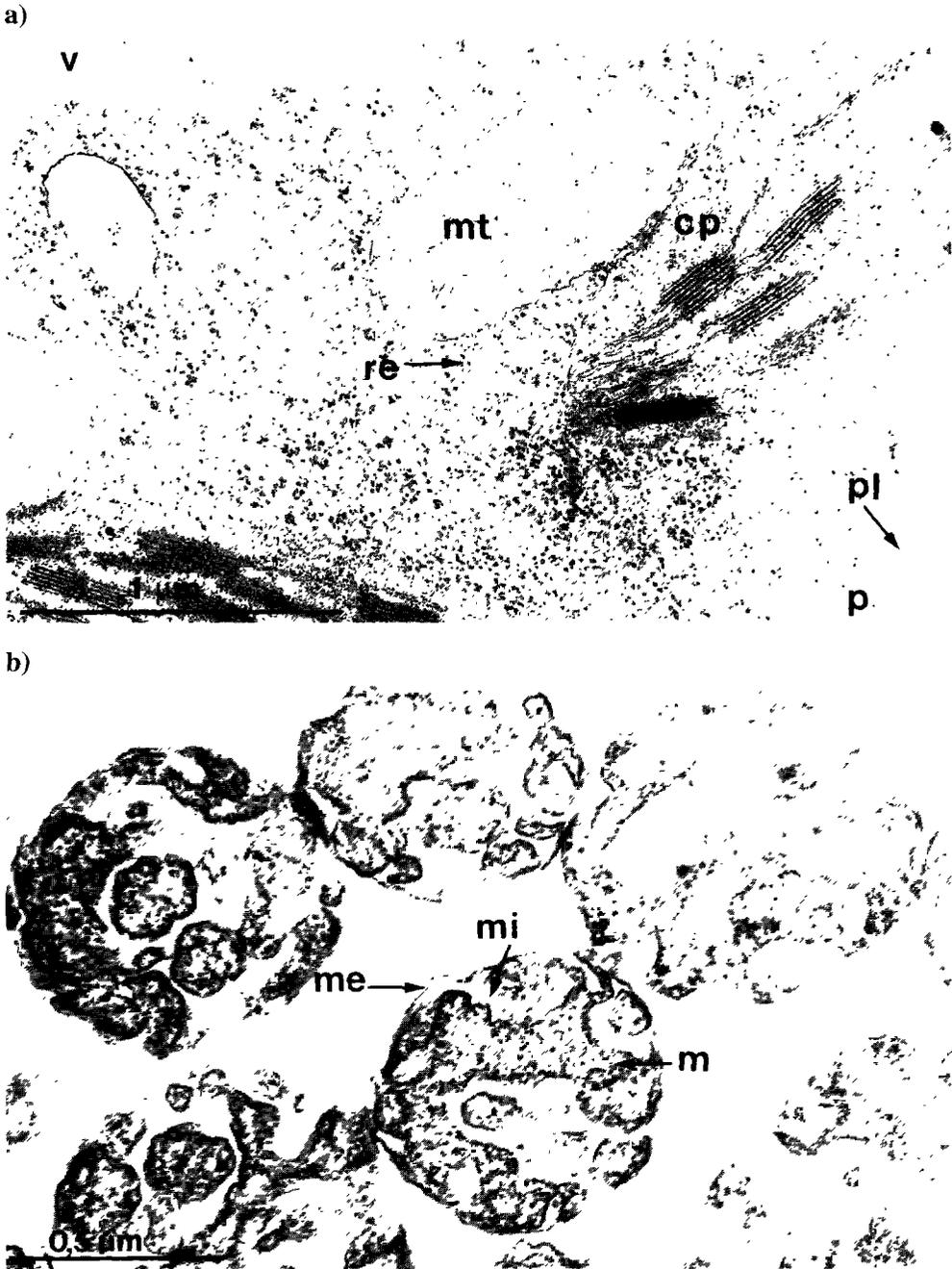


Figure 8.3 a. Coupe de feuille de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (grossissement 46 000 fois). Les mitochondries sont identifiables aux crêtes formées par invagination de la membrane interne. mt, mitochondrie ; cp, chloroplaste ; v, vacuole ; re, reticulum endoplasmique ; pl, plasmalemme , p, paroi pecto-cellulosique. Le trait représente 1 μm b. Mitochondries isolées de tubercules de pomme de terre (*Solanum tuberosum* L.) par des cycles multiples de centrifugation. La micrographie (grossissement 66 000 fois) présente une fraction obtenue après centrifugation dans un gradient de Percoll. me, membrane externe ; mi, membrane interne ; m, matrice. Le trait représente 0,5 μm.

Source : Les deux micrographies ont été aimablement fournies par J. Gerard et P. Dizengremel (Laboratoire de physiologie végétale et forestière, université de Nancy I).

Plantes et animaux contrastent par la présence chez les premières d'un génome mitochondrial de taille hétérogène et généralement grande (200 – 2 000 kb) et chez les seconds d'un génome mitochondrial de petite taille (< 40 kb). Cette différence de taille n'est toutefois pas expliquée par un nombre de gènes très différent. Des mitochondries végétales synthétisent *in vitro* une vingtaine de polypeptides, un peu plus que les mitochondries animales. La différence de taille considérable est expliquée par l'abondance des régions non codantes, intergéniques et introniques chez les plantes, contrastant avec une organisation compacte des unités codantes dans les chromosomes mitochondriaux animaux.

Le mode d'expression de l'ADN mitochondrial végétal est d'une complexité rarement égalée. Les régions non codantes intergéniques sont fréquemment transcrites et un jeu complexe de mécanismes post-transcriptionnels conduit aux ARN fonctionnels. Les introns sont fréquents ; leur excision repose sur des mécanismes peu définis mais l'encodage de protéines de type maturases par ces mêmes introns, nécessaires à l'épissage, ainsi que l'existence d'activités ribosomiques conférant aux introns des capacités autocatalytiques *in vitro* sont proposés sur base d'analogies avec l'ADN mitochondrial de levure. Le trans-épissage, produisant des ARN fonctionnels par ligations de deux produits d'unités transcriptionnelles indépendantes a été démontré dans la mitochondrie végétale. Par ailleurs, une activité correctrice des ARN ("*editing*"), définie par des substitutions de nucléotides au niveau de l'ARN après sa synthèse (la conversion C → U étant le cas le plus fréquent) intervient en des sites précis de la molécule et diversifie encore la population des ARN mitochondriaux.

Parmi les gènes identifiés dans l'ADN mitochondrial figurent des séquences codant pour des protéines de la chaîne respiratoire (des sous-unités des complexes I, III, IV, V) et pour des composantes de la machinerie d'expression génétique (des ARN ribosomiques et de transfert, des protéines ribosomiques). Et le reste ? La majorité des protéines mitochondriales est en définitive codée par l'ADN nucléaire. Synthétisées par les ribosomes libres du cytosol, les protéines gagnent la mitochondrie grâce à des signaux d'adressage amino-terminaux spécifiquement reconnus par des récepteurs en surface de la mitochondrie. Des protéines cytosoliques assistent le processus d'importation. D'autres, mitochondriales, permettent le repliement correct du polypeptide après son entrée. Après importation, l'extension amino-terminale portant le signal d'adressage est clivée.

5. VERS UNE INTERPRÉTATION PHYSIOLOGIQUE DES PARTICULARITÉS VÉGÉTALES

Les descriptions qui précèdent ont mis en lumière la complexité particulière des plantes au niveau de fonctions métaboliques pourtant largement partagées par les êtres vivants. Cette complexité réside tantôt dans la duplication des voies métaboliques dans des compartiments distincts, tantôt dans des voies alternatives à l'intérieur d'un même compartiment. Afin de tenter une explication physiologique de cette complexité, deux pistes de réflexion sont proposées : l'une relative à l'imbriication des voies catabolique et anabolique chez les plantes aux capacités biosynthétiques très diversifiées, l'autre relative aux capacités homéostatiques remarquablement développées par les végétaux supérieurs.

5.1. Catabolisme et anabolisme sont indissociables

Glycolyse, voie oxydative des pentoses-phosphates et cycle de Krebs sont des boulevards métaboliques supportant un intense trafic de molécules. Toutefois, de multiples voies connectées délestent ces axes majeurs et conduisent les modules carbonés vers des parcours biosynthétiques plus ou moins ramifiés. Il est important de voir le catabolisme non seulement comme un ensemble d'événements conduisant à libérer de l'énergie mais aussi comme la source des précurseurs carbonés soutenant toutes les biosynthèses. Le prélèvement de ces précurseurs peut avoir lieu *précoce-ment* comme celui des pentoses-phosphates précurseurs des nucléotides, du coenzyme A ou des cytokinines, ou *tardivement*, comme celui de l'acétyl-CoA précurseur des acides gras, des stérols et des caroténoïdes. Ce sont des intermédiaires du cycle de Krebs, l' α -cétoglutarate et l'oxaloacétate, dont l'amination produit respectivement le glutamate et l'aspartate, clés de voûte de l'assimilation de l'azote. On peut aligner de nombreux exemples.

Les végétaux présentent en outre une profusion de biosynthèses dites secondaires, difficiles à définir, mais généralement considérées comme annexes aux biosynthèses (dites primaires) directement impliquées dans la croissance et le développement. Typiquement des alcaloïdes dérivés d'acides aminés protègent les plantes d'herbi-

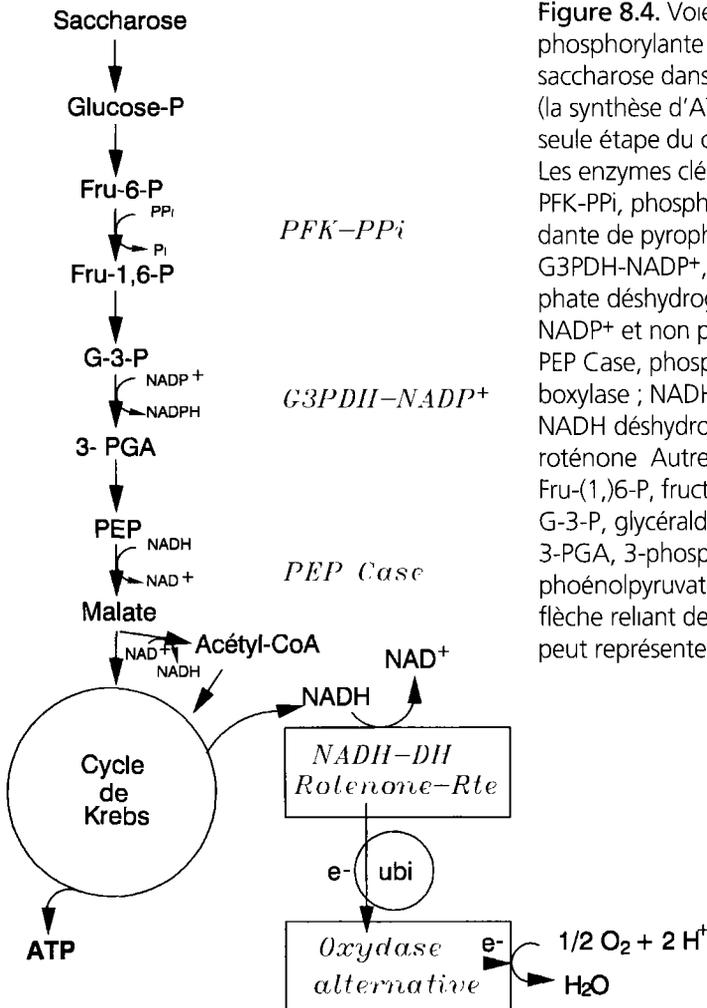


Figure 8.4. Voie alternative non phosphorylante de l'oxydation du saccharose dans une cellule végétale (la synthèse d'ATP est limitée à une seule étape du cycle de Krebs). Les enzymes clés de cette voie sont : PFK-PPi, phosphofructokinase dépendante de pyrophosphate inorganique ; G3PDH-NADP⁺, glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase dépendante de NADP⁺ et non phosphorylante , PEP Case, phosphoénolpyruvate carboxylase ; NADH-DH Roténone-Rte, NADH déshydrogénase résistante à la roténone. Autres abréviations : Fru-(1,6)-P, fructose-(1,6)-bisphosphate ; G-3-P, glycéraldéhyde-3-phosphate ; 3-PGA, 3-phosphoglycérate ; PEP, phosphoénolpyruvate ; ubi, ubiquinone. Une flèche reliant deux métabolites peut représenter une suite de réactions.

vores ; les pyréthroïdes, insecticides naturels, sont des dérivés terpéniques de l'acétyl-CoA ; enfin, de nombreux dérivés phénoliques interviennent dans les relations des plantes avec leur biocénose. Les alcaloïdes, les composés terpéniques et phénoliques dérivent tous indirectement de métabolites prélevés des voies oxydatives. Il est donc simplificateur de raisonner sur la signification physiologique des voies oxydatives en considérant la demande énergétique comme référentiel unique.

Les voies alternatives glycolytiques et respiratoires forment une chaîne métabolique capable d'oxyder complètement les hexoses-phosphates sans faire intervenir un seul adénylate (figure 8.4). La cellule végétale peut donc débrayer les régulations exercées par ceux-ci en tant que substrats de réaction et qu'effecteurs allostériques. Le dogme de l'ajustement du catabolisme à la demande énergétique (par l'intermédiaire des adénylates) est donc mis à mal par cette voie. S'il est d'observation courante qu'une augmentation de la demande énergétique stimule la synthèse d'ATP par phosphorylation oxydative, inversement une cellule peut entretenir un flux catabolique important dans des conditions de faible demande énergétique. Ce flux est susceptible d'alimenter les nombreuses biosynthèses. Il n'en demeure pas moins que l'utilisation prolongée des précurseurs carbonés dans de nouvelles biosynthèses ne peut se faire sans un apport significatif d'énergie (donc sans production d'ATP) et c'est probablement dans des situations transitoires de contraintes abiotiques que les voies alternatives prennent une importance particulière.

5.2. Voies alternatives et homéostasie cellulaire

Intuitivement, l'existence d'une redondance métabolique est perçue comme avantageuse pour des végétaux qu'une existence sédentaire expose à un environnement fluctuant et souvent stressant, en leur fournissant une flexibilité accrue. L'observation renforce cette hypothèse.

- Premier exemple : la voie indépendante des adénylates est activée par une carence en phosphore. Elle permet d'entretenir l'oxydation des substrats en la découplant d'une consommation de phosphate. Elle évite l'enrayement du cycle de Krebs ainsi que l'inhibition rétroactive de la photosynthèse par une chute de la métabolisation des substrats au niveau des puits métaboliques. Sans résoudre durablement le problème de carence, la voie alternative permet de "débrayer le moteur" plutôt que de simplement le couper.
- Deuxième exemple : au niveau de la glycolyse, la phosphorylation du fructose-6-P en fructose-1,6-biphosphate est catalysée par une phosphofructokinase ATP-dépendante ou par une phosphofructokinase pyrophosphate-dépendante. En conditions anaérobies, la deuxième activité est nettement stimulée. L'ATP utilisé par la première voie est ainsi économisé dans ces conditions de réduction du rendement énergétique de l'oxydation des sucres.
- Troisième exemple : des températures basses (supérieures au point de congélation, le *chilling* des Anglo-Saxons) active la voie alternative résistante au cyanure chez plusieurs espèces végétales. Ce type de stress conduit à la production de radicaux libres (superoxydes et peroxydes d'hydrogène) responsables de la désintégration de membranes et de l'attaque de diverses macromolécules. Ces radicaux libres sont produits lorsque le débit électronique est freiné dans la chaîne mitochondriale phosphorylante. La voie alternative, en transférant directement les électrons de l'ubiquinol à l'oxygène, limite la production des radicaux libres. Cette voie est activée par les températures basses, et des différences variétales dans la résistance au

froid ont pu être corrélées avec une plus ou moins grande capacité à aiguiller les électrons vers la voie indépendante des cytochromes. Les radicaux libres étant un dénominateur commun à de nombreux stress abiotiques, la portée adaptative de la voie mitochondriale alternative dépasse la problématique de la résistance au froid.

- Quatrième exemple : l'infection de tubercules de pommes de terre par une race incompatible de *Phytophthora infestans* conduit à la biosynthèse de phytoalexines du groupe des sesquiterpénoïdes. Le blocage de la voie alternative par un inhibiteur spécifique (le SHAM) inhibe cette biosynthèse. Si les liens de causalité éventuels sont peu compris, ceci suggère que les réactions des plantes aux contraintes biotiques peuvent elles aussi reposer partiellement sur ces voies alternatives.

6. LA RESPIRATION DIMINUE-T-ELLE LES RENDEMENTS CULTURAUX ?

A capacités photosynthétiques égales, il arrive que des génotypes comparés entre eux révèlent une corrélation négative entre taux de croissance et taux de respiration. Sur la base de ces observations, l'utilisation empirique du taux de respiration comme critère de sélection en amélioration des plantes a pu conduire à une augmentation significative du rendement cultural. Le cas le mieux documenté est celui du ray-grass (*Lolium perenne*), où un gain de biomasse de 10-20 % est corrélé avec une baisse de la respiration foliaire dans des proportions similaires. L'hypothèse sous-jacente est que la respiration gaspille une part des assimilats photosynthétiques, mais les bases physiologiques précises n'ont pas été étudiées. Parmi les mécanismes potentiels de gaspillage énergétique, l'activité de l'oxydase alternative est une cible idéale.

Ces travaux et hypothèses attirent plusieurs remarques. Tout d'abord, ces corrélations sont parfois limitées à des organes précis : les feuilles à maturité mais pas les méristèmes foliaires ni les racines dans le cas de *L. perenne*. Il n'est donc pas justifié d'appliquer arbitrairement ce critère à un organe quelconque dans un programme de sélection. De plus, des travaux récents affinant la relation entre respiration et rendement chez cette même graminée révèlent que deux génotypes exprimant une différence de taux de respiration et de rendement ne contrastent sur ce dernier point que pour une densité de végétation élevée. Lorsque le semis est réalisé à faible densité, aucune différence de rendement n'est relevée et la corrélation respiration-rendement est perdue. Ceci signifie qu'il n'y a pas de lien causal direct entre respiration et rendement chez cette espèce et que les corrélations éventuellement utiles dans un programme de sélection ne s'expriment que dans un contexte bien déterminé.

Par ailleurs, la perception négative de la chaîne mitochondriale non phosphorylante, gaspilleuse d'énergie par excellence, est très relative. Son intérêt homéostatique et adaptatif a été souligné précédemment. En atténuer l'activité peut être justifié dans l'optique d'une maximisation du rendement potentiel (avec les réserves exposées), mais beaucoup moins dans celle d'une stabilisation du rendement.

BIBLIOGRAPHIE

- Boyer C. D., Shannon J.C., Hardison R.C. (1989), "Physiology, Biochemistry, and Genetics of Nongreen Plastids, Current Topics in Plant Physiology", *An American Society of Plant Physiologists Series*, Vol. 2, Rockville.
- Dennis D.T., Turpin D.H. (1990), *Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*, Longman Scientific & Technical, Singapore.
- Douce R. (1985), *Mitochondria in Higher Plants*, Academic Press, Orlando.
- Emes M.J. (1991), "Compartmentation of Plant Metabolism in Non-Photosynthetic Tissues", *Society for Experimental Biology Seminar Series*, Vol. 42, Cambridge University Press, Cambridge.
- Grau M. W., Covello P.S. (1993), "RNA editing in plant mitochondria and chloroplasts", *FASEB J.*, **7** : 64-71.
- Hrazdina G. (1992), "Spatial organization of enzymes in plant metabolic pathways", *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **43** : 241-267.
- Kraus E., Aydemir Y., Duin S., Kollofel C., Lambers H. (1993), "Yield advantage of a 'slow-' over a 'fast-' respiring population of *Lolium perenne* cv. S23 depends on plant density", *New Phytol.*, **123** : 39-44.
- Laties G.G. (1982), "The cyanide-resistant, alternative path in higher plant respiration", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **33** : 519-555.
- Levings III C.S., Brown G.G. (1989), "Molecular biology of plant mitochondria", *Cell*, **56** : 171-179.
- Moller I.M., Lin W. (1986), "Membrane-bound NAD(P)H dehydrogenases in higher plant cells", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **37** : 309-334.
- Pradet A., Raymond P. (1983), "Adenine nucleotide ratios and adenylate energy charge in energy metabolism", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **34** : 199-224.
- Purvis A.C., Shewfelt R.L. (1993), "Does the alternative pathway ameliorate chilling injury in sensitive plant tissues ?", *Physiol. Plant.*, **88** : 712-718.
- Rawn J. D. (1990), *Traité de biochimie*, De Boeck Université, Bruxelles.
- Richter G. (1993), *Métabolisme des végétaux*, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.
- Taiz L., Zeiger E. (1991), *Plant Physiology*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Redwood City.
- Theodorou M.E. , Plaxton W.C. (1993), "Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation", *Plant Physiol.*, **101** : 339-344.
- Walker J.C., Llewellyn D.J., Mitchell L.E., Dennis E.S. (1987), "Anaerobically regulated gene expression ; molecular adaptation of plants for survival under flooded conditions", *Oxford Surveys Plant Mol. & Cell Biol.*, **4** : 71-93.

Chapitre 9

TRANSLOCATION ET RELATIONS SOURCE-PUITS

Dominique Michaud et Serge Yelle

Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation,
Université Laval, Québec, Canada

Sommaire

1. L'anatomie du phloème

- 1.1. Les éléments de tubes criblés
- 1.2. Les cellules compagnes
- 1.3. Les plasmodesmes

2. La translocation des assimilats

- 2.1. Les solutés transportés dans le phloème
- 2.2. Le transport intercellulaire des assimilats dans la feuille
- 2.3. Le chargement du phloème
- 2.4. Le transport des assimilats dans le phloème
- 2.5. Le déchargement du phloème

3. La répartition des assimilats dans la plante

- 3.1. Les règles de répartition
- 3.2. Les points de contrôle de la répartition

4. Les effets du milieu sur la translocation

- 4.1. L'effet de la température
- 4.2. L'effet de l'oxygène
- 4.3. Autres facteurs d'influence

5. Aspects agronomiques de la translocation

Bibliographie

TRANSLOCATION ET RELATIONS SOURCE-PUITS

La nature complexe d'une plante vasculaire, constituée d'un ensemble d'organes et de tissus fonctionnels spécialisés, nécessite la présence d'un système de liaison intégré permettant l'établissement de relations dynamiques entre ses diverses composantes. Ainsi, un organe de réserve est utile dans la mesure où les produits qui y sont accumulés peuvent être exportés, au moment opportun, vers des tissus en croissance. De même, le rôle fonctionnel des tissus photosynthétiques est complété lorsque les photo-assimilats sont distribués vers des tissus où ils sont métabolisés ou mis en réserve. Outre les substances nutritives, divers métabolites doivent aussi être transportés d'un organe à l'autre. C'est le cas, notamment, des régulateurs de croissance, dont le site d'action est souvent éloigné de leur site de synthèse.

Si le déplacement des solutés d'une cellule à l'autre peut être expliqué par les phénomènes de diffusion, de cyclose et de transport membranaire actif, leur déplacement sur de plus grandes distances implique quant à lui la mise en jeu d'un système étendu, rapide et efficace. Le processus de **translocation**, par lequel des solutés sont transportés et distribués d'un organe à l'autre, est permis par la présence d'un tissu vasculaire complexe, le **phloème**. Ce tissu, constitué de cellules adaptées au transport des solutés, forme un vaste réseau qui atteint chaque tissu de la plante. Ainsi, les organes producteurs de métabolites, les **organes-sources**, peuvent alimenter les organes qui utilisent ces métabolites, les **organes-puits**. La translocation des assimilats permet donc aux divers organes-puits, comme les organes en croissance, les organes reproducteurs et les organes souterrains, de maintenir un taux métabolique adéquat, nécessaire à leur bon développement. De même, l'accumulation de réserves, qui survient dans plusieurs tissus et organes, est rendue possible par une translocation préalable des assimilats à partir des organes-sources, principalement des feuilles parvenues à maturité.

Le présent chapitre s'attardera aux divers aspects relatifs à la translocation des assimilats et aux relations qui s'établissent entre les organes-sources et les organes-puits chez une plante à fleurs. Après une brève revue de l'anatomie du phloème, les étapes du transport des assimilats de la source au puits seront considérées. Cette étude sera suivie d'un survol des règles qui régissent les interactions source-puits, et d'une étude des principaux facteurs environnementaux qui influencent la translocation. Enfin, des considérations agronomiques seront présentées au sujet d'une implication potentielle du processus de translocation sur le rendement des cultures.

1. L'ANATOMIE DU PHLOÈME

Les premières études anatomiques du phloème, qui démontraient l'existence de cellules spécialisées pour le transport des solutés, datent du milieu du XIX^e siècle. Or, malgré la réalisation de nombreux travaux depuis ce temps au sujet de la structure du phloème, les progrès dans ce domaine ont été relativement lents. La struc-

ture même du tissu rend l'expérimentation difficile. D'abord, les cellules de transport sont petites et les vaisseaux formés par ces cellules sont microscopiques. Ensuite, au-delà de la faible dimension de ses composantes, le phloème est, du point de vue expérimental, d'une fragilité extrême. Les hautes pressions internes qui caractérisent ce tissu provoquent, au moment de son prélèvement à des fins expérimentales, une sortie spontanée des fluides qui s'y trouvent, ce qui engendre des bris cellulaires considérables. Néanmoins, la détermination des expérimentateurs et le développement récent de techniques plus adaptées ont permis l'obtention de renseignements précieux au sujet de la structure de ce tissu. Ainsi, bien que des connaissances anatomiques supplémentaires soient encore nécessaires pour une meilleure compréhension de son fonctionnement, la structure de base du phloème est maintenant bien connue.

L'**élément de tube criblé** (ETC) constitue, avec la **cellule compagne**, l'unité fonctionnelle de base du tissu. Disposés en files longitudinales, les ETC forment les **tubes criblés**, qui établissent le réseau conducteur du phloème, associé à tous les tissus de la plante. Les cellules compagnes, en relation physiologique étroite avec les ETC, sont caractérisées par un taux d'activité métabolique élevé, et semblent très actives au niveau des processus actifs liés à la translocation. Outre les deux types cellulaires mentionnés ci-avant, le phloème comporte aussi des fibres et des cellules parenchymateuses. Les premières, à paroi lignifiée, sont des cellules rigides qui servent de support physique au phloème. Les secondes, de forme légèrement allongée, sont disposées parallèlement à l'axe de la plante, comme les autres cellules du tissu, ou perpendiculairement à ces cellules. Dans le dernier cas, elles forment les rayons du phloème, qui sont en continuité topographique avec ceux du xylème. De plus, les cellules de parenchyme accumulent des réserves d'amidon et

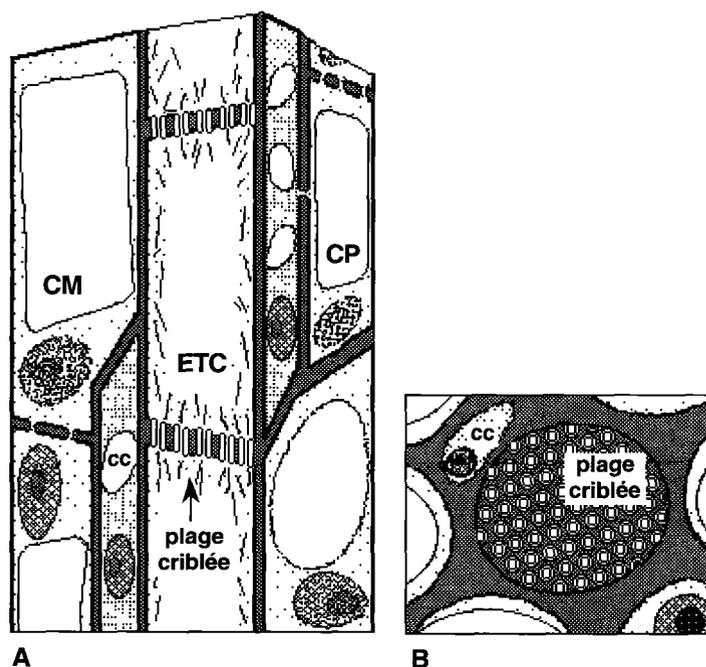


Figure 9.1. Organisation générale du phloème d'un angiosperme. **A.** Aspect du tissu en coupe longitudinale. **B.** Aspect d'une plage criblée en coupe transversale : les pores de la plage criblée sont entourés de callose (cercles blancs). CC : cellule compagne ; CM : cellule du mésophylle ; CP : cellule de parenchyme ; ETC : élément de tube criblé.

semblent jouer un rôle dans la translocation, à titre d'intermédiaires cellulaires pour les assimilats. Dans certains cas, elles fourniraient aussi de l'énergie pour les processus actifs associés à la translocation. La figure 9.1 schématise l'arrangement des ETC et des cellules compagnes dans le phloème ; les paragraphes qui suivent décrivent brièvement les principales caractéristiques de ces cellules et la nature des liens qui les unissent.

1.1. Les éléments de tubes criblés

De forme allongée, les ETC parvenus à maturité ont une longueur de 100 à 500 μm et un diamètre de 20 à 40 μm . En cours de différenciation, le noyau de ces cellules se désintègre, et la plupart des organites disparaissent. Aussi, le cytoplasme devient réduit et confiné à la périphérie de la cellule, ce qui provoque un arrêt permanent de la cyclose. Enfin, des aires percées de nombreux pores se forment aux extrémités des ETC, et constituent des **plages criblées**. Les pores de ces plages, d'un diamètre de 0,1 à 5 μm , permettent un mouvement rapide des assimilats d'un ETC à l'autre, tout au long du tube criblé. Ainsi, *la différenciation caractéristique des ETC les rend parfaitement adaptés à leur rôle premier, celui du transport des assimilats.*

Par ailleurs, les ETC sont munis de mécanismes de protection, par lesquels des substances s'accumulent au niveau des plages criblées et causent une obturation des pores dans les cellules soumises à un stress. Par exemple, une blessure physique, un agent pathogène ou des températures extrêmes peuvent engendrer une déposition de callose, un polymère de glucose, au niveau des pores des ETC affectés. L'obturation des pores peut être aussi causée par des molécules spécifiques aux ETC, les protéines-P. En situation de stress, ces protéines s'accumulent et forment un bouchon visqueux au niveau des plages criblées. La déposition des deux substances mentionnées limite considérablement l'entrée des solutés dans les ETC, ce qui permet un isolement efficace des cellules endommagées. Parallèlement à une adaptation fonctionnelle liée au transport des assimilats, *les ETC disposent donc de mécanismes de sûreté permettant le maintien de leur intégrité structurale par une restriction des dommages aux zones tissulaires directement touchées.*

1.2. Les cellules compagnes

A l'inverse des ETC, les cellules compagnes ont une activité métabolique élevée. De forme allongée, elles comportent un noyau et de nombreuses mitochondries. Le cytoplasme de ces cellules est dense, et les vacuoles y sont peu volumineuses. Au niveau ontogénique, le développement des cellules compagnes est étroitement lié à celui des ETC. D'abord, des études morphologiques ont démontré que les deux types cellulaires dérivent des mêmes cellules-mères. Ensuite, la mort d'une cellule compagne semble provoquer une perte de l'activité conductrice de l'ETC correspondant, et vice versa. Ainsi, le lien unissant les cellules compagnes aux ETC semble être à la fois ontogénique et fonctionnel. Selon plusieurs évidences expérimentales, les cellules compagnes produiraient l'énergie nécessaire au maintien structural des ETC et aux mécanismes actifs associés à la translocation. Elles seraient aussi des intermédiaires cellulaires pour les solutés au moment de leur inclusion aux ETC. A ce sujet, il convient de noter que chez certains groupes végétaux, notamment les légumineuses, la paroi des cellules compagnes montre de nombreuses invaginations, qui augmentent considérablement la surface de contact entre leur membrane plasmique et le milieu extracellulaire. Selon plusieurs études anatomo-

miques et physiologiques, ces cellules compagnes spécialisées, appelées **cellules de transfert**, permettraient une absorption accrue des assimilats par les cellules du phloème, et favoriseraient ainsi le processus de translocation.

1.3. Les plasmodesmes

Si les liens ontogéniques relatés ci-dessus suggèrent l'existence de relations étroites entre les cellules compagnes et les ETC, la présence d'un grand nombre de liens physiques entre ces cellules renforce aussi l'idée de telles relations. Ces liens physiques, appelés **plasmodesmes**, sont des structures anatomiques qui permettent un échange intercellulaire rapide des petits métabolites, comme les sucres simples et les régulateurs de croissance. Brièvement, les plasmodesmes sont des canaux cylindriques d'un diamètre approximatif de 40 nm, qui traversent la paroi et la membrane plasmique de deux cellules adjacentes sur une distance d'environ 90 nm. L'**annulus**, qui constitue la fraction cytoplasmique du plasmodesme, assure la continuité cytoplasmique d'une cellule à l'autre. Le **desmotubule**, situé au centre du plasmodesme, constitue pour sa part la fraction membranaire de cette structure, et permet des échanges entre les réticulums endoplasmiques des deux cellules, desquels il dérive. Il est à noter que les plasmodesmes se retrouvent dans la grande majorité des cellules de la plante, quoique à une densité moindre. Ils établissent ainsi un continuum entre les diverses composantes de l'organisme, ce qui est important, notamment, pour le transport des assimilats de la source au puits. La figure 9.2 illustre la structure de base d'un plasmodesme ; le desmotubule n'est toutefois pas toujours présent.

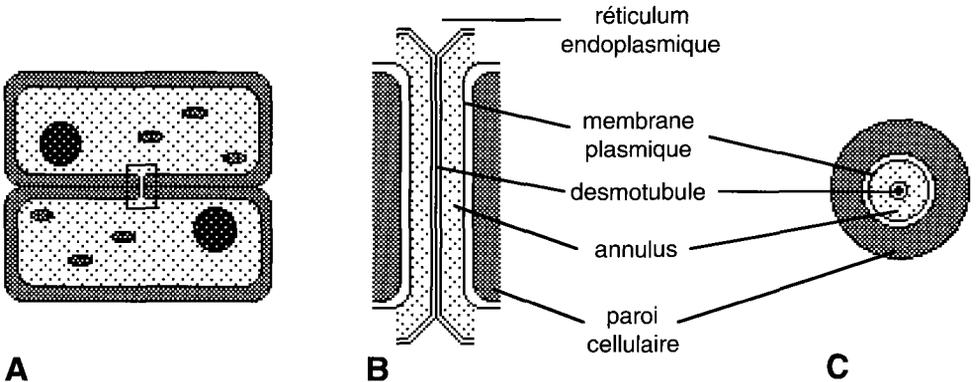


Figure 9.2. Aspect général d'un plasmodesme. A. Site de formation d'un plasmodesme, entre deux cellules adjacentes. B. Détail d'un plasmodesme en vue longitudinale. C. Détail d'un plasmodesme en vue transversale.

2. LA TRANSLOCATION DES ASSIMILATS

Le transport des assimilats, du lieu de leur synthèse à celui de leur utilisation dans un organe-puits, nécessite quatre étapes majeures. D'abord, ces assimilats sont amenés latéralement des cellules-sources aux cellules du phloème, par une voie apparemment intracellulaire. Ensuite, ils sont incorporés au phloème par un mécanisme actif et spécifique, puis transportés dans ce tissu en direction d'un organe-puits. Enfin, ils sont libérés du phloème et récupérés par les cellules de l'organe-

puits, où ils sont métabolisés ou mis en réserve. Après une brève revue des solutés transportés dans le phloème, les principales hypothèses émises au sujet des mécanismes associés à ces étapes du processus de translocation seront décrites dans cette partie 2.

2.1. Les solutés transportés dans le phloème

Les solutés transportés dans les cellules du phloème, qui constituent la fraction solide de la **sève élaborée**, peuvent être identifiés et caractérisés à partir d'un exudat de ce tissu, récolté en pratiquant une fine entaille dans l'écorce de la plante. Cependant, ce stress appliqué au tissu semble provoquer une accumulation de protéines-P dans les ETC affectés, ce qui freine rapidement le processus d'exudation. Aussi, l'exudat récolté est moins riche en solutés que la sève des ETC intacts, où une pression osmotique élevée a été mesurée. Cette dilution peut être expliquée par un phénomène d'osmose : les bris occasionnés par l'entaille provoquent un relâchement de la pression exercée dans le phloème, ce qui engendre une baisse du potentiel hydrique et crée ainsi un appel d'eau dans les cellules touchées. Les problèmes techniques liés à la méthode décrite précédemment ont toutefois été résolus par le développement d'une méthode élégante et efficace mise au point par J.S. Kennedy et T.E. Mittler en 1953. Cette méthode est basée sur le mode de nutrition du puceron, qui obtient les substances nutritives nécessaires à ses activités métaboliques par l'insertion de son stylet dans un ETC. Si, lors de l'insertion, l'insecte est endormi puis séparé de son stylet à l'aide d'une lame de rasoir, un canal d'exudation non dommageable au tissu est obtenu. Ainsi, le stylet, laissé en place, permet une récolte de sève de 1 à 2 $\mu\text{l/h}$ pendant plusieurs jours, sans accumulation apparente d'agents d'obturation au niveau de son point d'insertion. En outre, plusieurs études n'ont permis de déceler aucune influence de la salive de l'insecte sur la composition de l'exudat. Ainsi, bien qu'il demeure possible que des substances présentes dans les tissus adjacents soient incorporées dans le stylet au moment de son insertion dans l'écorce, la composition de l'exudat est généralement considérée similaire à celle de la sève du phloème intact.

La nature de la sève élaborée, visqueuse et légèrement alcaline, varie considérablement au cours du temps. D'abord, un cycle journalier est souvent associé à la teneur en solutés présents dans les ETC. A son plus haut niveau en fin de journée ou durant la nuit, cette teneur en solutés tend à être moins élevée en début de journée ; cette variation est expliquée par l'accumulation de sucres qui survient au cours de la journée en raison de l'activité photosynthétique des tissus chlorophylliens. Parallèlement à ce cycle journalier, la composition de la sève varie, aussi, sur une base saisonnière. Dans ce cas, les variations observées sont principalement associées au stade de développement des organes ou des tissus considérés. Ainsi, la croissance active des jeunes organes, en début de saison, est associée à une teneur élevée en composés azotés, nécessaires à leur bon développement. Aussi, une teneur accrue en composés divers est observée en fin de saison, où les métabolites des organes sénescents sont redistribués aux organes moins âgés.

Par ailleurs, en plus des variations temporelles, divers facteurs génétiques et environnementaux influencent la nature de la sève élaborée. Par exemple, certains acides aminés peuvent être retrouvés chez plusieurs espèces, et non chez d'autres ; de même, des facteurs externes, comme la nature du sol ou la disponibilité en éléments minéraux, peuvent engendrer des variations considérables. Néanmoins, des éléments constants ressortent quant à la composition de la sève élaborée. Ainsi, pour la plu-

part des espèces, les glucides constituent la majeure partie des solutés transportés. Ce fait était d'ailleurs prévisible, si l'on considère la structure moléculaire des tissus végétaux, basée principalement sur cette classe de composés. En outre, des acides aminés et des éléments minéraux sont présents en quantité significative dans les ETC. Plusieurs métabolites y sont retrouvés en quantité moindre, ou même à l'état de trace : c'est le cas, notamment, de certains composés à activité métabolique puissante ou spécifique, comme les régulateurs de croissance et les vitamines.

• **Les glucides transportés dans le phloème.** Les glucides simples, qui constituent environ 90 % des solutés transportés dans le phloème, y sont généralement retrouvés sous leur forme réduite, ce qui les rend peu réactifs et relativement résistants à l'hydrolyse. En outre, des analyses chromatographiques ont permis de déterminer le spectre glucidique de la sève élaborée. Le saccharose, synthétisé à partir des trioses-P produits lors du processus photosynthétique (figure 9.3), constitue de loin l'espèce moléculaire la plus abondante dans les ETC, pour la grande majorité des espèces. Formé par la condensation de deux monosaccharides phosphorylés, le fructose-P et le glucose-P, ce glucide est le premier composé non phosphorylé produit à la suite de la photosynthèse, et il constitue le squelette carboné à l'origine de tous les composés organiques retrouvés dans la plante. Aussi, ses propriétés physico-chimiques, en particulier sa neutralité électrochimique, son inertie chimique et sa grande solubilité en milieu aqueux, en font un composé idéal pour la translocation.

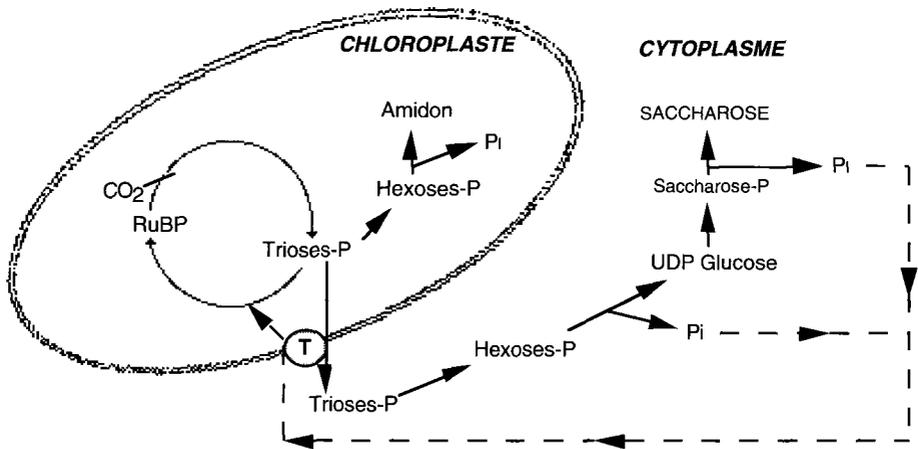


Figure 9.3. Voie de synthèse du saccharose à la suite du processus photosynthétique. P : groupement phosphaté ; Pi : phosphate inorganique ; T : transporteur membranaire.

Par ailleurs, d'autres oligosaccharides, notamment ceux de la famille du raffinose (figure 9.4), sont retrouvés régulièrement dans les ETC, quoique à des concentrations moindres. De même, des sucres-alcools, comme le mannitol et le sorbitol, sont retrouvés en quantité plus ou moins variable dans la sève élaborée. A ce sujet, il convient de souligner l'importance du sorbitol chez certaines rosacées, notamment le pommier, où ce sucre est retrouvé en plus grande quantité que le saccharose. Pour leur part, les monosaccharides semblent exclus des ETC, ce qui laisse supposer l'existence d'un quelconque mode de sélection lors de l'intégration des solutés aux tubes criblés. Cette exclusion des monosaccharides serait d'ailleurs utile, selon certains, lors de la sortie des solutés, au niveau de l'organe-puits (voir 2.5).

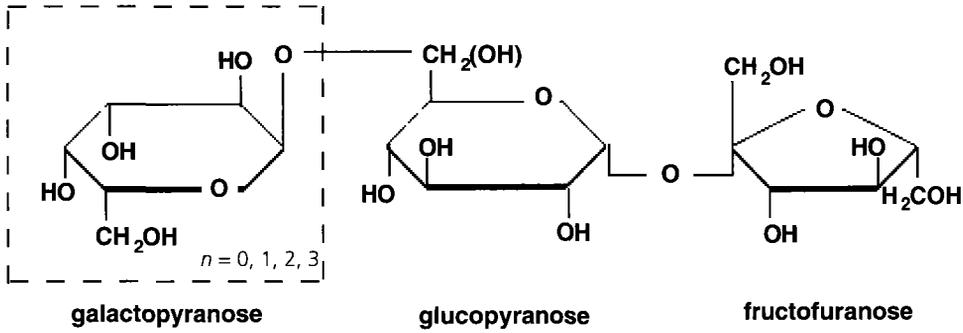


Figure 9.4. Structure de base des sucres du groupe *raffinose*. Saccharose : $n = 0$; raffinose : $n = 1$; sachyose : $n = 2$; verbascose : $n = 3$.

• **Autres solutés retrouvés dans le phloème.** Outre les glucides, les composés azotés et les éléments minéraux constituent les solutés les plus abondants de la sève élaborée. Les composés azotés, notamment nécessaires aux synthèses protéiques, sont généralement retrouvés sous forme d'amides, d'uréides ou d'acides aminés qui proviennent, dans plusieurs cas, des tissus sénescents, desquels ils sont exportés vers des zones tissulaires en croissance. Ainsi, comme il a été mentionné auparavant, la teneur en composés azotés dans les tubes criblés est déterminée par le stade de développement des organes concernés, lui-même lié aux variations climatiques saisonnières. Pour leur part, les éléments minéraux sont retrouvés en concentration plus importante dans le phloème que dans le xylème. Les organes-puits qui transpirent peu, comme les méristèmes, les fruits et les racines, peuvent ainsi obtenir les éléments inorganiques nécessaires au maintien de leur activité métabolique, généralement très élevée. L'ion K^+ , dont la concentration est d'environ 0,05 M, est l'élément minéral le plus abondant du phloème ; son importance au niveau de certains mécanismes associés à la translocation expliquerait cette abondance (voir 2.3).

Par ailleurs, plusieurs solutés sont retrouvés dans les tubes criblés en quantité très faible. Des acides organiques, des vitamines, des alcaloïdes et de l'ATP ont été détectés chez plusieurs espèces. Aussi, des enzymes ont été isolées à quelques reprises, quoique dans ce cas, le métabolisme apparemment peu actif des ETC laisse supposer la possibilité d'une contamination des exudats récoltés à partir de cellules de l'écorce adjacentes au phloème. Enfin, à l'exception de l'éthylène, des régulateurs de croissance naturels de toutes les classes connues ont été identifiés dans les tubes criblés. De même, des régulateurs de croissance synthétiques appliqués aux feuilles ont été détectés ultérieurement dans les cellules du phloème. L'importance de la translocation des régulateurs de croissance d'un organe à l'autre est sans doute nécessaire au bon développement de la plante ; la quantité de données disponibles à ce sujet demeure toutefois négligeable.

2.2. Le transport intercellulaire des assimilats dans la feuille

Avant leur translocation vers un organe-puits, les assimilats produits dans les cellules du mésophylle doivent être transportés latéralement vers les cellules du phloème. D'abord, ils circulent d'une cellule mésophyllienne à l'autre ; ensuite, ils sont transférés aux cellules du phloème.

• **Le transport des assimilats entre les cellules du mésophylle.** Bien que la route empruntée par les photo-assimilats ait longtemps été matière à controverse, un

consensus semble établi autour d'une migration symplastique (ou intracytoplasmique) de ces produits photosynthétiques dans les cellules du mésophylle. Münch, en 1930, proposait déjà un tel type de migration, appuyant son assertion sur la présence de nombreux plasmodesmes entre les cellules foliaires, qui établissaient un continuum entre ces cellules, et une route potentielle pour les photosynthétats. Des études ultérieures ont d'ailleurs mis en évidence l'existence d'échanges symplastiques très actifs entre les cellules du mésophylle, notamment chez le maïs. Néanmoins, il convient de noter que les données disponibles sur le sujet demeurent peu étoffées. Bien qu'un consensus semble établi quant à une migration symplastique des solutés d'une cellule mésophyllienne à l'autre, il faut garder à l'esprit que le milieu apoplastique (ou extracellulaire) forme un continuum aqueux, qui constitue une route alternative potentielle pour le transport des assimilats entre ces cellules.

• **Le transport des assimilats des cellules du mésophylle au phloème.** Si un consensus semble établi au sujet d'une migration symplastique des photo-assimilats entre les cellules du mésophylle, la controverse persiste au sujet de leur migration entre ces cellules et celles du phloème. D'une part, certains proposent un cheminement mixte des solutés. Selon cette hypothèse, une sécrétion active des assimilats dans le milieu apoplastique adjacent aux cellules du phloème surviendrait à la suite du cheminement symplastique suivi par ces produits dans les cellules du mésophylle. Ainsi, les photo-assimilats entreraient dans le phloème à partir du milieu apoplastique, par l'intermédiaire de transporteurs spécifiques ; la figure 9.5 schématise cette hypothèse. D'autre part, un cheminement exclusivement symplastique est proposé pour les photo-assimilats. Les tenants de cette hypothèse s'appuient essentiellement sur des données anatomiques relatives à la fréquence et à l'agencement des plasmodesmes. Ainsi, chez certains genres, comme le peuplier et le frêne, l'agencement des plasmodesmes, retrouvés en quantité importante entre les cellules compagnes et les cellules du mésophylle, pourrait expliquer une migration intracellulaire des photo-assimilats, du lieu de leur synthèse aux cellules du phloème. Toutefois, certains points demeurent obscurs au sujet de cette seconde alternative. Lors de l'arrivée des solutés, les plasmodesmes sont-ils ouverts ? Ceux-ci ont-ils un pouvoir sélectif, propice à l'entrée préférentielle du saccharose dans le phloème ? Et surtout, peuvent-ils engendrer un gradient osmotique de part et d'autre de la membrane plasmique, un phénomène inhérent à l'accumulation du saccharose dans le phloème ? Ces interrogations majeures, liées aux conclusions de travaux qui démontraient un maintien du chargement du phloème lors d'une baisse de perméabilité des plasmodesmes provoquée par des traitements osmotiques, suggèrent un rôle physiologique restreint pour la voie exclusivement symplastique.

A l'inverse, la première hypothèse, qui propose une sécrétion des photo-assimilats dans le milieu apoplastique avant leur chargement ultérieur dans les cellules du phloème, est appuyée par diverses données anatomiques et physiologiques. Ainsi, au niveau anatomique, il convient de noter que chez certains genres, comme la fève et le maïs, le complexe *cellule compagne/élément de tube criblé* constitue une entité isolée des cellules du mésophylle, en raison d'une quantité négligeable de plasmodesmes entre ces deux groupes cellulaires. De même, les cellules de transfert retrouvées chez plusieurs espèces, qui initient leur différenciation alors que la feuille commence à exporter des sucres, sont pauvres en plasmodesmes. Enfin, les excroissances pariétales et membranaires propres à ces cellules de transfert suggèrent un lien fonctionnel entre ces cellules et le milieu apoplastique. Au niveau physiologique, des travaux ont démontré la présence de saccharose produit lors de la photosynthèse au niveau de l'apoplasme foliaire, ce qui permet de supposer l'existence d'une quelconque sécrétion de ce sucre par les cellules photosynthétiques. Aussi, il a été démontré que le

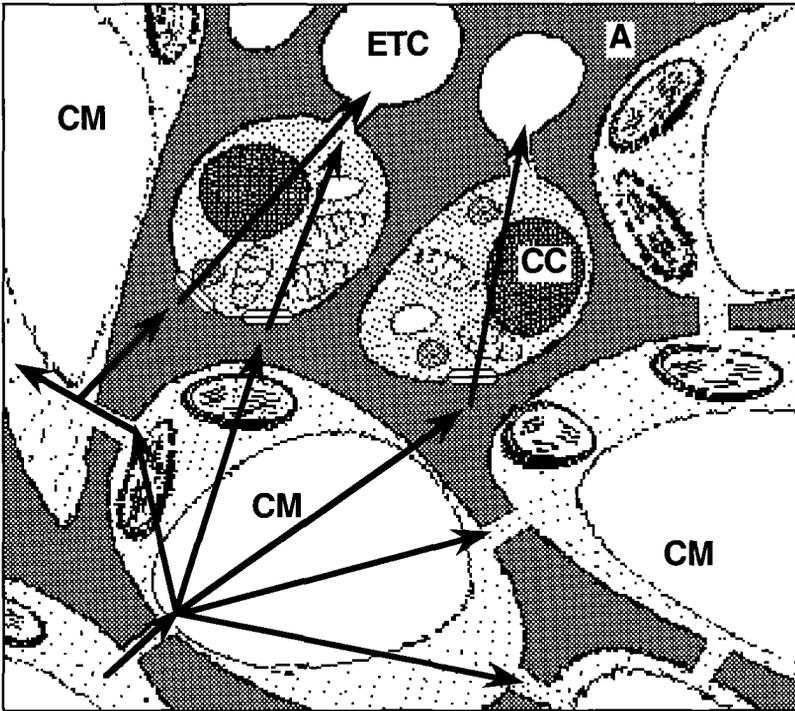


Figure 9.5. Mouvement intercellulaire des assimilats dans la feuille, selon l'hypothèse d'un chargement du phloème à partir du milieu apoplastique. Les flèches indiquent le sens de migration des assimilats ; les liens cytoplasmiques entre les cellules correspondent aux plasmodesmes ; l'entrée des assimilats dans une cellule compagne se fait par l'intermédiaire d'un transporteur spécifique. A : milieu apoplastique ; CC : cellule compagne ; CM : cellule du mésophylle ; ETC : élément de tube criblé.

traitement de tissus foliaires à l'acide p-chloromercuribenzène sulfonique (PCMBS), un agent qui cause une altération des groupements sulfhydryles protéiques, inhibe le processus de chargement du saccharose dans le phloème. De plus, cette inhibition semble spécifique au saccharose, et elle n'affecte pas les processus majeurs de la photosynthèse et de la respiration. Or, comme la membrane plasmique est imperméable au PCMBS, l'action spécifique de cet agent se situe donc probablement au niveau du milieu apoplastique. L'hypothèse d'un transport symplastique des photo-assimilats suivi d'une sécrétion apoplastique à proximité du phloème est donc favorisée jusqu'ici. Toutefois, les failles décelées dans l'hypothèse d'un transport exclusivement symplastique sont peut-être la conséquence d'un manque de connaissances au sujet de la structure et du mode de fonctionnement des plasmodesmes. Des études ultérieures modifieront peut-être cet état des connaissances.

2.3. Le chargement du phloème

Lorsque les photo-assimilats parviennent à proximité du phloème, ils y sont incorporés, puis transportés vers un organe-puits. Le processus d'inclusion des assimilats au phloème est désigné sous le terme de **chargement du phloème**. Les mécanismes fonctionnels de ce processus, à l'inverse du transport latéral des solutés, font l'objet d'un large consensus. Ainsi, il est bien établi que le chargement du phloème est un processus sélectif, où le saccharose est le principal assimilant incor-

poré aux ETC. A l'inverse, les hexoses sont presque exclus de ces cellules, ce qui laisse supposer l'implication de transporteurs spécifiques au cours du processus de chargement. Par ailleurs, ce processus est bloqué par une baisse du taux d'oxygène atmosphérique ou par des inhibiteurs de la respiration. A titre d'exemple, le taux de chargement du phloème chez le blé est réduit de plus de 50 % après quelques minutes d'anoxie. Ce fait suggère la présence de mécanismes actifs survenant lors du processus. La nécessité d'une source d'énergie lors du chargement du phloème est d'ailleurs prévisible, si l'on considère l'importante accumulation à contre-gradient de solutés dans les ETC, notamment celle du saccharose, dont la concentration y est amplifiée jusqu'à cent fois. Bien que de moindre importance, la création d'un tel gradient osmotique est aussi remarquée pour d'autres solutés, comme certains acides aminés, dont la concentration est dix fois plus élevée dans les cellules du phloème que dans celles du mésophylle.

L'intégration des diverses caractéristiques fonctionnelles mentionnées précédemment, liée au fait que le processus de chargement du phloème est influencé par le pH et les concentrations en ions K^+ et en ATP, ont permis l'élaboration d'un modèle théorique pour expliquer le processus de chargement du phloème. Ce modèle vise à expliquer les mécanismes par lesquels le saccharose et les acides aminés sont accumulés dans les ETC, en dépit de la création évidente d'un contre-gradient osmotique. Comme le démontre la figure 9.6, ce modèle, décrit en détail par Giaquinta, est basé sur le modèle général de transport membranaire proposé par Mitchell, et adapté à divers systèmes cellulaires procaryotiques et eucaryotiques. Ainsi, l'activité d'une ATPase engendrerait une extrusion active de protons (H^+) vers l'apoplasme, compensée électriquement par une entrée de cations K^+ dans le symplasme. Une baisse de pH dans le milieu apoplastique, provoquée par l'extrusion des protons, activerait alors un transporteur spécifique au saccharose, et permettrait ainsi un transport conjoint de ce sucre et de protons dans les cellules du phloème. Un mécanisme similaire expliquerait le chargement des acides aminés dans les ETC. Il est à noter que la présente hypothèse présuppose un chargement du phloème à partir de l'apoplasme ; une adaptation éventuelle de ce modèle à l'hypothèse du mouvement symplastique exclusif des assimilats demeure toutefois plausible.

Si l'emplacement du chargement du phloème est matière à controverse, les mécanismes associés à ce processus semblent donc pour leur part bien connus. Un autre fait semble aussi bien établi : le chargement des assimilats surviendrait surtout au niveau des cellules compagnes, qui ont un taux d'activité métabolique élevé. Dans ce cas, les assimilats atteindraient les tubes criblés par voie symplastique, par l'intermédiaire de plasmodesmes les liant aux cellules compagnes (figure 9.5). L'absorption active de ces assimilats au niveau même des ETC, bien qu'apparemment peu efficace, semble néanmoins possible.

2.4. Le transport des assimilats dans le phloème

Bien que l'étude morphologique du phloème soit assortie de difficultés techniques considérables (voir paragraphe 1), plusieurs théories ont été proposées pour expliquer le transport des assimilats dans les cellules du phloème, du lieu de leur chargement dans l'organe-source à celui de leur déchargement dans l'organe-puits. Dès 1885, le botaniste néerlandais Hugo de Vries proposait un modèle de translocation basé sur des phénomènes actifs. Selon sa théorie, les solutés, en diffusion dans les ETC, seraient accélérés d'une extrémité à l'autre de la cellule de transport par l'action de la cyclose, puis transportés aux autres cellules par transport actif. Bien que

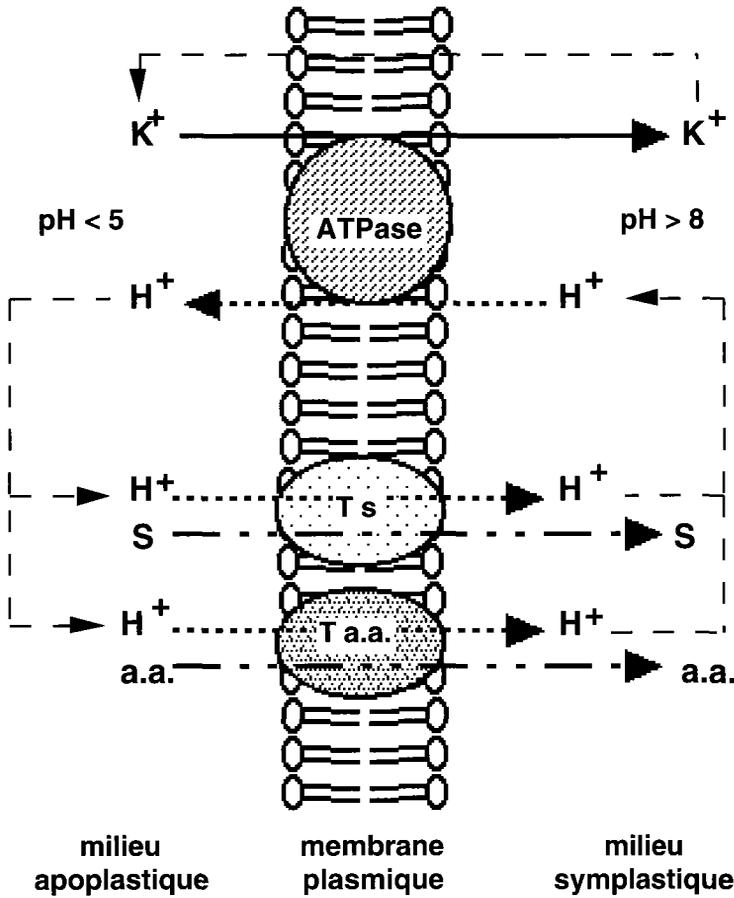


Figure 9.6. Modèle pour le chargement actif des assimilats dans le phloème. Voir le texte pour une explication du modèle ; H^+ : proton ; K^+ : cation potassium ; S : saccharose ; T.a.a. : transporteur d'acides aminés , T.s. : transporteur du saccharose

ce modèle soit sans doute applicable à un processus comme celui du transport des assimilats entre les cellules du mésophylle, il n'explique pas bien le processus de translocation qui survient dans le phloème. D'abord, la cyclose est négligeable dans les ETC ; ensuite, le processus de diffusion ne pourrait expliquer la vitesse élevée de la translocation dans le phloème, qui atteint régulièrement 100 cm/h. Quoiqu'il en soit, plusieurs autres hypothèses ont été émises pour expliquer le processus de la translocation ; celle de Münch demeure à ce jour la plus largement acceptée.

• **L'hypothèse d'un écoulement en masse des assimilats.** L'hypothèse d'un écoulement en masse des solutés, proposée par Münch vers 1930, explique le phénomène de translocation d'une manière purement physique. Basée sur le fait qu'un gradient de pression de turgescence semble être continuellement maintenu dans le phloème entre la source et le puits, ce modèle stipule que les solutés et l'eau présents dans les ETC sont déplacés en masse, passivement, dans le sens du gradient de pression mentionné plus haut. Les concepts associés à cette hypothèse peuvent être visualisés en considérant un montage de laboratoire simple (figure 9.7A). Deux réservoirs semi-perméables, R_s et R_p , communiquent entre eux par l'intermédiaire d'un tube de verre, TV. Une solution riche en sucres est alors placée dans le réservoir R_s (le réservoir-source), et une solution pauvre en sucres dans le réservoir

voir Rp (le réservoir-puits). Si les deux réservoirs sont immergés dans un bain d'eau pure (RE), de l'eau du bain entrera par osmose dans le réservoir-source, qui est riche en sucres. Comme celui-ci est relié au réservoir-puits et que le montage constitue un système fermé, l'entrée d'eau dans le premier provoquera un courant de masse de la solution sucrée du réservoir-source dans le tube de verre, en direction du réservoir-puits, duquel de l'eau sera alors expulsée. Ce cycle se terminera à l'instant où un équilibre sera atteint entre les deux réservoirs semi-perméables, c'est-à-dire jusqu'au moment où les concentrations en sucres seront identiques dans les deux réservoirs.

En adaptant ce modèle au système végétal (figure 9.7.B), Münch a attribué le rôle du réservoir-source à un organe-source quelconque, et celui du réservoir-puits à un organe-puits. A la figure 9.7.B, l'organe-source correspond à une feuille parvenue à maturité, qui exporte des assimilats vers un organe-puits, une feuille en développement. Le phloème correspond quant à lui au tube de verre du modèle, alors que le

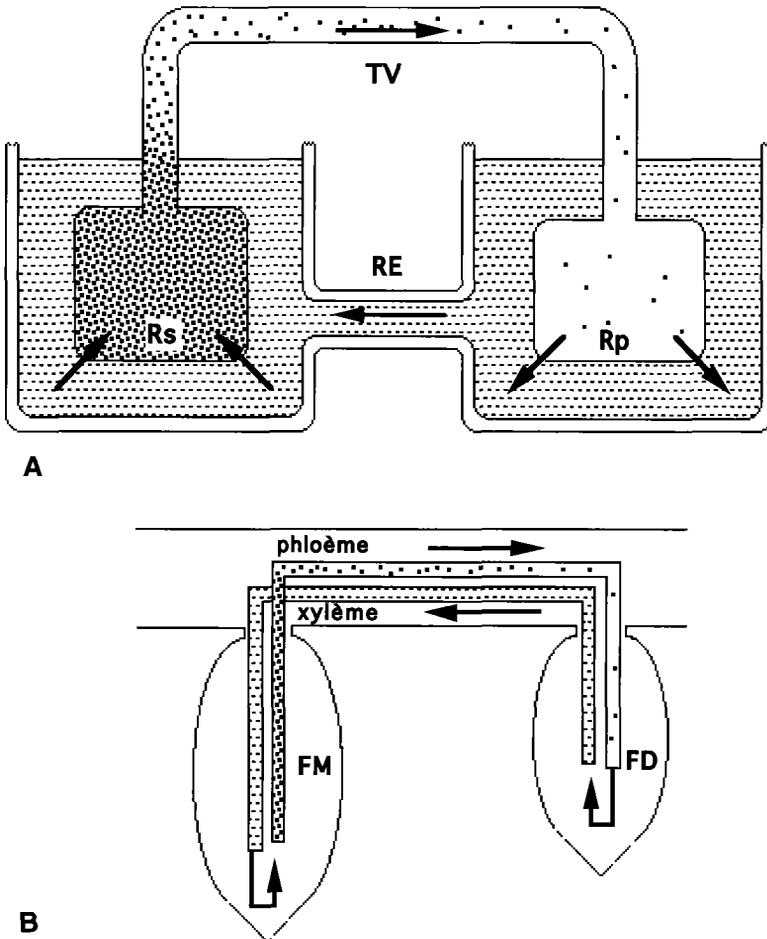


Figure 9.7. Illustration du modèle de Münch, pour l'hypothèse d'un écoulement en masse des solutés dans le phloème. **A.** Modèle de laboratoire. **B.** Modèle adapté à la plante. Voir le texte pour une explication du modèle ; les flèches indiquent le mouvement de l'eau ; FD : feuille en développement ; FM : feuille parvenue à maturité ; RE : réservoir d'eau ; Rp : réservoir-puits ; Rs : réservoir-source ; TV : tube de verre.

réservoir d'eau correspondrait aux tissus du xylème, qui fourniraient l'eau nécessaire à l'écoulement en masse des solutés dans le phloème. Enfin, à la différence du montage de laboratoire, la plante croît dans un système ouvert, où des assimilats sont constamment amenés à la source et utilisés au niveau du puits. En conséquence, le gradient de turgescence produit dans la plante demeure toujours présent, ce qui permet le maintien d'un mouvement de masse continu.

Plusieurs évidences expérimentales tendent à appuyer l'hypothèse d'un tel écoulement en masse des solutés. D'abord, l'existence d'une pression positive dans le phloème a été démontrée chez plusieurs espèces, et s'établirait en moyenne à 3 MPa, ce qui permettrait d'ailleurs une vitesse de translocation de l'ordre de celles déterminées expérimentalement, qui sont de quelques dizaines de centimètres par heure. Une extraction des sucres de certains arbres à partir du phloème constitue d'ailleurs un exemple éloquent de l'existence d'une pression positive considérable dans ce tissu. Par exemple, une entaille effectuée dans l'écorce d'un palmier permet de récolter de la sève élaborée pendant plusieurs mois. Ainsi, des milliers de litres de sève peuvent être récoltés, sans baisse significative du taux de solutés. L'hypothèse d'un mouvement de masse est fortement renforcée dans ce cas. Par ailleurs, la présence d'un gradient osmotique, nécessaire à l'établissement du gradient de pression de turgescence supposé dans l'hypothèse, a été vérifiée. A ce sujet, il convient de mentionner que la concentration en sucres dans le phloème d'une feuille parvenue à maturité, un organe exportateur, est environ deux fois supérieure à celle du phloème d'une racine, un organe-puits. Enfin, un autre argument appuie l'hypothèse de Münch : une défoliation marquée entraîne une baisse significative du gradient de turgescence et un ralentissement important de la translocation chez plusieurs plantes. Ce fait laisse entrevoir l'importance d'organes-sources pour la création de ce gradient, tout en appuyant la nature passive du phénomène de la translocation dans les cellules du phloème. Toutefois, il est à noter qu'en dépit de ces arguments en faveur du modèle de Münch, aucune corrélation rigoureuse n'a été réalisée entre, d'une part, les vitesses de translocation et les pressions mesurées et, d'autre part, la capacité physique des ETC à les supporter. En d'autres termes, il faudra déterminer si le faible diamètre de ces cellules, variable selon les tissus et les espèces, permet aux solutés de se mouvoir aux fortes vitesses observées, et selon les intensités de pression exercées dans le phloème. Si les ETC des cucurbitacées, qui ont un diamètre pouvant atteindre 10 μm , semblent aptes à permettre de telles vitesses de translocation, qu'en est-il pour les cellules criblées des gymnospermes, dont le diamètre des pores est extrêmement réduit ? Et l'obstruction potentielle des pores au niveau des plages criblées, par des éléments cytoplasmiques ou des dépôts de callose, peut-elle engendrer une diminution significative du taux de translocation ? La résolution des problèmes techniques liés à l'étude *in vivo* d'ETC intacts demeure un préalable à l'obtention de données concluantes au sujet des mécanismes fondamentaux liés à la translocation des solutés dans ce tissu fragile qu'est le phloème.

Outre les interrogations soulevées précédemment, certaines données expérimentales semblent contredire l'hypothèse d'un écoulement en masse des solutés dans le phloème. D'abord, des travaux faisant appel à l'utilisation de marqueurs radioactifs ont mis en évidence l'établissement d'un mouvement bidirectionnel simultanément des assimilats. Ce fait contredit le modèle de Münch qui, en supposant l'établissement d'un gradient osmotique dans les tubes criblés, impose implicitement l'idée d'un mouvement unidirectionnel des solutés. Toutefois, ces travaux ont été réalisés à l'échelle tissulaire, et non à l'échelle cellulaire. Deux tubes criblés voisins pourraient transporter des solutés dans des directions opposées sans pour autant contredire le modèle de Münch. L'étude *in vivo* d'ETC intacts apparaît une fois de plus nécessaire. Par

ailleurs, l'état passif du mécanisme de la translocation, tel que proposé par l'hypothèse d'un écoulement en masse des solutés, semble infirmé par des travaux effectués au sujet de la respiration des ETC. Bien qu'il soit généralement admis que ces cellules ont une activité métabolique restreinte, elles semblent dans certains cas caractérisées par un taux respiratoire élevé. Aussi, une concentration en ATP de l'ordre de 0,4 mM est retrouvée dans ces cellules, et ce tout au long des tubes criblés, à l'inverse du saccharose, dont la concentration varie de l'organe-source à l'organe-puits. De plus, des inhibiteurs de la respiration, comme le cyanure, semblent provoquer une baisse du taux de translocation. Toutes ces données laissent supposer un mécanisme énergétique impliqué au cours du processus de translocation, ce qui va à l'encontre du modèle de Münch. Toutefois, la baisse du taux de translocation par les inhibiteurs de la respiration est peut-être associée à des bris cellulaires ou encore à une inhibition des processus actifs de chargement et de déchargement, plutôt qu'à un blocage direct du mouvement des assimilats. De même, le taux de respiration élevé dans les ETC est peut-être lié à un phénomène indépendant de la translocation, ou encore à un mécanisme complémentaire. Par exemple, une absorption active des solutés lors de leur transport dans les cellules du phloème pourrait survenir, et ainsi favoriser la création du gradient osmotique proposé par le modèle de Münch.

Quoi qu'il en soit, l'hypothèse d'un écoulement en masse des solutés dans le phloème demeure plausible. Néanmoins, plusieurs interrogations demeurent sans réponse, ce qui a favorisé l'émergence d'hypothèses alternatives.

• **L'hypothèse d'une translocation électro-osmotique des assimilats.** Devant l'évidence d'une obstruction apparente des pores dans les ETC, qui semblent remplis de matériaux divers, une hypothèse complémentaire à celle de Münch a été avancée par D.C. Spanner pour expliquer la translocation des assimilats dans le phloème. Faisant appel à un processus d'électro-osmose, cette hypothèse suppose un mouvement d'ions K^+ le long d'un gradient électrique. Ce gradient, jumelé à la présence des protéines-P, chargées négativement et situées dans les pores des ETC, provoquerait une entrée active des ions K^+ dans ces pores, conjuguée à un mouvement de l'eau et des solutés. La force motrice nécessaire à ces mouvements proviendrait donc du matériel chargé présent dans les pores, qui exercerait une force d'attraction sur la solution environnante, dans la mesure où une différence de potentiel serait maintenue de part et d'autre du pore. Pour sa part, le gradient électrique serait créé par l'action des cellules compagnes. Celles-ci secrèteraient des protons (H^+) d'un côté du pore, et en absorberaient de l'autre côté. Ainsi, le gradient électrique serait engendré par l'établissement d'un taux différentiel de protons de part et d'autre des pores, par une intervention active des cellules compagnes.

Le modèle électro-osmotique comporte des éléments intéressants. D'abord, il complète le modèle de Münch, par une explication du transfert des solutés d'un ETC à l'autre. Ensuite, il propose un rôle pour les protéines-P présentes dans les pores des plages criblées. Enfin, il explique la présence universelle d'une quantité importante d'ions K^+ dans le phloème. Néanmoins, en dépit de l'intérêt et de l'élégance du modèle proposé, les évidences expérimentales à l'appui de la théorie électro-osmotique demeurent peu nombreuses. L'existence d'un gradient électrique au niveau des pores des ETC, qui est à la base même de ce modèle, n'a d'ailleurs pas été démontrée.

Il importe donc de garder à l'esprit que l'intégration de données associées à plusieurs mécanismes est peut-être à la base d'une compréhension globale du processus de translocation.

2.5. Le déchargement du phloème

A leur arrivée à proximité d'un organe-puits, les assimilats transloqués dans les ETC sont transférés aux cellules de cet organe, où ils sont métabolisés ou mis en réserve. Ce processus de transfert, appelé **déchargement du phloème**, a fait l'objet jusqu'ici d'un nombre limité d'études ; toutefois, des hypothèses ont été avancées pour expliquer les mécanismes qui lui sont associés. Des évidences expérimentales appuient trois de ces hypothèses, qui diffèrent principalement au sujet de la nature symplastique ou apoplastique du processus.

• **Un déchargement apoplastique des assimilats.** L'hypothèse la plus répandue au sujet du déchargement du phloème suppose une sortie des assimilats dans le milieu apoplastique. Les ETC, toujours turgides en raison de leur forte teneur en saccharose, occasionneraient une sortie passive de ce sucre dans l'apoplasme tout au long du tube criblé, mais le réabsorberaient aussitôt. Ainsi, l'affinité élevée des ETC pour le saccharose empêcherait un déchargement spontané des assimilats au cours de leur migration. Au niveau du puits, le saccharose libéré serait toutefois dégradé par l'activité d'une enzyme, l'invertase acide (figure 9.8). Les hexoses produits, le glucose et le fructose, ne pouvant être récupérés par les ETC en raison d'une affinité spécifique négligeable de ces cellules pour ces monosaccharides, seraient alors absorbés activement par les cellules parenchymateuses de l'organe-puits. Par conséquent, une baisse du potentiel hydrique serait engendrée dans les ETC situés à proximité de l'organe-puits, ce qui favoriserait le maintien du gradient de turgescence observé dans les tubes criblés entre la source et le puits. Ce phénomène, désigné sous le terme d'**effet-puits**, serait causé dans ce cas par l'activité de l'invertase acide.

Des évidences expérimentales appuient cette hypothèse d'un déchargement passif des assimilats dans l'apoplasme. Par exemple, l'obtention de nutriments par les jeunes embryons est permise par un déchargement préalable des assimilats dans l'apoplasme de leurs cotylédons. L'absence de connexions symplastiques entre la plante-mère et l'embryon, deux organismes distincts, explique un tel état de fait. Toutefois, la présence d'assimilats dans le milieu apoplastique n'a pu être démon-

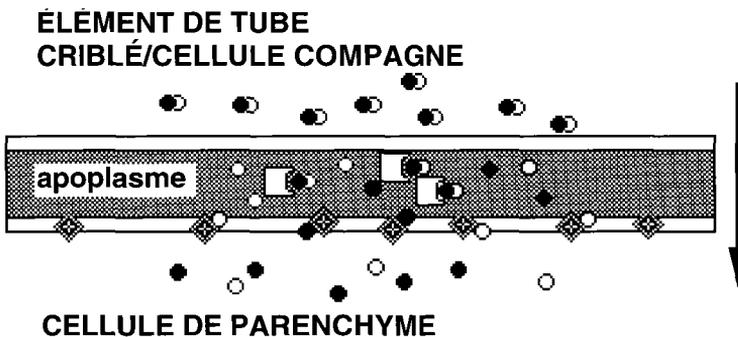


Figure 9.8. Modèle pour l'hypothèse d'un déchargement apoplastique des assimilats. Le saccharose (●○) présent dans le complexe élément de tube criblé/cellule compagne est déchargé dans le milieu apoplastique, où il est dégradé en fructose (○) et en glucose (●) par l'activité d'une enzyme, l'invertase acide (□). Le fructose et le glucose sont alors absorbés par des cellules de parenchyme de l'organe-puits, par l'intermédiaire de transporteurs spécifiques (◇). La flèche représente le sens du mouvement du saccharose.

trée dans plusieurs cas, notamment au niveau des apex racinaires chez certaines espèces. De telles constatations ont favorisé l'émergence d'hypothèses proposant une voie symplastique pour le déchargement des assimilats.

• **Un déchargement symplastique des assimilats.** Deux hypothèses principales ont été émises au sujet d'un déchargement symplastique des assimilats (figure 9.9). Bien qu'elles supposent toutes deux un transfert intercellulaire des solutés au niveau des plasmodesmes, ces deux hypothèses diffèrent considérablement. La première propose un transfert des solutés au niveau de la fraction cytoplasmique des plasmodesmes (figure 9.9.A). Dans ce cas, le desmotubule, s'il est présent, demeurerait fermé, ce qui permettrait aux solutés de traverser du symplasme d'un ETC ou d'une cellule compagne à celui d'une cellule de parenchyme vasculaire. A ce niveau, une enzyme, l'invertase alcaline, causerait une dégradation du saccharose ; le glucose et le fructose qui en résulteraient seraient alors utilisés par la cellule de parenchyme, ou distribués vers des cellules adjacentes. La dégradation du saccharose causerait un nouvel appel de solutés ; l'effet-puits serait dans ce cas causé par l'activité de l'invertase alcaline. La seconde hypothèse suppose quant à elle un transfert des solutés à travers le desmotubule des plasmodesmes (figure 9.9.B). Dans ce cas, les solutés seraient transportés du réticulum endoplasmique (RE) d'un ETC ou d'une cellule compagne à celui d'une cellule de parenchyme. A ce niveau, des vésicules du RE transporterait les solutés dans la vacuole de la cellule, où ils seraient accumulés. Cette inclusion des solutés dans la vacuole causerait un appel de saccharose dans le symplasme, jusqu'à ce qu'il y ait saturation de la vacuole ; l'effet-puits serait causé dans ce cas par une compartimentation du trajet suivi par les assimilats.

Par ailleurs, comme c'est le cas pour l'hypothèse d'un déchargement apoplastique des assimilats, les deux hypothèses associées aux mécanismes décrits plus haut semblent survenir dans certains cas. Ainsi, un déchargement intercytoplasmique et une transformation subséquente des solutés surviendraient dans les cas où l'organe-puits correspond à un organe de réserve. A ce sujet, divers travaux ont démontré la conversion du saccharose en précurseurs de l'amidon dans les cellules de parenchyme vasculaire associées à ces organes. L'accumulation d'amidon, un sucre sans effet sur la pression osmotique, permettrait le maintien d'un faible potentiel osmotique, propice à la translocation des solutés vers l'organe où il est formé. Quant à elle, l'hypothèse d'un déchargement des solutés au niveau des desmotubules est appuyée par des données expérimentales, selon lesquelles, dans certains cas, le saccharose ne serait pas dégradé lors de son transfert du complexe ETC/cellule compagne aux cellules de parenchyme. Ce maintien de l'intégrité du saccharose, probablement permis par son isolement de l'enzyme invertase, laisse supposer une compartimentation du trajet suivi par ce sucre.

3. LA RÉPARTITION DES ASSIMILATS DANS LA PLANTE

Si le phloème constitue un système biophysique efficace pour la translocation des solutés, ses activités doivent aussi être synchronisées avec le développement global de la plante. En d'autres termes, les solutés doivent être transportés aux bons organes aux moments opportuns. Par exemple, le développement d'un fruit sera complété dans la mesure où des solutés y seront accumulés lors de son développement ; de même, l'accumulation de réserves dans un tubercule sera utile si ces réserves sont distribuées à des organes en croissance au moment opportun. Ces phénomènes

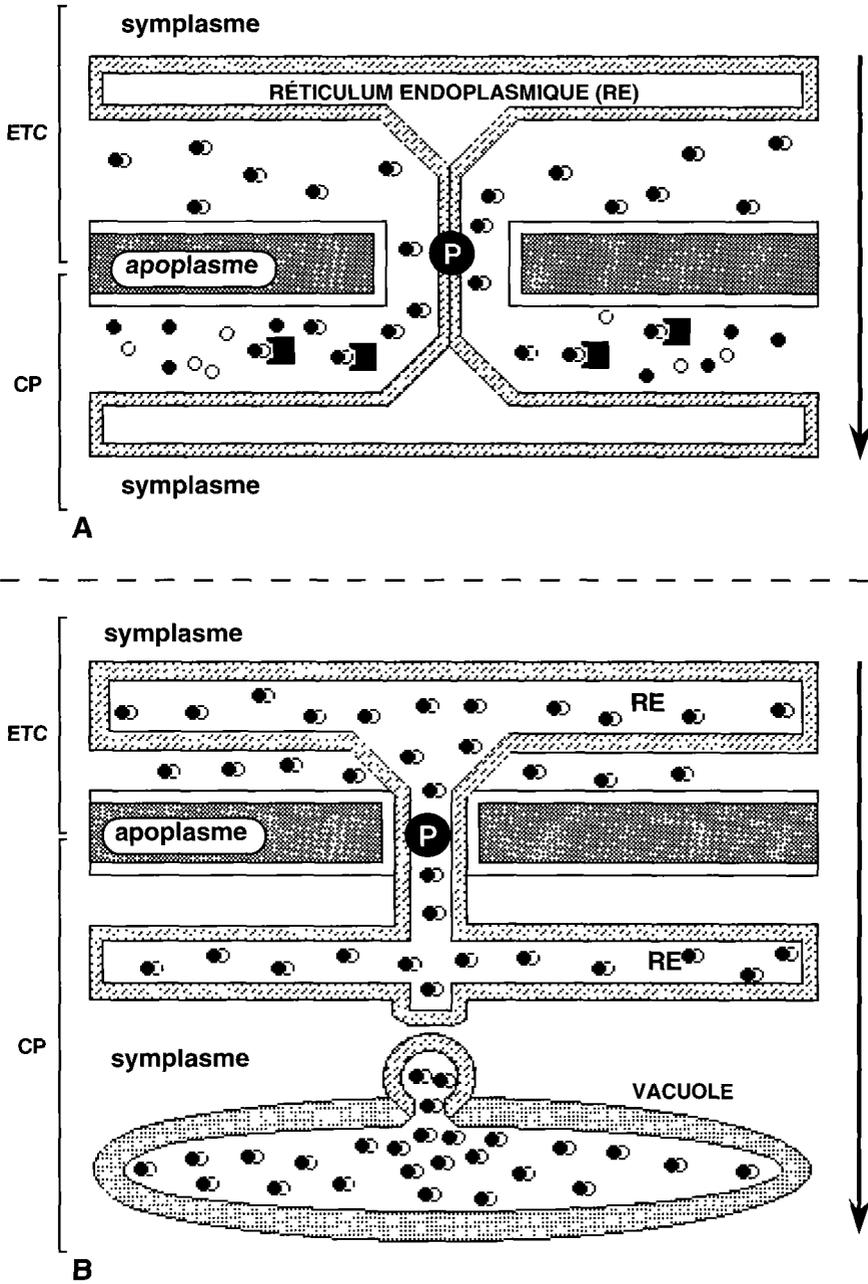


Figure 9.9. Deux modèles pour l'hypothèse d'un déchargement symplastique des assimilats par l'intermédiaire des plasmodesmes (P). **A.** Le saccharose passe du cytoplasme d'une cellule du complexe cellule compagne/élément de tube criblé (CC/ETC) à celui d'une cellule de parenchyme (CP) par l'annulus d'un plasmodesme. Dans le cytoplasme de la cellule de parenchyme, une invertase alcaline (■) dégrade le saccharose (●) en monosaccharides, le fructose (○) et le glucose (●), qui sont utilisés ou transportés vers d'autres cellules de l'organe-puits. **B.** Le saccharose passe du réticulum endoplasmique (RE) d'une cellule du complexe CC/ETC à celui d'une cellule de parenchyme par l'intermédiaire du desmotubule d'un plasmodesme. Dans ce cas, le saccharose est transporté dans la vacuole, sans être dégradé. Les flèches indiquent le sens de migration des solutés.

d'attribution spatio-temporelle des solutés par l'intermédiaire du phloème constituent le processus de **répartition des assimilats**. Il est régi par des règles qui déterminent la route des solutés au cours du développement global de la plante. Déterminées empiriquement, ces règles sont quant à elles le résultat d'influences diverses subies par la plante au cours de son cycle vital.

3.1. Les règles de répartition

De nombreuses études relatives au mouvement des solutés dans le phloème ont permis d'établir des règles quant à leur répartition dans les divers organes chez les plantes vasculaires. Globalement, ces règles déterminent la direction prise par les assimilats à un instant donné. Elles constituent ainsi le cadre relationnel unissant les organes-sources aux divers organes-puits.

- *Règle 1. Les solutés se déplacent des organes-sources aux organes-puits.* A l'inverse du xylème, où le mouvement de l'eau est déterminé par un processus purement physique, le mouvement des solutés dans le phloème est régi par des relations dynamiques établies entre les divers tissus et organes. Par conséquent, un trafic complexe des solutés est engendré par la multitude de composés et de tissus impliqués. Le mouvement des solutés dans le phloème est donc multidirectionnel, à l'inverse du xylème, où il est essentiellement unidirectionnel. En outre, la complexité du réseau relationnel formé entre les différents organes est amplifiée par la nature relative des concepts de source et de puits. Ainsi, un organe photosynthétique, généralement considéré comme un organe-source, peut être un organe-puits quant à ses besoins en métabolites spécifiques.

- *Règle 2. La migration des solutés d'un organe à l'autre tend à être minimale.* Bien que le phloème ait le potentiel de transporter des solutés sur des distances importantes, les assimilats produits dans un organe-source sont généralement distribués aux organes-puits les plus rapprochés. Par exemple, les feuilles âgées alimentent surtout les racines ; de même, les feuilles qui parviennent à maturité alimentent les plus jeunes feuilles et les apex caulinaires. Cette règle est déterminée en grande partie par l'agencement anatomique des connexions vasculaires, établi lors du développement morphogénétique de la plante.

- *Règle 3. La distribution des solutés est fonction de la vigueur relative des organes-puits.* Une hiérarchie spontanée est établie entre les divers puits de la plante. En d'autres termes, certains puits attirent plus fortement les assimilats, et en reçoivent ainsi une part plus importante. Par exemple, la croissance des apex caulinaires est favorisée au détriment de celle des apex racinaires ; de même, les fruits et les graines obtiennent une quantité relative en assimilats plus importante que les organes végétatifs.

- *Règle 4. La répartition des solutés est un processus dynamique en constante évolution.* Un réarrangement quelconque des relations entre les organes entraîne une réorganisation du trafic des solutés. Par exemple, une feuille en croissance active devient exportatrice lorsqu'elle atteint environ 50 % de sa taille maximale. De même, l'apparition d'organes reproducteurs ou la disparition d'organes sénescents provoquent un réarrangement considérable du trafic des solutés. A ce sujet, il importe de souligner le renversement hiérarchique établi entre les puits lors du passage de la fleur au fruit au cours du processus de reproduction. Au stade floral, les racines et les jeunes feuilles sont favorisées au détriment des fleurs, alors qu'ulté-

rièvement, ils obtiennent peu de solutés, à l'avantage du fruit en développement. En outre, cette règle de répartition, régie par le programme morphogénétique de la plante et subordonnée aux règles 1, 2 et 3, peut être provoquée artificiellement, notamment par l'élimination d'organes. Par exemple, la coupe d'une feuille parvenue à maturité entraîne un changement d'orientation des solutés en provenance des feuilles plus âgées, qui augmentent significativement leur contribution nutritionnelle aux jeunes feuilles et aux apex caulinaires.

- *Règle 5. Les solutés sont régulièrement redistribués entre les différents organes.* Selon cette règle, subordonnée, comme la règle 4, aux règles 1, 2 et 3, des processus de **mobilisation** et de **remobilisation** des solutés surviennent au cours du développement de la plante. Le processus de mobilisation survient, notamment, lorsque des solutés mis en réserve sont distribués à des organes en croissance active. Pour sa part, le processus de remobilisation est associé aux organes sénescents, qui exportent leurs métabolites en direction des organes plus jeunes. L'accumulation de composés azotés dans le phloème à la fin de la saison de croissance est d'ailleurs expliquée par ce processus.

3.2. Les points de contrôle de la répartition

Les règles de répartition énoncées précédemment ont permis l'élucidation des relations fonctionnelles établies entre les divers organes d'une plante au sujet de la translocation des assimilats. Mais sur quoi s'appuient ces règles ? Quels sont les facteurs qui en induisent l'établissement ? L'obtention de réponses précises à ces questions nécessitera encore de nombreux travaux. Des interactions impliquant de nombreux facteurs semblent être à la base du contrôle de la répartition. Mais si la compréhension globale de ce contrôle demeure incomplète, plusieurs facteurs lui étant associés ont toutefois été identifiés (figure 9.10).

Au niveau de la source, le processus photosynthétique influence fortement la répartition, notamment par son influence au niveau de l'allocation des produits primaires. Ainsi, les taux relatifs du saccharose et de l'amidon, qui sont déterminés par des processus de régulation très complexes, sont directement liés à la quantité de saccharose disponible pour la translocation. Cette disponibilité en saccharose est aussi liée à l'attribution des produits carbonés à d'autres sentiers métaboliques, comme la synthèse du malate, un acide organique impliqué dans plusieurs processus physiologiques. En outre, le taux métabolique et le stade de développement de l'organe-source semblent avoir une influence sur le processus de répartition. Le premier facteur est sans doute lié à l'implication de l'organe-source pour l'apport d'énergie au système de chargement : le second est probablement associé aux capacités photosynthétiques de l'organe, ainsi qu'à ses diverses relations intertissulaires.

Le phloème, unité fonctionnelle de base du processus de translocation, semble avoir pour sa part une influence restreinte sur le processus de répartition. Ce fait peut être expliqué en partie par la nature apparemment passive du processus impliqué au niveau de ce tissu, telle que prédite par l'hypothèse de Münch. Toutefois, des caractéristiques anatomiques spécifiques du tissu, comme la taille des pores de ses ETC, pourrait être un facteur de contrôle, notamment au niveau de la cohésion du gradient osmotique dans le phloème.

L'influence du puits est quant à elle d'une importance majeure pour la répartition des assimilats. Sa capacité volumique et sa localisation influencent directement ce

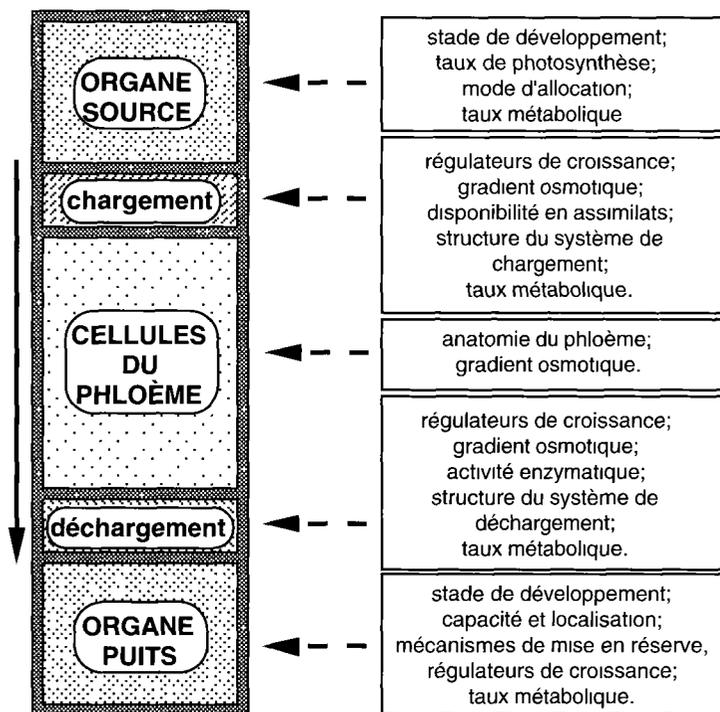


Figure 9.10. Facteurs et points de contrôle du processus de répartition. Les cinq points de contrôle de répartition des assimilats, qui correspondent aux principaux sites impliqués dans le processus de translocation, sont sujets à des influences diverses, exercées par plusieurs facteurs de contrôle. La flèche verticale indique le sens de migration des assimilats.

processus, car ils déterminent sa vigueur relative, et par conséquent sa position dans la hiérarchie des puits. L'activité métabolique et les mécanismes de mise en réserve influencent aussi grandement le processus. L'utilisation rapide des assimilats, ou leur compartimentation dans des organites spécifiques, contribuent à diminuer le potentiel osmotique à proximité du puits, ce qui crée un appel de solutés. De plus, le stade de développement et les régulateurs de croissance ont un rôle à jouer sur la répartition, lié à leur implication sur les processus de croissance cellulaire, qui déterminent quant à eux les besoins nutritifs des cellules du puits.

Enfin, les systèmes moléculaires activés lors des processus de chargement et de déchargement du phloème complètent la liste des sites impliqués dans le contrôle du processus de répartition. L'activité de ces systèmes est directement liée aux taux métaboliques des cellules impliquées. De même, la quantité d'assimilats disponibles et l'intensité du gradient osmotique dans le phloème sont des facteurs qui semblent liés à l'intensité des processus de chargement et de déchargement, tout comme la présence de certains régulateurs de croissance. Dans le dernier cas, il convient de noter que l'acide abscissique aurait une influence majeure lors du déchargement des assimilats, en provoquant une dépolarisation des membranes dans les ETC. Cette action de l'acide abscissique causerait une baisse du gradient protonique de part et d'autre des membranes, ce qui favoriserait le déchargement par une sortie accrue du saccharose dans le milieu apoplastique.

En bref, le processus de répartition des assimilats est un phénomène morphogénétique et physiologique complexe, qui est le résultat d'interactions nombreuses aux

divers sites associés à la translocation. Bien que plusieurs facteurs de contrôle de la répartition aient été identifiés jusqu'ici, de nombreux travaux demeurent nécessaires pour l'acquisition d'une connaissance globale du processus. Des études au sujet des facteurs environnementaux, souvent liés à l'induction de processus morphogénétiques et physiologiques, devront aussi être effectuées.

4. LES EFFETS DU MILIEU SUR LA TRANSLOCATION

Plusieurs facteurs environnementaux semblent avoir une influence sur la translocation des assimilats. Les facteurs d'influence indirects sont évidemment nombreux. Par exemple, une absence de lumière, qui provoquera une baisse marquée de la photosynthèse, entraînera une diminution du taux de photo-assimilats retrouvés dans le phloème. De même, certaines carences minérales, qui causeront une diminution globale du taux métabolique de la plante, provoqueront éventuellement un ralentissement de la translocation. Toutefois, plusieurs études ont mis en évidence l'existence d'influences directes de certains facteurs environnementaux sur le processus de translocation. Les principaux de ces facteurs sont la température et la teneur en oxygène ; d'autres facteurs semblent aussi impliqués dans la régulation du processus.

4.1. L'effet de la température

Les composantes associées aux phénomènes actifs du processus de translocation ont une activité optimale à des températures voisines de 25 °C. Au-delà de 40 °C, une dénaturation des molécules impliquées provoque une inhibition irréversible du processus. Des températures basses causent pour leur part une diminution graduelle de l'activité enzymatique aux sites de transport actif.

Par ailleurs, les températures extrêmes ont une influence marquée sur le transport des assimilats dans les ETC. Des températures élevées causent généralement une diminution de la translocation dans ces cellules. A ce sujet, des travaux ont démontré que les pores d'ETC soumis à des températures d'environ 40 °C deviennent obstrués par une accumulation de callose. Ainsi, une altération du processus de translocation est causée, dans ce cas, par une modification structurale des éléments conducteurs, elle-même liée à un mécanisme de protection (voir 1.1). En outre, de basses températures causent une diminution marquée du transport des solutés dans les ETC chez de nombreuses espèces. La grande majorité des dicotylédones appartiennent à ce groupe de plantes, dites **sensibles au froid**. Dans ce cas, des températures d'environ 10 °C causent une augmentation de la viscosité de la sève, ce qui provoque un ralentissement du taux de translocation. Des températures plus basses induisent des réarrangements intracellulaires, qui conduisent à un blocage des pores. Les dépôts de callose et de protéines-P à l'origine de cette obturation provoquent finalement un arrêt complet du transport des solutés. Chez la plupart des monocotylédones et chez les gymnospermes, des plantes **résistantes au froid**, une baisse rapide de température cause une augmentation de la viscosité de la sève, ce qui entraîne une diminution subite du taux de translocation. Après une ou deux heures, ce taux est toutefois rétabli, et le processus de translocation est maintenu, même à des températures voisines du point de congélation. Ainsi, aucune altération structurale ne semble survenir dans les ETC de ces plantes ; seule la viscosité de la sève semble varier et engendrer une baisse temporaire du taux de translocation. A

ce sujet, l'absence fréquente de protéines-P chez ces plantes est à souligner. La mise en évidence d'un rôle déterminant pour ces métabolites lors de l'obturation des pores des ETC chez les plantes sensibles est donc prévisible. Enfin, il convient de noter l'effet des températures inférieures à 0 °C, qui provoquent un arrêt irréversible de la translocation dans les ETC touchés. Cette perte de fonction, qui survient chez les plantes résistantes comme chez les plantes sensibles, est due à une dislocation des tubes criblés, causée par le bris des ETC.

4.2. L'effet de l'oxygène

Un arrêt du processus respiratoire, provoqué par l'emploi d'inhibiteurs spécifiques, cause une diminution marquée du taux de translocation chez la plupart des plantes. De même, des feuilles parvenues à maturité n'exportent pas d'assimilats lorsqu'elles sont soumises à un taux en O₂ inférieur à 2 %. A l'inverse, le taux de translocation est accru par une incorporation d'ATP exogène dans les cellules du phloème. L'effet de la respiration serait donc probablement lié aux processus nécessitant un apport énergétique, comme ceux du chargement et du déchargement des ETC (voir 2.3 et 2.5). Une hypothèse généralement admise suggère que les composés inhibiteurs incorporés au phloème sont transportés aux cellules de la source ou à celles du puits, où ils causent un arrêt des processus de transfert des solutés entre ces cellules et celles du complexe ETC/cellule compagne.

En outre, bien que plusieurs évidences expérimentales semblent appuyer cette hypothèse d'une diminution du taux de translocation par une inhibition des processus de chargement et de déchargement, il demeure plausible que la respiration influence directement les cellules du phloème. A ce sujet, il convient de noter la baisse du taux de translocation remarquée dans le phloème de pétioles isolés et placés en situation d'anoxie. Un ralentissement de l'activité métabolique des cellules compagnes est peut-être à la base de cette inhibition.

4.3. Autres facteurs d'influence

Bien que peu étudiés jusqu'ici, d'autres facteurs environnementaux semblent liés au processus de translocation. C'est le cas, notamment, de la lumière, dont la qualité spectrale déterminerait l'efficacité du transport de certains métabolites. Aussi, les phénomènes de pollution causeraient un ralentissement marqué du transport des solutés. A titre d'exemple, des travaux ont fait état, chez les légumineuses, d'une inhibition du processus de chargement en présence de métaux lourds, comme le mercure et le plomb ; de même, le SO₂ provoquerait, en plus d'une baisse significative de la photosynthèse, une inhibition irréversible de ce processus de chargement. Une altération majeure des transporteurs du saccharose expliquerait probablement cet effet négatif des agents polluants. Par ailleurs, une carence en potassium, le soluté le plus abondant et le plus constant du phloème après le saccharose, provoque un ralentissement graduel de la translocation. Les sols pauvres en cet élément ne permettent d'ailleurs pas l'obtention de fruits ou d'organes de réserve parfaitement développés. Les mécanismes associés au chargement du phloème (voir la figure 9.6) expliqueraient l'importance majeure du potassium.

Certains facteurs pourtant importants au niveau de processus morphogénétiques et physiologiques divers semblent avoir pour leur part peu d'effet sur la translocation. Par exemple, l'influence de la photosynthèse quant à ce processus est limitée à la

production primaire de métabolites dans l'organe-source ; un apport externe de saccharose à des plantes gardées à l'obscurité permet un maintien du taux de translocation. De même, les régulateurs de croissance ne semblent influencer la translocation qu'indirectement. Bien qu'un apport exogène d'auxine à des plantes mutilées ait un léger effet d'attraction sur les assimilats, les concentrations endogènes des régulateurs de croissance ne semblent pas permettre un appel direct significatif des assimilats dans les organes en croissance des plantes intactes. Ces régulateurs joueraient plutôt un rôle indirect, lié à leur influence globale sur les processus de croissance cellulaire. Enfin, un stress hydrique, qui altère la plupart des fonctions essentielles de la plante, ne semble pas nuire au mouvement des assimilats dans le phloème. Ainsi, des exudats peuvent être récoltés d'une plante en situation de flétrissement généralisé. De ce fait, le processus de translocation est l'une des fonctions végétales les plus résistantes au stress hydrique. La faible teneur en eau des ETC, due à leur teneur élevée en solutés, est en partie à la base de ce maintien de l'intégrité fonctionnelle du tissu en milieu aride.

5. ASPECTS AGRONOMIQUES DE LA TRANSLOCATION

L'objet premier des disciplines agronomiques est de favoriser une optimisation de la production de biomasse récoltable à des fins agroalimentaires. De ce fait, elle vise à favoriser une accumulation optimale de matière sèche ou de certains métabolites dans des organes "utiles". Les modes d'action à envisager pour parvenir à cette fin peuvent être répartis en trois groupes distincts mais complémentaires.

- D'abord, une croissance de base adéquate des plantes est favorisée par une régie efficace des systèmes culturaux. Ainsi, une bonne fertilisation, un régime hydrique approprié, des règles sanitaires strictes et des méthodes culturales adaptées aux cultures et au milieu permettent l'obtention d'une réponse positive des plantes.
- Ensuite, le taux d'assimilats produits dans les organes-sources peut être accru en favorisant le processus de photosynthèse. A cet égard, une optimisation de l'interception solaire par les feuilles peut permettre une augmentation significative des rendements. En serre, un accroissement du taux photosynthétique peut aussi être engendré par un enrichissement adéquat du milieu en gaz carbonique.
- Enfin, un troisième mode d'action, qui vise à optimiser le processus de répartition des assimilats, permet d'envisager, dans l'avenir, des gains considérables quant à la production de produits végétaux destinés à l'alimentation. Dans ce cas, le but ultime est de permettre une accumulation de certains métabolites dans un organe d'intérêt. En d'autres termes, il s'agira d'effectuer un contrôle dirigé de la répartition des assimilats, d'abord par des essais de sélection et de transformation génétique réussis, et ensuite par une action directe sur les divers facteurs de contrôle du processus, en particulier au niveau des organes-puits, qui constituent le matériel végétal d'intérêt agronomique.

Évidemment, un tel but ne sera atteint que dans la mesure où des efforts considérables y seront consacrés. Jusqu'ici, les connaissances liées aux aspects structuraux et fonctionnels du processus de translocation demeurent assorties de nombreuses lacunes. Aussi, seule une fraction des nombreuses interactions factorielles impliquées dans le processus de répartition a été élucidée. Par conséquent, de nom-

breuses recherches demeurent essentielles pour l'établissement de modèles globaux relatifs aux processus impliqués dans le transport des assimilats. De même, seule une intégration exhaustive des nombreuses données disponibles permettra l'acquisition d'outils efficaces pour un contrôle dirigé du processus de répartition. Néanmoins, la somme considérable d'efforts investis au sujet de la translocation au cours des dernières années laisse présager des progrès importants, qui permettent d'espérer l'établissement de liens tangibles entre l'aspect théorique du processus et ses applications, d'une importance agronomique sans doute majeure.

BIBLIOGRAPHIE

- Behnke H.-D. (1989), "Structure of the phloem" in *Transport of photoassimilates*, Baker D.A. et Milburn J.A. (eds.), Longman Scientific & Technical, RU.
- Delrot S. (1989), "Loading of photoassimilates" in *Transport of photoassimilates*, Baker D.A. et J.A. Milburn (eds.), Longman Scientific & Technical, RU.
- Esau K. (1977), *Anatomy of seed plants*, 2^e éd., John Wiley & Sons, New York.
- Eschrich W. (1989), "Phloem unloading of photoassimilates" in *Transport of photoassimilates*, Baker D.A., J.A. Milburn (eds.), Longman Scientific & Technical, RU.
- Fensom D.S. (1981), "Problems arising from a Münch-type pressure flow mechanism of sugar transport in plants", *Canadian Journal of Botany*, **59** : 425-432.
- Giaquinta R.T. (1983), "Phloem loading of saccharose", *Annual Review of Plant Physiology*, **34** : 347-387.
- Gifford R.M. and Evans L.T. (1981), "Photosynthesis, carbon partitioning, and yield", *Annual Review of Plant Physiology*, **32** : 485-509.
- Gifford R.M., Thorne J.H., Hitz W.D. and Giaquinta T. (1984), "Crop productivity and photoassimilate partitioning", *Science*, **225** : 801-808.
- Ho L.C., Grange R.I. and Shaw A.F. (1989), "Source/sink regulation" in *Transport of photoassimilates*, Baker D.A. and J.A. Milburn (eds.), Longman Scientific & Technical, RU.
- Kennedy J.S. et Mittler T.E. (1953), "A method for obtaining phloem sap via the mouth-parts of aphids", *Nature*, **171** : 528.
- Madore M.A. et Lucas W.J. (1989), "Transport of photoassimilates between leaf cells" in *Transport of photoassimilates*, Baker D.A. et J.A. Milburn (eds.), Longman Scientific & Technical, RU.
- Milburn J.A. et Kallarackal J. (1989), "Physiological aspects of phloem translocation" in *Transport of photoassimilates*, Baker D.A. et J.A. Milburn (eds.), Longman Scientific & Technical, RU.
- Münch E. (1930), *Die Stoffbewegungen in der Pflanze* (La translocation dans les plantes), Fisher, Jena.
- Oparka K.J. (1990), "What is phloem unloading ? ", *Plant Physiology*, **94** : 393-396.
- Prioul J.L. (1984), "Transport des assimilats. Transport et distribution des assimilats chez le maïs : mécanismes, rôle des facteurs externes" in *Physiologie du maïs*, Gallais A. (coord.), INRA, France.
- Spanner D.C. (1979), "The electroosmotic theory of phloem transport : a final re-statement", *Plant, Cell & Environment*, **2** : 107-121.
- Spanner D.C. (1978), "Sieve-plate pores, open or occluded ? A critical review", *Plant, Cell & Environment*, **1** : 7-20.
- Teh K.H. et Swanson C.A. (1982), "Sulfur dioxide inhibition of translocation in bean plants", *Plant Physiology*, **69** : 88-92.
- Wardlaw I.F. (1990), "The control of carbon partitioning", *New Phytol.*, **116** : 341-381.

Chapitre 10

RELATIONS HYDRIQUES SOL-PLANTE-ATMOSPHÈRE

Moussa Badji et Jean Feyen

Katholieke Universiteit Leuven, Louvain, Belgique

Sommaire

1. Introduction

2. Le continuum sol-plante-atmosphère

3. Potentiels hydriques dans le continuum sol-plante-atmosphère

- 3.1. Introduction
- 3.2. Le potentiel hydrique
- 3.3. Expression du potentiel hydrique
- 3.4. Considérations particulières

4. Le mouvement de l'eau dans la plante

- 4.1. Lois de circulation d'eau dans le système sol-plante-atmosphère
- 4.2. Écoulement de l'eau dans la plante
- 4.3. Les résistances dans différentes parties de la plante
- 4.4. Remarque synoptique sur le mouvement de l'eau dans la plante

5. Le compromis photosynthèse-transpiration

- 5.1. Introduction
- 5.2. Mécanique et mécanisme des stomates
- 5.3. Mesure de la transpiration

6. Réponses et adaptations des plantes au déficit hydrique

- 6.1. Introduction
- 6.2. Les causes du déficit hydrique et son développement
- 6.3. Réponses et adaptations des plantes au déficit hydrique

Bibliographie

RELATIONS HYDRIQUES SOL-PLANTE-ATMOSPHÈRE

1. INTRODUCTION

Ce chapitre constitue une introduction sur les relations hydriques sol-plante-atmosphère. Les sujets traités concernent : (1) les potentiels d'eau dans le continuum sol-plante-atmosphère, (2) le mouvement de l'eau dans la plante, (3) le compromis photosynthèse-transpiration et (4) les réponses et adaptations des plantes au déficit hydrique. Le but recherché ici est de donner au lecteur un outil pour mieux profiter de la littérature spécialisée relative aux thèmes introduits.

Le texte est structuré de manière à faciliter la compréhension des processus relatifs à la physiologie végétale pour lesquels l'état de l'eau, dans le système sol-plante-atmosphère considéré comme un continuum physique, joue un rôle primordial.

2. LE CONTINUUM SOL-PLANTE-ATMOSPHÈRE

Les physiologistes des plantes et les ingénieurs agissant dans le cadre de l'hydraulique agricole approchent le cycle de l'eau au champ en considérant le champ et ses composantes que sont le sol, la plante et l'atmosphère comme une entité physique unique. Cette entité est dynamique et divers processus s'y déroulent de manière interdépendante. Ce système unifié est appelé **continuum sol-plante-atmosphère**.

Le mouvement de l'eau dans le continuum sol-plante-atmosphère s'établit à partir d'un niveau d'énergie élevé vers un niveau d'énergie bas (moins élevé). L'énergie qui intervient dans ce continuum est de deux types : l'**énergie cinétique** et l'**énergie potentielle**. Étant donné que le mouvement de l'eau dans le système sol-plante-atmosphère est assez lent, son énergie cinétique, qui est proportionnelle au carré de la vitesse, est généralement considérée comme négligeable. Par contre, l'énergie potentielle, qui est conditionnée par la position et l'état interne, est d'importance primordiale pour la détermination des relations hydriques (état et mouvement de l'eau) dans le système.

On considère que le flux d'eau est en tout point du système inversement proportionnel à une résistance, par analogie avec la loi d'Ohm pour le courant électrique. L'eau circule du sol vers les racines où elle est absorbée par celles-ci. Elle est ensuite transportée dans les racines vers les branches et à travers le xylème jusqu'aux feuilles. Le transport de l'eau dans la plante sera traité au paragraphe 4. Cette eau va s'évaporer au niveau des feuilles dans les cavités intercellulaires et les ouvertures stomatiques. Elle passera vers la couche d'air atmosphérique en contact avec la feuille par diffusion.

L'évaluation de l'énergie potentielle, et sa variation avec la distance et dans le temps, permet de caractériser le continuum sol-plante-atmosphère.

3. POTENTIELS HYDRIQUES DANS LE CONTINUUM SOL-PLANTE-ATMOSPHÈRE

Nous allons voir comment passer de la notion de l'énergie potentielle à celle du potentiel hydrique.

3.1. Introduction

L'expérience commune des relations hydriques sol-plante-atmosphère permet de constater que la teneur en eau ne suffit pas pour décrire complètement l'état de l'eau dans le continuum sol-plante-atmosphère. Les observations suivantes nous amènent à croire qu'il est nécessaire de définir une autre propriété associée à l'eau dans le système sol-plante-atmosphère :

- Les plantes se développent différemment sur des sols différents même si ceux-ci ont la même teneur en eau.
- Des sols qui ont été traités de la même façon peuvent avoir des teneurs en eau différentes. En effet, un sol sableux aura des teneurs en eau différentes d'un sol limoneux ou argileux à la capacité au champ, au point de flétrissement permanent et au point d'assèchement à l'air. Il en est de même entre un sol limoneux et un sol argileux.
- En physique du sol, on montre facilement que lorsque deux sols avec la même teneur en eau mais de textures différentes, sont mis en contact l'un avec l'autre, il y a un écoulement d'eau de l'un vers l'autre. En général l'eau circule du sol à texture grossière vers celui avec une texture fine, si ces deux sols ont la même teneur en eau volumique. D'un point de vue physique, on sait que ce ne sont pas les différences de teneur en eau entre le sol et la plante qui régissent le sens des flux hydriques.
- D'un point de vue de la physiologie végétale, on sait qu'une propriété autre que la teneur en eau agit bien plus nettement sur la plupart des processus qui interviennent dans la croissance, le développement et la production végétale.

Par conséquent, il faut définir une propriété qui permet de mieux expliquer les phénomènes observés.

3.2. Le potentiel hydrique

Le fondement thermodynamique du concept de potentiel hydrique est traité dans la littérature spécialisée, telle que Slatyer et Taylor (1960), Hillel (1971), Salisbury et Ross (1985). Pour introduire simplement la propriété qui pourrait mieux caractériser l'état de l'eau dans le système sol-plante-atmosphère, nous allons utiliser une analogie facile à appréhender. Le contenu en chaleur (analogue à la teneur en eau dans le système sol-plante-atmosphère) est, par exemple, une propriété des matériaux fort utile sous plusieurs aspects. Mais ce contenu en chaleur ne nous dit pas directement si il y a transport de chaleur. Nous avons pour cela défini un terme d'intensité de chaleur, caractérisée par la température, qui nous permet de déterminer la direction de transport de chaleur. Le terme pour l'eau dans le système sol-plante-atmosphère analogue à la température est appelé le **potentiel d'eau** ou **potentiel hydrique**. Le potentiel hydrique est une propriété beaucoup plus compliquée que la température. Ces complications sont l'objet de la discussion ci-après.

Le potentiel d'eau est formellement défini comme le travail qu'une quantité unitaire d'eau, dans un système sol-plante-atmosphère-eau en équilibre, est capable de fournir quand elle se déplace à température constante de l'état référentiel à un autre point. On voit déjà qu'il faut définir un état de référence. L'état de référence est communément défini comme celui de l'eau pure. La figure 10.1 donne une illustration schématique des niveaux possibles du potentiel hydrique.

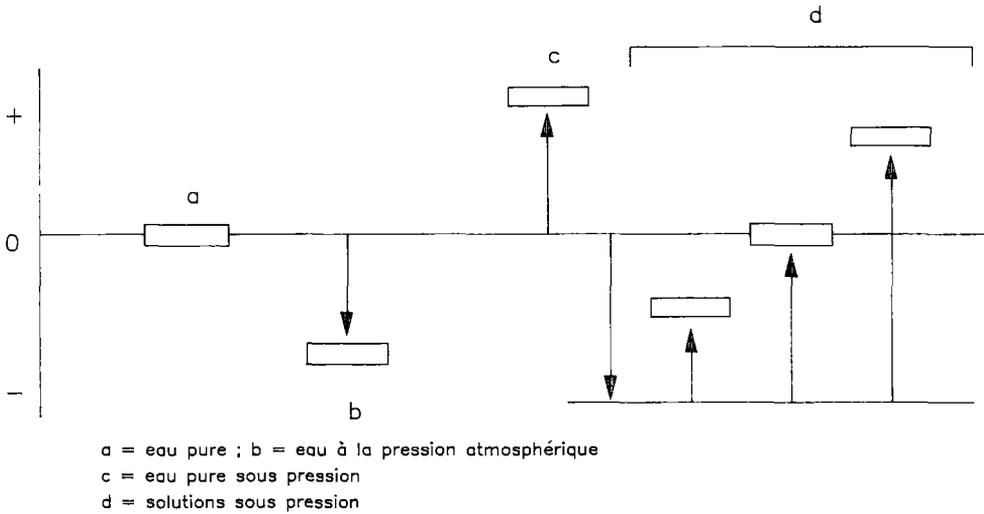


Figure 10.1. Niveaux possibles du potentiel hydrique

Source : adapté de Salisbury F B et Ross C W (1985), *Plant Physiology*, Wadsworth Publishing Company, Belmont, California.

Une conséquence directe de la considération de l'eau pure comme état de référence est le fait que le mouvement de l'eau vers l'état de référence devrait survenir à travers une membrane semi-perméable.

Le potentiel d'eau est plus facilement compris si nous le subdivisons en composantes. On peut en effet écrire que le potentiel d'eau, Φ , est :

$$\Phi = \Phi_m + \Phi_o + \Phi_g + \Phi_p \quad (1)$$

où Φ est le potentiel total de l'eau en un point quelconque du système sol-plante-atmosphère et Φ_m , Φ_o , Φ_g et Φ_p sont respectivement les potentiels matriciel (ou de pression), osmotique, gravitationnel et pneumatique.

Certains auteurs ont fait état d'autres potentiels qui ne sont pas cruciaux pour notre système.

3.2.1. Le potentiel gravitationnel

Le potentiel gravitationnel est déterminé par la position dans le champ gravitationnel et peut être exprimé en unités d'énergie potentielle par unité de masse soit :

$$\Phi_g = zg \quad (2)$$

où z est la distance au-dessus d'un plan de référence arbitraire et g l'accélération de la pesanteur. Le plan de référence peut être établi à toute hauteur adéquate, telle la surface du sol.

On peut facilement voir que le potentiel gravitationnel est indépendant des propriétés du sol, de la plante ou de l'atmosphère. Il dépend en effet uniquement de la distance verticale entre la référence et le point considéré. Étant donné que l'altitude de référence peut être choisie arbitrairement, l'amplitude absolue du potentiel gravitationnel est presque insignifiante. Nous sommes intéressés par la différence de potentiel entre deux points. Dans ce cas on peut prendre n'importe quelle altitude comme point de référence.

3.2.2. Le potentiel matriciel (ou de pression)

Le potentiel matriciel est celui occasionné aussi bien par les forces d'attraction des surfaces du sol et de la plante pour l'eau que par les pores ou conduits (xylème) dans le système sol-plante et la courbure des interfaces sol-eau et cellule-eau. Le potentiel matriciel peut être exprimé en termes de pression d'eau P , telle que :

$$\Phi_m = Pg = \delta hg \quad (3)$$

où δ est la masse volumique de l'eau, h la hauteur de la colonne d'eau et g l'accélération de la pesanteur.

On peut également exprimer le potentiel matriciel en unités d'énergie par unité de masse. Dans ce cas on aboutit à des unités de distance, L .

Le potentiel matriciel est une propriété dynamique du sol et de la plante. Dans un sol saturé, par exemple, Φ_m est nul (en théorie, Φ_m est nul si le sol est saturé ; cependant un sol est rarement complètement saturé et Φ_m peut en pratique avoir une valeur légèrement négative). En physique du sol ou en physiologie végétale, il est commode de considérer le potentiel matriciel comme une fonction continue de la teneur en eau de façon à ce qu'il soit positif quand on a par exemple un sol saturé sous une nappe d'eau, et négatif quand le milieu poreux est insaturé.

3.2.3. Le potentiel osmotique

La baisse d'énergie potentielle de l'eau du sol ou de la plante par rapport à celle de l'eau pure, occasionnée par la présence des sels est appelée potentiel osmotique. Le potentiel osmotique n'influence pas le mouvement de l'eau dans le sol de manière notable, vu que les solutés peuvent être entraînés par l'eau. Il est cependant très important dans l'absorption de l'eau par les plantes à travers les membranes cellulaires. Les sels peuvent également faire baisser la pression de vapeur d'eau. Ce phénomène donne au potentiel osmotique un caractère important dans la diffusion de la vapeur d'eau.

3.2.4. Le potentiel pneumatique

Ce potentiel (énergie par unité de masse) peut être exprimé comme suit :

$$\Phi_p = P_a g \quad (4)$$

où P_a est la pression d'air contenu dans le sol ou dans les conduits de la plante, et g l'accélération de la pesanteur.

On considère généralement que la pression d'air est uniforme dans le profil de sol ou dans les conduits du végétal. Par conséquent, ce potentiel est négligé quand on caractérise les relations hydriques sol-plante, principalement l'écoulement de l'eau dans le système. Cette hypothèse n'est cependant pas toujours justifiée.

3.3. Expression du potentiel hydrique

Le potentiel hydrique peut être exprimé de trois manières différentes :

- **Énergie par unité de masse.** L'énergie potentielle est définie en termes d'énergie requise pour enlever une masse unitaire d'eau du système sol-plante-atmosphère sous des conditions spécifiques. Cela est considéré comme une expression fondamentale en physique du sol et en physiologie végétale. Les dimensions de cette expression sont L^2T^{-2} et les unités sont des joules/kg ou des ergs/g.
- **Énergie par unité de volume.** La multiplication de l'énergie par unité de masse par la masse volumique de l'eau donne l'énergie par unité de volume. L'énergie par unité de volume a les dimensions d'une pression, $ML^{-1}T^{-2}$, et peut être exprimée, par exemple, en pascals (Pa), en kilopascals (kPa), en bars, en centibars (cb) ou en millibars (mb).
- **Énergie par unité de poids (charge hydraulique).** L'énergie par unité de poids s'exprime en termes de hauteur d'une colonne de liquide qui exerce une pression donnée à la base de cette colonne. Si le liquide est l'eau, cette énergie est appelée charge hydraulique avec les dimensions d'une distance, L. Une unité communément utilisée est le centimètre d'eau (cm H₂O). Cette façon de procéder est bien commode pour exprimer le potentiel hydrique et est souvent utilisée pour caractériser l'écoulement d'eau dans le système sol-plante-atmosphère.

Dans le cas d'un sol, si l'on néglige les potentiels osmotique et pneumatique, le potentiel d'énergie par unité de poids, H , peut s'écrire :

$$H = h + z \quad (5)$$

où h est le potentiel matriciel ou de pression exprimé en charge, et z est la charge gravitationnelle qui est l'altitude du point de mesure par rapport au plan de référence. Si le point de mesure est sous le plan de référence, z est négatif.

On peut facilement passer d'une expression à l'autre du potentiel hydrique. Par exemple :

$$1 \text{ joule/kg} = 10^{-2} \text{ bar} = 10,2 \text{ cm H}_2\text{O}$$

si on prend une masse volumique de l'eau de $1\,000 \text{ kg / m}^3$. Les facteurs de conversion sont la masse volumique et l'accélération de la pesanteur.

Pour éviter de faire une confusion entre les différentes expressions de l'état énergétique de l'eau, on doit se rappeler qu'un potentiel élevé correspond à un milieu humide, signifiant qu'on se rapproche de zéro en partant des valeurs négatives. Un potentiel matriciel bas correspond à un milieu sec et à une grande valeur négative. Un potentiel élevé serait par exemple $-0,1 \text{ bar}$ alors qu'un potentiel bas serait -16 bars .

On parle également de **succion** qui est définie comme la valeur absolue du potentiel hydrique. La succion est donc de signe positif. Si l'on considère par conséquent cette définition, on aura une forte succion quand le milieu est sec et une faible succion quand le milieu est humide. L'exemple ci-avant donnera une succion faible pour la valeur de $+0,2 \text{ bar}$ et une succion forte pour la valeur de $+16 \text{ bars}$.

Au cours des années, un grand nombre d'unités a été utilisé pour exprimer la succion. Quelques-unes des unités les plus courantes sont, à part celles déjà utilisées ci-dessus : l'atmosphère (atm), le dyne par centimètre carré (dyne/cm^2) et le milli-

mètre de mercure (mm Hg). Le bar et le cm sont très utilisés chez les physiologistes des plantes et les physiciens du sol. Le tableau 10.1 permet de passer d'une unité à l'autre.

Tableau 10.1. Conversion en différentes unités utilisées pour exprimer le potentiel hydrique.

bar	cm H ₂ O	mm Hg	atm	cb	mb	joule / kg
1	1 020	750,1	0,986 9	100	1 000	100

Note 1 bar = 100 kPa = 10⁶ ergs/g = 10⁶ dynes/cm²

3.4. Considérations particulières

3.4.1. Caractéristique de rétention d'eau du sol et son utilisation dans le domaine de la production végétale

- **Caractéristique de rétention d'eau du sol.** Quand on retire de l'eau d'un sol, son potentiel matriciel ou de pression diminue, ce qui équivaut à dire que sa succion augmente. Si par contre on lui ajoute de l'eau, son potentiel matriciel va augmenter ou sa succion diminuer. La courbe représentant la relation entre le potentiel matriciel et la teneur en eau d'un sol est connue comme sa caractéristique de rétention d'eau. On parle également de courbe pF qui exprime la relation entre le logarithme décimal de la succion et la teneur en eau du sol.

Nous avons vu ci-dessus que le potentiel d'eau peut être exprimé dans plusieurs unités appropriées. La teneur en eau quant à elle peut être exprimée en unités de masse (teneur en eau massique égale au rapport de la masse d'eau et de la masse de sol sec). Il est néanmoins plus commode de l'exprimer sur base volumique, soit le rapport entre le volume d'eau et le volume total de sol. On obtient la teneur en eau volumique en multipliant la teneur en eau massique par le rapport de la masse volumique apparente (on utilise le terme de densité apparente) du sol, δ_b , et la densité de l'eau (en réalité la masse volumique), δ , soit :

$$\theta_v = \theta_m \left(\frac{\delta_b}{\delta} \right) \quad (6)$$

où θ_v est la teneur en eau volumique et θ_m la teneur en eau massique.

La masse volumique (ou densité) apparente du sol est définie comme le rapport de la masse de sol séché à l'étuve entre 105 °C et 110 °C et le volume total de ce sol tel qu'il est prélevé au champ.

Quand la relation potentiel matriciel-teneur en eau est déterminée au cours du dessèchement du sol, on parle de **courbe de désorption**. Quand elle est déterminée au cours de l'humidification, on parle de **courbe de sorption ou d'imbibition**.

L'eau est retenue par le sol grâce à l'action combinée des forces d'attraction par les surfaces des particules solides et de l'action capillaire sur les pores. Le potentiel matriciel, comme nous l'avons déjà vu, est lié aux courbures des interfaces eau-air, qui à leur tour dépendent de la géométrie des pores et de leur humidité. Aux valeurs élevées, proches de zéro, du potentiel matriciel, correspond une occupation de la plupart des pores du sol par l'eau. Dans ces conditions la porosité totale et la distribution des pores influencent beaucoup la teneur en eau. Comme la texture in-

fluence la porosité totale et la distribution des pores, elle joue un rôle important sur la caractéristique de rétention d'eau du sol. En général, plus la teneur en argile est importante, plus élevée est la teneur en eau à un potentiel donné. L'agrégation du sol, en particulier celle des sols à texture fine tend à augmenter le nombre des macropores. Par conséquent la structure du sol joue également un rôle important en ce qui concerne la quantité d'eau retenue aux potentiels élevés ou aux succions basses. Quand les macropores sont vides, la quantité d'eau résiduelle du sol est retenue par les micropores et par l'action des particules solides du sol. Cette rétention est fortement influencée par la texture.

La compaction influence aussi la caractéristique de rétention d'eau du sol, parce qu'elle donne une proportion plus élevée de micropores et réduit la porosité totale. L'influence de la compaction est plus importante aux potentiels élevés, car elle a un effet de réduction plus marqué sur les macropores.

• **Utilisation de la caractéristique de rétention d'eau du sol en production végétale.** Le potentiel hydrique du sol détermine largement la facilité avec laquelle la plante peut extraire l'eau retenue. De plus, il est essentiel de connaître la quantité d'eau que contient un sol à des potentiels critiques donnés. Cela permet d'estimer les besoins en irrigation des cultures, comme on le verra dans le chapitre 15.

Considérons θ la teneur en eau du sol. Si le sol a une teneur en eau θ_1 à une charge de pression h_1 , le potentiel va décroître au cours de l'extraction d'eau par la plante. Si h_2 est considéré comme la charge de pression critique en dessous de laquelle la plante commence à effectivement souffrir d'un déficit hydrique, la quantité d'eau retenue par le sol au-dessus de h_2 est donnée par la différence $\theta_1 - \theta_2$. Le terme θ_2 représente la teneur en eau correspondant à la charge de pression h_2 .

En pratique le problème n'est pas aussi simple que cela. La caractéristique de rétention d'eau d'un sol est en effet sujette au phénomène d'**hystérésis**. A cause de ce fait, les valeurs de teneur en eau, θ , doivent seulement être considérées comme des estimations. Nous pouvons de manière simple définir l'hystérésis comme suit : les courbes de désorption et de sorption diffèrent l'une de l'autre parce que la teneur en eau d'un sol à un potentiel donné est fonction du cycle d'humidification et de dessèchement. On pourrait par conséquent dire que le sol à une mémoire en ce qui concerne la relation potentiel de pression-teneur en eau. La dépendance de cette relation au cycle humidification-dessèchement est appelée hystérésis. Pour tout potentiel matriciel, la teneur en eau du sol sera plus grande dans un sol en dessèchement (désorption) que dans un sol en humidification (sorption). Autrement dit, pour tout sol la courbe de désorption est toujours au-dessus de la courbe de sorption d'eau. L'effet d'hystérésis est plus marquant dans les sols humides, et encore plus dans les sols sableux, où le potentiel est déterminé par les phénomènes capillaires.

Comme autres applications de la caractéristique de rétention nous pouvons considérer les déterminations de teneur en eau à la capacité au champ et au point de flétrissement permanent. Ces deux teneurs en eau permettent de calculer la réserve en eau utile pour une culture donnée. La capacité au champ et le point de flétrissement permanent sont reconnus comme étant très imprécis. Ils sont cependant qualitativement bien utiles en pratique pour la production végétale.

• **La capacité au champ.** A la fin d'une infiltration, l'eau contenue dans la portion humidifiée du profil de sol va se redistribuer sous l'influence des gradients de potentiel. La percolation, d'abord rapide, va décroître avec le temps. La capacité au

champ (*field capacity*) est définie comme l'eau contenue dans une terre après que le taux de drainage interne à partir de la zone racinaire est devenu suffisamment faible pour être négligeable pendant un certain temps et dans des circonstances bien spécifiques. La capacité au champ est une estimation de la quantité d'eau emmagasinée dans un profil de sol et qui peut être utilisée par les plantes. On a pendant longtemps considéré, après l'introduction de ce terme par Veihmeyer et Hendrickson en 1927, que la capacité au champ était une propriété physique caractéristique de chaque type de sol. De plus, on a considéré que l'application d'une quantité d'eau donnée devrait humidifier le sol jusqu'à la capacité au champ sur une profondeur déterminée qui dépend du déficit en eau de ce sol par rapport à la capacité au champ. De nos jours la notion de capacité au champ est utilisée comme une estimation générale et grossière de la teneur en eau d'un sol après quelques jours de ressuyage. Pour la plupart des sols on peut la considérer comme équivalente aux conditions proches de l'optimum de croissance des cultures.

Le concept de capacité au champ est plus applicable à un sol grossier qu'à un sol fin parce que les sols grossiers se ressuyent rapidement après une pluie ou une irrigation et que la conductivité hydraulique (qui exprime la facilité avec laquelle l'écoulement d'eau se fait dans un sol) est faible à des potentiels hydriques relativement élevés (succions relativement basses).

La capacité au champ est influencée, entre autres, par la teneur en matière organique, la profondeur d'humidification, le cycle d'humidification, la profondeur de la nappe phréatique et les caractéristiques de l'utilisation de l'eau par les cultures. En pratique on peut prendre la valeur du potentiel matriciel de $-1/10$ ou $-1/3$ bar comme une première estimation de la capacité au champ si le sol est uniforme.

• **Le point de flétrissement.** Le point de flétrissement permanent correspond à la teneur en eau du sol en dessous de laquelle les plantes atteignent un flétrissement sans possibilité de recouvrement, même si la transpiration est presque arrêtée. Ce point correspond donc aux conditions pour lesquelles l'extraction de l'eau du sol par la plante est trop faible pour satisfaire le régime de transpiration imposé par l'atmosphère dans un environnement climatique spécifique. La teneur en eau au point de flétrissement (*wilting point*) correspond ici à la valeur moyenne de la teneur en eau de la zone racinaire.

Comme la capacité au champ, le point de flétrissement permanent n'est pas une constante du sol ou une propriété unique du sol. Il n'y a pas de valeur unique de teneur en eau à laquelle les plantes cessent d'extraire l'eau du sol. Bien que flétries, les plantes continuent à extraire l'eau du sol, mais à un taux insuffisant pour pouvoir recouvrer une turgescence des cellules. Des plantes en conditions de demande évaporative basse à modérée de l'atmosphère peuvent assécher le sol à des teneurs en eau plus basses que si elles étaient sous une demande évaporative plus élevée (Badji, 1984). De même quand les demandes évaporatives de l'atmosphère sont élevées, les plantes peuvent flétrir temporairement même si les teneurs en eau du sol sont adéquates. Le flétrissement des plantes aux heures chaudes de la journée est un phénomène bien connu en physiologie végétale. Le flétrissement est simplement le résultat d'une circulation insuffisante de l'eau vers et à travers les surfaces racinaires par rapport à la demande de la plante. Le potentiel de pression considéré communément comme proche du point de flétrissement permanent est de -15 bars. Le tournesol (*Helianthus annuus*) a été utilisée comme plante-test standard pour déterminer le point de flétrissement permanent (Peters, 1965).

• **Réserve utile.** La quantité d'eau dans un sol comprise entre la capacité au champ et le point de flétrissement permanent est appelée la réserve utile. Le terme implique que toute cette réserve en eau est utile pour les plantes. Cela est cependant assez trompeur. En effet si les teneurs en eau du sol approchent la zone de flétrissement, particulièrement durant les périodes de demandes évaporatives atmosphériques élevées ou pendant la floraison ou la pollinisation, le rendement ou la qualité de la plupart des cultures baisseront fortement. De plus, certaines plantes peuvent certainement extraire l'eau du sol à des potentiels inférieurs à -15 bars. Un exemple concret est donné par les plantes résistantes à la sécheresse ou à la salinité. Il existe aussi des plantes qui peuvent extraire l'eau du sol avant que celui-ci ne soit drainé jusqu'à la capacité au champ. L'extraction de l'eau par les cultures est en effet déterminée, en conditions de teneur en eau supérieure à la capacité au champ, par l'état d'oxygénation du sol (Letey, 1966 ; Letey et Kemper, 1967 ; Feddes et al., 1978).

En pratique, on irrigue souvent quand la réserve en eau utile est consommée jusqu'à une valeur déterminée correspondant au potentiel en eau du sol critique pour la culture considérée. Pour les cultures exigeantes en eau (cultures sensibles au déficit hydrique) telles que la pomme de terre, on peut programmer l'irrigation quand la plante aura consommé 15 à 25 % de la réserve utile. Pour plusieurs autres cultures la consommation de la réserve utile peut aller jusqu'à 50 à 75 % avant qu'on irrigue de nouveau. Ce type de pratique d'irrigation ne tient pas compte de la relation extraction d'eau par la plante-potential hydrique du sol. Des discussions relatives à la relation extraction d'eau du sol-potential hydrique peuvent être trouvées dans les travaux de Feddes et al. (1978), Molz (1981), Hoogland et al. (1981), Belmans et al (1982), Badji (1984).

Comme avec la capacité au champ, la réserve utile est un concept fort pratique si on reconnaît les limites de son application. Elle varie avec les facteurs climatiques qui influencent l'évapotranspiration, les caractéristiques du profil du sol et la profondeur d'enracinement (Skaggs et al., 1980). Si on connaît la profondeur d'enracinement, PR, on peut calculer la réserve utile comme suit :

$$RU = (\theta_{vfc} - \theta_{vwp}) PR \quad (7)$$

où RU est la réserve utile et θ_{vfc} et θ_{vwp} les teneurs en eau volumiques respectivement à la capacité au champ et au point de flétrissement permanent. La réserve utile peut être exprimée en mm, en cm ou en m. Une façon très commode de l'exprimer est le mm/m de profondeur racinaire.

On utilise aussi en pratique le concept de réserve en eau facilement utilisable pour tenir compte de la sensibilité de la culture au déficit hydrique. On passe de la réserve utile à la réserve facilement utilisable en introduisant un facteur f , soit :

$$RFU = f \cdot RU \quad (8)$$

où RFU est la réserve facilement utilisable et RU la réserve utile.

Pour une culture donnée, le facteur f est soit fonction du type de sol (Taylor et Ashcroft, 1972), soit fonction de la demande évaporative de l'atmosphère (Doorenbos et al., 1979). On peut également imaginer une relation combinant l'effet du climat et du sol.

3.4.2. Le potentiel hydrique dans la plante

Le concept de potentiel hydrique comme caractérisation de l'état de l'eau dans le continuum sol-plante-atmosphère va être appliqué dans ce paragraphe à la plante. La plante, constituée de cellules, est l'élément vivant du continuum. L'application du concept de potentiel hydrique se fera selon une approche fort simplifiée, étant donné la complexité du problème.

En conditions d'équilibre isotherme, les différents facteurs impliqués dans les relations plante-eau peuvent être synthétisés à l'aide de la relation :

$$\Phi_{pl} = \Phi_m + \Phi_o + \Phi_g + \Phi_p \quad (9)$$

où Φ_{pl} est le potentiel hydrique caractéristique de la plante sur le trajet du courant transpiratoire, Φ_m le potentiel matriciel, Φ_o le potentiel osmotique, Φ_g le potentiel gravitationnel et Φ_p représente ici le potentiel de turgescence ou potentiel hydrostatique. Le potentiel de turgescence rend compte de la pression que les membranes cellulaires exercent sur le contenu cellulaire.

Les potentiels osmotique et matriciel sont négatifs. Le potentiel osmotique exprime l'effet des solutés dans les solutions cellulaires et le potentiel matriciel exprime l'effet de la liaison colloïdes-eau avec les surfaces des cellules de la plante. Si on ne considère pas Φ_g , la somme de Φ_m , Φ_o et Φ_p est un nombre négatif sauf dans le cas de cellules turgescents où elle est nulle. Dans ces conditions, le potentiel de turgescence équilibre la somme des potentiels osmotique et matriciel.

Une approximation du potentiel osmotique est donnée par :

$$\Phi_o = -RTC_s \quad (10)$$

où : R est la constante universelle des gaz ($82 \text{ bars cm}^3/\text{mol}\cdot\text{K}$),

T la température absolue (K),

C_s = concentration des solutés en mol/cm^3 . Une valeur exacte de C_s est difficile à déterminer, car ce terme représente la somme de tous les types de solutés y compris ceux dissociés en espèces ioniques.

A cause du potentiel osmotique Φ_o , le potentiel total de la plante est fortement influencé par la force ionique des solutions interne et externe, par la présence de sucres et d'acides organiques, de protéines et de polysaccharides contenus dans les cellules du végétal.

On estime souvent le potentiel total de la plante par la somme du potentiel osmotique et du potentiel de turgescence, soit :

$$\Phi_{pl} = \Phi_o + \Phi_p \quad (11)$$

Le potentiel de turgescence dépend de l'élasticité des membranes cellulaires (Hadas, 1973).

On a pensé que le potentiel matriciel de la plupart des cellules en croissance était plutôt faible. Cependant dans les graines sèches, l'extraction de l'eau est d'abord largement due aux phénomènes matriciels. Les surfaces protéiques, la cellulose, l'amidon, etc. s'hydratent avant que la germination ne survienne. Les racines en croissance pourraient également dépendre d'une hydratation préliminaire pour pouvoir développer des forces d'expansion aussi considérables. La compréhension du concept de potentiel hydrique total et de ses composantes est donc cruciale pour mieux comprendre le comportement des végétaux.

Bien que le potentiel total soit la quantité appropriée pour décrire le mouvement de l'eau dans la plante, il n'est pas une bonne mesure du stress ou du besoin d'irrigation. Cela est dû au fait que beaucoup de processus physiologiques intervenant dans la production végétale, tels que la croissance ou la photosynthèse, sont plus directement liés à la turgescence des cellules (Hsiao, 1973).

Selon le niveau en considération le long du courant transpiratoire on considérera comme potentiel hydrique de la plante, Φ_p , le potentiel hydrique racinaire Φ_r , le potentiel hydrique du xylème Φ_x ou le potentiel hydrique foliaire Φ_f . Nous verrons comment ces différents termes interviennent dans la modélisation de l'écoulement de l'eau dans le système sol-plante dans le paragraphe 4, traitant du mouvement de l'eau dans la plante.

3.4.3. Mesure du potentiel hydrique

Dès la formulation du concept du potentiel hydrique, des méthodes pour mesurer le potentiel d'eau et ses diverses composantes ont été développées. Des méthodes plus récentes se sont ensuite ajoutées aux plus anciennes. Les méthodes plus anciennes sont très utiles pour comprendre les relations sol-plante-eau, alors que les plus récentes sont plus intéressantes pour l'agriculture et la recherche. Nous allons présenter ci-après, de manière succincte, quelques-unes de ces méthodes en guise d'illustration. Une présentation plus vaste des méthodes anciennes et récentes pour la détermination du potentiel hydrique des plantes est donnée par Salisbury et Ross (1985).

• **Mesure du potentiel matriciel du sol.** Il existe deux techniques de base communément employées pour mesurer le potentiel d'eau matriciel d'un sol : la technique indirecte du bloc résistif et la technique directe du tensiomètre. On peut également estimer de manière indirecte le potentiel matriciel du sol à l'aide d'une sonde à neutrons ou par la méthode gravimétrique. Ces deux techniques sont en réalité des méthodes de mesure de la teneur en eau du sol et ne feront pas l'objet d'une discussion ici.

La technique du **bloc résistif** repose sur la relation entre la variation de la teneur en eau du sol et celle d'une résistance électrique. La variation de la résistance électrique est mesurée entre deux électrodes enfermées dans de petits blocs de gypse (plâtre de Paris), de fibre de verre ou de nylon (Bouyocos et Mick, 1948 ; Bouyocos, 1949, 1951, 1953, 1954). Les blocs résistifs sont enterrés dans le sol et sont connectés à un pont de résistances (type Wheastone) par des fils bien isolés. La teneur en eau des blocs change avec celle du sol ; ce qui produit des variations mesurables de la conductivité électrique de la solution entre les électrodes. Les blocs peuvent être laissés dans le sol pendant des mois, voire des années, quoique les blocs réalisés avec du gypse aient plutôt tendance à se désintégrer rapidement dans des sols humides et acides et ne durent qu'une saison le plus souvent. Les blocs résistifs en gypse sont sensibles dans la zone de valeurs du potentiel hydrique allant de $-0,5$ à -15 bars. On peut par conséquent les utiliser de façon plus satisfaisante dans un sol plutôt sec que dans un sol humide.

Les blocs résistifs réalisés en nylon ou en fibre de verre sont considérés comme plus durables. Ils répondent plus rapidement et sont plus sensibles aux potentiels plus élevés (sols humides). Cependant, ils sont beaucoup plus sensibles que les blocs en gypse à la variation en salinité. De plus ils sont sensibles au phénomène d'hystérésis (différentes lectures pour une sorption et une désorption).

Les blocs résistifs sont quelque peu sensibles à la variation de la température. Ils

sont tous affectés par le phénomène d'hystérésis et sont plus fiables au cours de la désorption qu'au cours de la sorption parce que le dessèchement se fait plus lentement ; ce qui permet aux blocs d'être bien en équilibre avec le sol. On calibre les blocs en les plaçant dans un appareil à pression. Dans ce cas on mesure la résistance sous différentes pressions. Une telle calibration permet d'estimer le potentiel matriciel du sol à partir des lectures de résistance des blocs. Ils peuvent aussi être calibrés par rapport à la teneur en eau du sol si l'on prend des échantillons dans les environs immédiats des blocs pour des mesures gravimétriques.

Un problème rencontré avec les blocs résistifs est celui du changement de leur courbe de calibration avec le temps (England, 1965). Mais en dépit des différents inconvénients relatifs aux blocs résistifs, ceux-ci peuvent être utilisés dans la zone de potentiels pour lesquels le tensiomètre ne peut pas fonctionner.

Le **tensiomètre** est le seul instrument capable de mesurer directement le potentiel d'eau matriciel au champ. On l'utilise aussi pour estimer la teneur en eau d'un sol. Il consiste en une coupelle en céramique enterrée dans le sol, à la profondeur désirée, et remplie d'eau. La coupelle est connectée à un manomètre par un tube rempli d'eau. Le manomètre indique la chute de pression dans la coupelle qui est en équilibre avec le potentiel matriciel du sol. Le tensiomètre est un excellent instrument de mesure du potentiel matriciel dans les sols humides. Néanmoins quand le potentiel d'eau matriciel atteint une valeur d'environ $-0,8$ bar, il y a pénétration d'air et il devient inutilisable.

Un tensiomètre nécessite une surveillance et un entretien suivis pour être utilisé convenablement.

• **Mesure du potentiel hydrique total du sol.** Les deux méthodes décrites ci-avant ne peuvent pas permettre de mesurer le potentiel osmotique du sol. On peut négliger le potentiel pneumatique et l'obtention de la valeur du potentiel gravitationnel se résume à la définition d'un plan de référence et à la détermination de l'altitude du point de mesure par rapport à ce plan. Le potentiel osmotique peut en revanche être non négligeable dans des sols fortement fertilisés et dans des sols de zones arides ou semi-arides, où il peut y avoir un problème d'accumulation de sels dans le profil de sol. On n'a pas de nos jours un instrument tout à fait satisfaisant pour mesurer de façon routinière le potentiel hydrique total d'un sol au champ.

On pourrait utiliser un hygromètre/psychromètre pour mesurer le potentiel hydrique total du sol (Campbell, 1972 ; Campbell et al., 1973). Le fonctionnement de cet instrument repose sur la mesure de la pression de vapeur de l'air contenu dans le sol. En effet la pression de vapeur de l'air du sol (qui est en équilibre avec l'eau du sol) est liée au potentiel d'eau du sol par l'équation suivante :

$$\Phi_{\text{sol}} = \left(\frac{RT}{V_M}\right) \ln \left(\frac{e}{e^{\circ}}\right) \quad (12)$$

où : Φ_{sol} est le potentiel hydrique du sol,

R la constante universelle des gaz,

T la température absolue en kelvin (K),

V_M le volume molaire de l'eau,

e la pression de vapeur d'eau de l'air du sol,

e° la pression de vapeur d'air à la saturation à la même température que l'air du sol.

La pression de vapeur d'eau peut être exprimée en n'importe quelle unité. Si le potentiel hydrique est exprimé en bars, on peut prendre R égal à environ $82 \text{ bars}\cdot\text{cm}^3 / (\text{mol}\cdot\text{K})$ et V_M égal à $18 \text{ cm}^3/\text{mol}$. Le rapport e/e° représentant l'humidité relative est, dans le sol, proche de 1 pour les potentiels hydriques supérieurs à -15 bars. Le tableau 10.2 donne une idée de l'étroitesse de l'intervalle des humidités relatives dans l'air du sol pour des potentiels hydriques du sol allant de $-0,1$ bar à -15 bars à une température de 25°C .

Tableau 10.2. Quelques valeurs de e/e° représentant l'humidité relative de l'air contenu dans un sol par rapport à son potentiel hydrique total (d'après Hanks et Ashcroft, 1980). Les valeurs sont calculées à l'aide de l'équation (12)

Potentiel hydrique du sol (bars)	$\frac{e}{e^\circ}$	Potentiel hydrique du sol (bars)	$\frac{e}{e^\circ}$
-0,1	0,999 926	-15,0	0,988 9
-1,0	0,999 26	-100,0	0,929 6
-5,0	0,996 3	-1 000,0	0,48
-10,0	0,992 6		

Pour e/e° proche de 1, la valeur de $\ln(e/e^\circ)$ peut être approchée par $(e/e^\circ) - 1$, soit :

$$\Phi_{\text{sol}} = \left(\frac{RT}{V_M}\right) \left(\frac{e}{e^\circ} - 1\right) \tag{13}$$

Les équations (11) et (12) sont faciles à appliquer si l'on a la valeur de e/e° . Cependant on rencontre dans la réalité pratique deux problèmes majeurs : (1) pour des valeurs du potentiel hydrique telles que :

$$-15 \text{ bars} < \Phi_{\text{sol}} < -0,1 \text{ bar}$$

la pression de vapeur d'eau est si faible qu'il est très difficile de la mesurer avec une bonne précision avec des techniques standard et (2) la température doit être bien contrôlée.

• **Mesure du potentiel hydrique de la plante.** Une partie d'une plante introduite dans un système fermé atteindra l'équilibre avec son environnement. Si par conséquent on arrive à mesurer le potentiel hydrique en un point du système en équilibre, on peut considérer que la valeur obtenue est représentative du potentiel hydrique de la plante. Il existe plusieurs possibilités d'appliquer ce principe. Nous ne présentons ici, et de manière également succincte que quelques-unes des méthodes les plus utilisées pour la détermination du potentiel hydrique de la plante. Ces méthodes sont : (1) la méthode volumique, (2) la méthode psychrométrique/hygrométrique et (3) la technique de la bombe (chambre) à pression.

– Dans la **méthode volumique**, on place des échantillons de tissu dont on désire mesurer le potentiel hydrique dans une série de solutions, habituellement de saccharose, de mannitol, et mieux encore de glycol polyéthylénique, de concentrations variables mais connues. L'objectif est de trouver la solution dans laquelle le volume du tissu ne change pas, indiquant ainsi qu'il n'y a eu ni gain, ni perte d'eau. Une telle situation implique que la solution et le tissu sont en équilibre et que par conséquent ils ont le même potentiel. Une discussion sur les applications de cette technique est donnée par Salisbury et Ross (1985).

– La **méthode psychrométrique/hygrométrique** ou de pression de vapeur est une

application des équations (12) et (13). Cette technique est actuellement la méthode dominante utilisée pour la mesure du potentiel hydrique total de la plante. Cela a été possible parce qu'on a pu résoudre les problèmes inhérents à cette technique pour les tissus des plantes. Pour commencer nous avons vu auparavant que la température doit être uniforme dans le système fermé. Cette uniformité de température doit se faire avec une précision de l'ordre du centième de degré Celsius si on veut que la méthode soit suffisamment précise. Ensuite nous avons vu que l'application de cette méthode nécessite que l'on puisse mesurer l'humidité relative à l'intérieur du système. Un système ingénieux qui a permis de résoudre ces deux problèmes a d'abord été mis au point par Spanner en 1951, en Angleterre. Depuis lors, plusieurs autres chercheurs l'ont amélioré. Il s'agit du psychromètre / hygromètre à effet Peltier. Une explication détaillée du principe de fonctionnement de cet instrument peut être trouvée dans le manuel fort didactique de Salisbury et Ross (1985).

– Le développement de la **chambre à pression** comme technique commode et rapide pour mesurer le potentiel hydrique total de la plante (Scholander et al., 1965 ; Ritchie et Hinckley, 1975) a donné une remarquable impulsion à la recherche quantitative sur les relations hydriques des plantes. Malheureusement le fait de considérer Φ_{pl} comme une mesure fondamentale de l'état de l'eau dans la plante peut entraîner des erreurs d'interprétation. En effet la relation entre la croissance des plantes et le potentiel hydrique foliaire (variable la plus communément estimée) n'est qu'indirecte. La mesure pertinente pour la croissance et la production végétales est la turgescence des cellules. Mais celle-ci n'est réalisable qu'avec un équipement de laboratoire fort sophistiqué (Jones, 1984). On peut imaginer une application de l'équation (11) pour estimer le potentiel de turgescence, Φ_p (on écrit aussi P), en mesurant Φ_{pl} et Φ_o . Ceci est possible, mais avec comme conséquence soit la perte de simplicité et de précision, soit l'utilisation de la technique extrêmement fastidieuse dite de pression-volume avec la chambre à pression (Ritchie et Hinckley, 1975).

Quand on mesure le potentiel d'eau d'une plante, on doit veiller à ce que cette mesure se fasse sur le tissu approprié. On sait que les tissus appropriés pour la mesure de l'état de l'eau dans la plante sont les tissus méristématiques ou ceux, tels que dans les racines, qui agissent comme source de substances de croissance pour les plantes (Jones, 1984). Néanmoins on détermine d'habitude Φ_{pl} et Φ_p sur la feuille à cause de l'intérêt porté au comportement des stomates et des phénomènes d'échange gazeux à l'interface feuille-atmosphère.

Une difficulté majeure liée aux techniques conventionnelles d'estimation du potentiel hydrique de la plante est le problème de son intégration dans le temps. Cette difficulté a entraîné une réticence de l'utilisation de ce paramètre comme élément du planning des irrigations. En effet, la durée des processus de développement s'évalue en jours ou en semaines alors que le potentiel hydrique foliaire, par exemple, varie rapidement en fonction des conditions de l'environnement, spécialement celles affectant le taux de transpiration. Le fait que le potentiel hydrique du sol soit beaucoup plus stable que celui de la plante indique la nécessité pratique d'une intégration du potentiel hydrique foliaire par rapport au temps. Certains auteurs (Running, 1976 ; Jones, 1983) recommandent l'utilisation du potentiel hydrique foliaire mesuré avant le lever du jour comme indicateur du potentiel de base de la plante. Le potentiel de base est indépendant des conditions atmosphériques. Il donne une estimation du potentiel hydrique maximal de la plante dans la zone racinaire. La somme des potentiels hydriques foliaires journaliers, mesurés avant l'aube, peut être utilisée pour estimer de manière intégrée le stress hydrique de la plante pendant une période donnée.

Les considérations particulières présentées ci-avant ont montré que l'emploi du concept d'énergie a représenté une avance considérable pour la compréhension des relations hydriques du système sol-plante-atmosphère. Cependant il nous semble utile, à ce stade, d'attirer l'attention sur le fait qu'on n'est toujours pas parvenu à tenir compte du caractère dynamique des relations sol-plante-eau. Par suite des diverses complications rencontrées à l'heure actuelle dans la description physique du système sol-plante-atmosphère dans sa relation avec l'eau, seule une analyse semi-quantitative est possible.

4. LE MOUVEMENT DE L'EAU DANS LA PLANTE

4.1. Lois de circulation d'eau dans le système sol-plante-atmosphère

Le flux de transpiration dépasse de plusieurs fois le stock d'eau présent dans un végétal. De plus la part de ce stock qui peut être mobilisée pour participer à la transpiration est négligeable. Par conséquent, on peut généralement estimer que la quantité d'eau transpirée quotidiennement est égale à celle absorbée par les racines. On parle dans ce cas de **flux conservatif** et on peut appliquer le formalisme déjà considéré par Van den Honert en 1948 et qui est analogue à la loi d'Ohm pour l'électricité. Ce formalisme exprime le fait que le régime d'écoulement est en tout point inversement proportionnel à une résistance. La trajectoire de l'eau comprend l'écoulement du sol vers les racines, l'absorption par les racines, le transport dans les racines vers les branches et à travers le xylème jusqu'aux feuilles, l'évaporation dans les cavités intercellulaires des feuilles et la diffusion de la vapeur à travers les cavités stomatiques vers les couches d'air en contact avec les surfaces des feuilles.

En conditions de bonne alimentation hydrique, la résistance à l'écoulement est généralement plus grande dans la plante que dans le sol. La situation s'inverse au fur et à mesure que le sol se dessèche (Badji, 1984). Quel que soit le cas, cette résistance est toujours plus grande dans la zone de transition entre la feuille et l'atmosphère. Cette zone correspond à la section du trajet du flux transpiratoire où l'eau passe de l'état liquide à celui de vapeur et doit s'échapper par le lent processus de diffusion. Rappelons que les différentes sections d'écoulement d'eau sont représentées par les segments sol-racine, racine-branche, branche-feuille et feuille-atmosphère. La résistance dans chacune des sections peut être décrite à l'aide de l'équation suivante :

$$R = - \frac{(\Phi_{i+1} - \Phi_i)}{T} \quad (14)$$

où : T est la transpiration, $(\Phi_{i+1} - \Phi_i)$ la chute de potentiel entre les points i et $i+1$ délimitant la section considérée et R la résistance correspondante.

Le signe négatif du membre droit de l'équation (14) est justifié par le fait que l'écoulement se fait des potentiels élevés vers les potentiels bas. Cela équivaut à $(\Phi_{i+1} - \Phi_i) < 0$, quand il y a un flux transpiratoire.

Si l'on applique l'équation (14) aux différentes parties du système sol-plante-atmosphère, considéré toujours comme un continuum physique, et si on la résout pour la transpiration que nous prendrons égale à l'absorption racinaire, on aura :

$$T = \frac{\Phi_s - \Phi_r}{R_{sr}} = \frac{\Phi_r - \Phi_f}{R_{pl}} = \frac{\Phi_f - \Phi_a}{R_{st} + R_a} \quad (15)$$

où : Φ_s ($= \Phi_{sol}$) est le potentiel hydrique dans la zone racinaire,
 Φ_r le potentiel hydrique à la surface des racines,
 Φ_f le potentiel hydrique moyen foliaire,
 Φ_a le potentiel hydrique en équilibre avec l'humidité atmosphérique,
 R_{sr} la résistance de passage dans la section sol-racine,
 R_{pl} la résistance dans la plante,
 R_{st} la résistance stomatique,
 R_a la résistance de la couche aérodynamique.

En toute rigueur, l'équation (15) est inexacte pour le flux en phase gazeuse, puisqu'il faut considérer les pressions de vapeur et non les potentiels. De plus, le processus de transfert d'eau à partir des feuilles vers l'atmosphère est influencé par un apport d'énergie externe (par exemple, la radiation) plutôt que par la chute de potentiel seulement. Cependant cela ne change rien au sens de la démonstration.

Le formalisme de type loi d'Ohm est représenté schématiquement à la figure 10.2. Cette analogie avec le circuit électrique est également traitée dans le chapitre 7 (figure 7.11).

Les résistances dans le sol, dans les feuilles et dans l'atmosphère peuvent varier en fonction des variations des conditions météorologiques et de celles dans le sol. Le flux dans l'atmosphère est dû au gradient de pression de vapeur et le coefficient de transfert est une fonction complexe de variables telles que le vent, la turbulence, etc. Pour plus de détails sur cette portion du processus de transpiration, le lecteur peut consulter les chapitres 2, 3 et 4 de cet ouvrage.

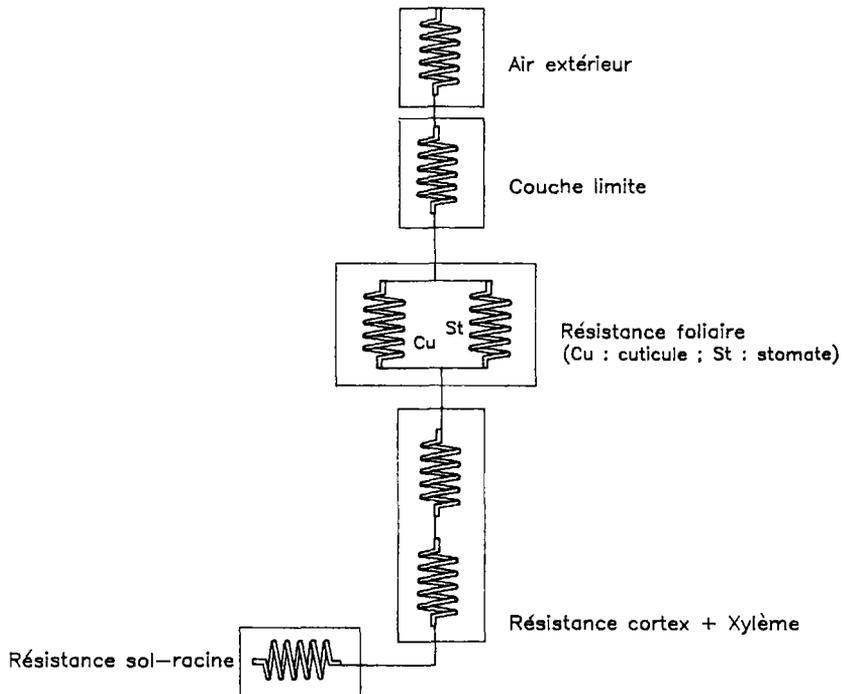


Figure 10.2. Représentation schématique de la circulation de l'eau dans le système sol-plante-atmosphère, continuum physique.

4.2. Écoulement de l'eau dans la plante

On admet actuellement trois mécanismes qui pourraient être responsables du mouvement de l'eau dans la plante : la force motrice, l'hydratation le long du trajet d'écoulement et la cohésion de l'eau. Ces trois mécanismes constituent les bases d'une approche appelée **théorie de la cohésion**.

La **force motrice** est constituée par le gradient de potentiels hydriques décroissants du sol à travers la plante jusqu'à l'atmosphère. L'eau circule du sol vers la plante et pénètre dans celle-ci à travers l'épiderme, le cortex et l'endoderme d'où elle passe dans le système conducteur des racines. Elle entre après dans le système conducteur de la tige (le xylème) d'où elle est transportée jusqu'aux feuilles. De là elle passe par transpiration à travers les stomates dans l'atmosphère. Ce processus est celui qui est représenté par le formalisme expliqué au paragraphe 4.1. Ce sont la structure spéciale du trajet de l'écoulement (le diamètre relativement faible des conduits et l'épaisseur de leurs parois) et les propriétés hydratantes des cellules du parenchyme foliaire qui sont responsables du fonctionnement du système.

La force d'hydratation entre les molécules d'eau et les cellules des parois des conduits est causée par les ponts hydrogènes et est appelée **adhésion**.

La cohésion est le troisième mécanisme de base de la théorie du mouvement de l'eau dans les plantes. C'est la force d'attraction mutuelle (due aux ponts hydrogènes) entre les molécules d'eau le long du trajet d'écoulement. En fait ces forces de cohésion peuvent être *telles* que l'eau pourrait être puisée au sommet d'un grand arbre par l'évaporation vers l'atmosphère et transmettre cette force d'extraction jusqu'au niveau de la zone racinaire. L'objet de ce chapitre n'est pas de présenter en détail les bases de la théorie de la cohésion. Cependant il est essentiel de montrer comment elle est appliquée dans la recherche d'une meilleure compréhension du problème de l'écoulement de l'eau dans les plantes.

La clef de compréhension de "pourquoi l'eau peut monter jusqu'aux feuilles des grands arbres ?" est donné par la capacité qu'a l'air sec de retenir la vapeur d'eau. Quand l'humidité relative passe en dessous de 100 %, l'affinité de l'air pour l'eau croît de façon notable. L'air n'a pas besoin d'être très sec pour créer un gradient de potentiel hydrique abrupt entre le sol et l'atmosphère en passant par la plante.

Le mouvement de l'eau dans les plantes par le mécanisme de l'adhésion (cohésion des molécules d'eau avec les cellules de la paroi des éléments conducteurs) est possible parce que les plantes ont une anatomie hautement spécialisée. La figure 10.3 donne une représentation de l'anatomie de la circulation de l'eau à travers la plante.

De manière succincte, les faits essentiels de la théorie de la cohésion utilisée pour expliquer la montée de la sève brute (eau et éléments minéraux dissous) sont les suivants :

- (1) L'eau a des forces cohésives importantes ; une fois confinée dans des tubes capillaires avec des parois mouillables, elle peut être assujettie à une tension de plusieurs bars (de 30 à plus de 300 bars) avant que la colonne d'eau ne se rompe.
- (2) L'eau adhère fortement aux cellules telles que celles du mésophylle foliaire, à partir desquelles se fait la plus grande part de l'évaporation.
- (3) L'eau dans les plantes forme un film continu supporté par les cellules saturées en eau des parois.

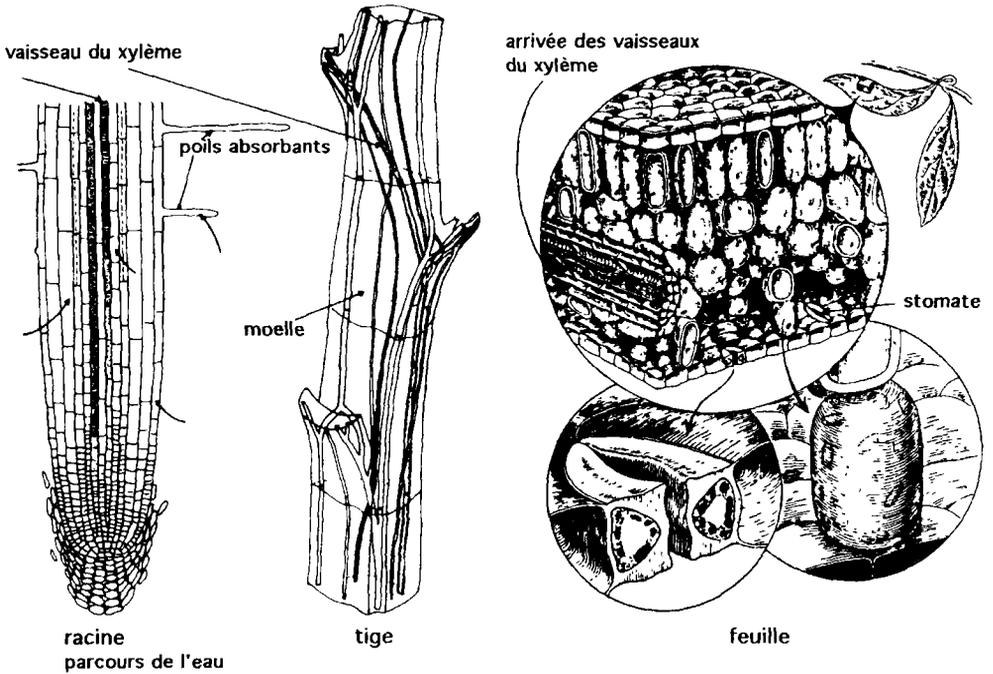


Figure 10.3. Anatomie de la circulation de l'eau dans les plantes.

Source : Katerji et Cruizat (1984), in *Les Besoins en eau des cultures*, INRA, Paris, p. 42.

(4) Quand l'eau s'évapore d'une partie de la plante, comme les cellules foliaires, la réduction du potentiel hydrique au niveau des surfaces évaporantes entraîne un mouvement d'eau du xylème à ces surfaces. Cet appel d'eau va à son tour créer une réduction du potentiel hydrique dans le xylème, chute de potentiel qui va ainsi se transmettre de proche en proche jusqu'à l'interface sol-racines, causant un écoulement de l'eau du sol vers les racines.

Il y a des objections à la théorie de la cohésion. Les principales sont relatives à l'adéquation des forces de cohésion de l'eau, à l'instabilité des films d'eau sous tension et au bouchage des conduits du xylème par l'air. Une discussion détaillée sur ces objections peut être trouvée dans l'ouvrage de Kramer (1969).

4.3. Les résistances dans différentes parties de la plante

L'équation (15) donne une idée des différentes résistances en phase liquide dans la plante. On distingue généralement la résistance sol-racine, R_{sr} , et la résistance à l'écoulement dans la plante, R_{pj} . La résistance à l'écoulement dans la plante peut être décomposée en résistances à l'écoulement dans la tige et la feuille.

La résistance sol-racine est fonction de la conductivité hydraulique du sol et des caractéristiques d'enracinement. On caractérise l'enracinement d'une plante par la densité et la profondeur racinaire. En effet, une augmentation de la densité des racines dans un horizon donné a pour effet d'améliorer l'extraction d'eau dans ce niveau. Cela signifie que la résistance à l'écoulement d'eau à l'interface sol-racine, R_{sr} , a une relation inverse à la densité racinaire. Une extension du système racinaire en profondeur et en largeur aboutit à mettre à la disposition de la plante un volume de sol plus important et donc de l'eau. On a accordé beaucoup d'attention à la ré-

sistance au mouvement de l'eau dans les racines parce que l'on considère qu'elle constitue la principale raison du déséquilibre entre la transpiration et l'absorption d'eau. Ce déséquilibre est considéré comme la cause des déficits hydriques observés aux heures chaudes de la journée chez les plantes transpirantes. De plus, les températures basses dans le sol et une aération déficiente du sol entraînent une réduction de l'absorption de l'eau suite à une augmentation de la résistance R_{sr} .

En général on considère que la résistance à l'écoulement dans la tige est relativement négligeable. Cependant cette résistance n'est pas uniforme à cause des irrégularités dans la géométrie des vaisseaux conducteurs du xylème. La résistance foliaire peut ne pas être négligeable, surtout pour les jeunes et les vieilles feuilles (Black, 1979). On considère assez souvent qu'elle vient (en importance) juste après celle des racines.

4.4. Remarque sur le mouvement de l'eau dans la plante

Le mouvement de l'eau dans une plante en transpiration est souvent traité par analogie à la loi d'Ohm pour l'électricité. L'application rigoureuse de la loi d'Ohm au transport d'eau considéré comme un processus caténaire conduit à conclure que la résistance à l'écoulement d'eau à travers une plante est plus importante dans le tronçon du trajet relatif à la phase vapeur. La conséquence immédiate de cette conclusion est que la résistance à l'interface feuille-atmosphère contrôle le mouvement de l'eau dans la plante. Ceci constitue en fait une grossière simplification. En effet, cette conclusion néglige le passage de l'eau de l'état liquide (état pour lequel le mouvement est proportionnel à la différence de potentiels hydriques) à l'état vapeur (état pour lequel le mouvement est proportionnel au gradient de pression de vapeur). Il semble plus adéquat de considérer séparément le mouvement en phase liquide de celui en phase vapeur. On peut par exemple traiter le problème en utilisant la différence de potentiels hydriques du sol jusqu'aux feuilles et la différence en pression de vapeur des feuilles à l'atmosphère.

La résistance totale de la plante est relativement basse. Elle serait plus importante dans les racines, intermédiaire dans les feuilles et plus faible dans les tiges où le mouvement se fait principalement dans le système vasculaire. La force motrice pour l'écoulement de l'eau liquide est générée par la chute du potentiel hydrique dans les feuilles, chute causée par la transpiration. Étant donné que la transpiration est contrôlée par le degré d'ouverture des stomates dans la plupart des cas et par le gradient de vapeur entre les feuilles et l'atmosphère, la vitesse à laquelle l'eau circule dans la plante est fortement contrôlée par le passage à la phase vapeur.

Quand l'absorption d'eau est réduite par un dessèchement du sol ou par une résistance racinaire importante causée par une basse température ou par une aération déficiente, on observe une perte de turgescence dans les feuilles causée par une chute de potentiel hydrique. Cela entraîne la fermeture des stomates. Par conséquent l'augmentation de la résistance sol-racine entraîne indirectement une réduction du taux de transpiration en accroissant la résistance stomatique.

Kramer (1969) rapporte que la vitesse du déplacement de l'eau entrant dans les racines et s'échappant des feuilles est relativement faible. Elle est par contre relativement très élevée dans le système vasculaire. On estime par exemple à 0,01 cm/h la vitesse avec laquelle l'eau entre dans les racines ou sort des feuilles, et à 1 000 cm/h celle à laquelle elle circule dans le xylème d'une plante de maïs. Des mesures de vi-

tesse d'écoulement de l'eau dans les plantes ligneuses ont donné des valeurs variant entre 100 et 6 000 cm/h.

Lors de notre analyse du problème de l'écoulement de l'eau dans les plantes nous avons négligé les réserves en eau que pourrait constituer le végétal. Cela n'enlève rien à l'"applicabilité" de notre approche.

5. LE COMPROMIS PHOTOSYNTHÈSE-TRANSPIRATION

5.1. Introduction

Les plantes qui croissent dans les champs consomment des centaines de kilogrammes d'eau par kilogramme de matière sèche synthétisée. Les plantes doivent donc transmettre à l'atmosphère la plus grande partie de l'eau qu'elles ont extraite du sol. Le rejet de vapeur d'eau par les plantes est appelée **transpiration**. Nous avons vu en 4.2 que la transpiration (flux transpiratoire) est due au gradient de vapeur d'eau entre les feuilles et l'atmosphère. En d'autres termes, la transpiration est soustraite aux plantes par la demande évaporative de l'atmosphère.

La question que nous pouvons nous poser à ce stade est la suivante : Pourquoi tant d'eau transpirée pour permettre la croissance et le développement jusqu'à terme d'une culture ? La réponse est donnée par le fait que la majeure partie des tissus végétaux sont formés d'atomes de carbone qui forment la charpente des molécules organiques constitutives de ces tissus, et virtuellement tout ce carbone doit provenir de l'atmosphère.

Le carbone entre dans la plante sous la forme de dioxyde (CO_2) à travers les ouvertures stomatiques et l'eau sort par diffusion à travers ces mêmes ouvertures aussi longtemps qu'elles restent ouvertes. Cela constitue le dilemme auquel la plante doit régulièrement faire face : comment faire entrer le maximum possible de CO_2 à partir d'une atmosphère où il est fortement dilué (environ 0,03 % volumique) et en même temps retenir le maximum d'eau possible pour remplir et conserver toutes les cellules turgescentes afin de procurer un milieu favorable dans lequel le CO_2 peut être, grâce à la photosynthèse, transformé en molécules de la vie. C'est aussi le défi des agriculteurs d'atteindre un rendement maximal en utilisant un minimum d'eau.

La détermination des facteurs de l'environnement et la compréhension de la manière dont ils influencent la transpiration et l'absorption du CO_2 est en réalité un travail difficile pour les chercheurs. Cela est dû au fait que les facteurs interagissent de différentes façons. Les facteurs de l'environnement n'influencent pas seulement les processus physiques d'évaporation et de diffusion. La plus grande partie de l'eau transpirée et du gaz carbonique passe à travers les stomates des feuilles dont *l'ouverture est également influencée par l'environnement*. Une augmentation de la température va, par exemple, favoriser fortement l'évaporation et faiblement la diffusion, mais peut causer la fermeture des stomates. Au lever du jour, les stomates s'ouvrent en réponse à l'augmentation de l'intensité lumineuse, et la lumière va aussi augmenter la température de l'air. Cette augmentation de température signifie que l'atmosphère peut contenir plus d'humidité, ce qui va promouvoir l'évaporation et peut-être affecter le degré d'ouverture des stomates. Le vent apporte plus de

CO₂ et va évacuer la vapeur d'eau causant une augmentation de l'évaporation et de l'absorption de CO₂. Mais si la feuille est chauffée jusqu'à une température supérieure à celle de l'air par l'énergie solaire, le vent va entraîner une diminution de cette température foliaire causant ainsi une diminution de la transpiration. Quand l'eau du sol est limitante, la transpiration et l'absorption de gaz carbonique sont inhibées à cause de la fermeture des stomates.

La plante est, comme nous l'avons déjà souligné, l'élément vivant dans le système sol-plante-atmosphère. Cet élément vivant n'est pas du tout passif par rapport aux processus de transpiration et d'absorption de CO₂ (photosynthèse). Elle possède en fait l'aptitude de limiter au moment voulu le régime transpiratoire et l'absorption de gaz carbonique en contrôlant l'ouverture des stomates des feuilles. Néanmoins, la plante paie tôt ou tard cette limitation par une réduction de son potentiel de croissance. Pour croître donc avec succès, l'économie en eau de la plante doit être telle que la demande soit équilibrée par une alimentation suffisante d'une part et que, d'autre part, la photosynthèse soit à un niveau adéquat. Il faudrait donc que la plante puisse maintenir un bon compromis photosynthèse-transpiration.

5.2. Mécanique et mécanisme des stomates

Techniquement le terme "stomate" se réfère seulement à l'ouverture, mais on l'applique souvent au système stomatique qui inclut les cellules de garde. Adjacentes à chaque cellule de garde se trouvent habituellement une ou deux cellules épidermiques modifiées appelées cellules subsidiaires. L'eau s'évapore à l'intérieur de la feuille à partir des membranes des cellules du parenchyme palissadique et du parenchyme spongieux vers les espaces intercellulaires qui donnent sur l'atmosphère externe quand les stomates sont ouverts. Le dioxyde de carbone suit le chemin inverse de diffusion de l'eau. Beaucoup de membranes de cellules des parenchymes palissadique et spongieux (appelées cellules du mésophylle) sont exposées à l'atmosphère interne des feuilles. Certaines plantes présentent plus de stomates sur la face dorsale (inférieure) que sur la face supérieure de la feuille. D'autres en présentent uniquement sur la face supérieure et les plantes aquatiques submergées n'en ont pas. Les graminées présentent généralement à peu près un nombre égal sur les deux faces de leurs feuilles.

Les stomates s'ouvrent quand les cellules de garde sont turgescentes. A priori cela semble paradoxal. On pourrait penser que le gonflement des cellules de garde forcerait plutôt les stomates à se fermer. Les stomates réagissent comme ils le font à cause de caractères spéciaux liés à la structure submicroscopique de leurs membranes. Cette structure est liée à ce qu'on définit comme la **micellation radiale**.

Mais qu'est-ce qui fait que les cellules de garde absorbent de l'eau pour devenir turgescentes afin de provoquer l'ouverture des stomates ? Ce problème classique de physiologie végétale a été discuté et étudié depuis plusieurs décennies. On pense que la turgescence des cellules de garde se fait en réponse à une variation de leur potentiel osmotique. Si tel est réellement le cas, qu'est-ce qui cause alors la variation du potentiel osmotique dans les cellules pour entraîner l'ouverture des stomates ? Des tentatives de réponse à cette question sont données par les effets de l'environnement, le processus de contrôle du potentiel osmotique des cellules de garde (la présence d'ions potassium, la présence d'acide abscissique, etc.).

Les physiologistes des plantes ont remarqué que les stomates de nombreuses es-

pèces végétales s'ouvrent au lever du jour et se ferment dans l'obscurité, permettant l'absorption du CO_2 nécessaire à la photosynthèse durant la journée. L'ouverture des stomates se déroulerait pendant une heure alors que la fermeture se ferait progressivement tout au long de l'après-midi (Salisbury et Ross, 1985). Les stomates se ferment plus rapidement si la plante est directement placée dans l'obscurité. Certaines plantes grasses des milieux chauds et secs telles que les cactus et les *Kalanchoe* agissent de manière opposée. Elles ouvrent leurs stomates pendant la nuit, fixent le dioxyde de carbone en acides organiques dans l'obscurité et ferment leurs stomates le jour. Cela constitue une bonne adaptation qui permet à ces espèces d'absorber le CO_2 à travers les stomates tout en conservant l'eau durant la journée chaude. L'ouverture des stomates d'espèces végétales non grasses nécessite un seuil d'intensité lumineuse d'environ 1/1 000 à 1/30 de pleine radiation solaire. Ce seuil d'intensité lumineuse est juste suffisant pour entraîner un peu de photosynthèse nette et une réduction de la concentration de gaz carbonique dans la feuille. L'intensité lumineuse influence la vitesse et le degré final d'ouverture des stomates. Une lumière forte donnera par exemple un degré d'ouverture plus élevé qu'une lumière faible.

Les concentrations de gaz carbonique ont également un effet sur l'ouverture des stomates. L'extraction de CO_2 pendant la photosynthèse par les cellules du parenchyme et du mésophylle constitue la raison principale d'ouverture des stomates de la plupart des espèces végétales exposées à la lumière. De plus, les plantes grasses fixent le gaz carbonique sous forme d'acides organiques la nuit et cela entraîne aussi l'ouverture de leurs stomates. Une concentration élevée de CO_2 entraîne la fermeture des stomates que ce soit le jour ou la nuit. La réponse des stomates est contrôlée par la concentration en gaz carbonique à l'intérieur de la feuille. Il y a une bonne raison de penser que les autres facteurs qui influencent la photosynthèse ou la respiration ont un effet sur l'ouverture et la fermeture des stomates de par leur action indirecte sur la concentration interne du CO_2 .

Le potentiel hydrique foliaire a également un contrôle marquant sur l'ouverture et la fermeture des stomates. Quand le potentiel hydrique décroît (augmentation du stress hydrique), les stomates se ferment. Cet effet peut être plus marquant que les faibles concentrations de gaz carbonique et la forte lumière. Le vent peut aussi entraîner une augmentation de la transpiration qui résultera en un stress hydrique dont la conséquence sera la fermeture des stomates.

Les températures élevées (30 à 35 °C) entraînent généralement la fermeture des stomates. Cela pourrait être dû au stress hydrique ou à une augmentation de la respiration qui entraînerait une concentration importante de CO_2 à l'intérieur de la feuille. Cependant il existe des espèces végétales qui ouvrent leurs stomates au lieu de les fermer quand la température est élevée.

Nous avons vu que l'ouverture des stomates se fait suite à une absorption d'eau par les cellules de garde qui deviennent ainsi turgescentes. Nous savons que cette absorption d'eau se fait en réponse à un potentiel osmotique plus bas suite à la présence de solutés. Les physiologistes ont pu remarquer que l'élément responsable de cette baisse de potentiel osmotique est l'ion potassium, K^+ . Une augmentation de la concentration en ions K^+ jusqu'à 0,5 mol est suffisante pour entraîner une baisse du potentiel osmotique d'environ 20 bars. L'ouverture des stomates et le mouvement des ions potassium vers les cellules de garde sont intimement liés. La lumière entraîne une concentration d'ions K^+ dans les cellules de garde. Il en est de même avec les faibles concentrations de gaz carbonique. Quand les feuilles sont transfé-

rées dans l'obscurité, les ions potassium sortent des cellules de garde et se concentrent dans les cellules environnantes. Cela entraîne une fermeture des stomates. Les cellules de garde doivent donc obtenir les ions potassium des cellules accessoires. Les stomates se ferment également en présence d'une hormone végétale, l'acide abscissique (ABA). L'application de cette hormone cause en effet une perte d'ions potassium par les cellules de garde.

Il semble qu'il y ait deux boucles interactives qui contrôlent l'ouverture et la fermeture des stomates. Quand la concentration en gaz carbonique décroît dans les espaces intercellulaires, les ions K^+ se déplacent vers les cellules de garde causant ainsi une ouverture des stomates. Cette ouverture des stomates permet au gaz carbonique d'entrer. Ce schéma illustre la première boucle qui sert les besoins de la photosynthèse. Cette boucle sert également pour la transpiration des plantes non grasses. Si le stress hydrique se développe, l'acide abscissique (ABA) commence à apparaître dans l'eau qui entre dans les cellules de garde. Ce qui entraîne une fermeture des stomates. Ce schéma représente la seconde boucle. Les deux boucles sont interactives. En effet le degré de réponse stomatique à l'ABA dépend de la concentration de CO_2 dans les cellules de garde et la réponse des stomates au CO_2 dépend de la présence de l'ABA. Une boucle fournit le CO_2 pour la photosynthèse, une autre protège contre la perte excessive d'eau.

5.3. Mesure de la transpiration

Étant donné que la concentration en CO_2 atmosphérique est relativement constante, le défi qui se présente à nous est la mesure de la transpiration. De toute façon comprendre la transpiration nous donne une bonne base pour comprendre l'absorption du CO_2 .

Comme première méthode de mesure de la transpiration, on pourrait considérer par exemple une tente transparente en plastique ou un tunnel avec un environnement contrôlé. Notre système expérimental recouvre un certain nombre de plantes et la température, l'humidité et les niveaux de concentration de gaz carbonique de l'air sont mesurés à l'entrée et à la sortie. A partir des données recueillies, il sera possible de calculer la transpiration et la photosynthèse. Mais une difficulté évidente demeure : comment pouvons-nous être sûr que notre tente transparente par exemple n'influence pas notre environnement ? En d'autres termes, dans quelle mesure les résultats obtenus sont-ils représentatifs de la réalité ? On peut certes, actuellement, à l'aide d'une instrumentation sophistiquée, contrôler les températures, les humidités et les concentrations en gaz.

Une approche plus simple est celle du **lysimètre**. Le lysimètre peut être défini comme un conteneur qui permet de mesurer de façon assez précise les termes du bilan d'eau au champ. On peut de la sorte mesurer la transpiration d'une culture ou plutôt son évapotranspiration. L'évapotranspiration est la valeur combinée de la transpiration et de l'évaporation d'eau à la surface du sol. La mesure directe de l'évapotranspiration ou son calcul à partir des données du sol, du climat et de la plante, la séparation des termes évaporation et transpiration et l'interprétation des données à l'échelle du champ sont traités dans les chapitres 3 et 4 de cet ouvrage. Au laboratoire on peut mesurer l'évapotranspiration à l'aide de microlysimètres (colonne de sol, pot, etc.). Le problème est celui de l'application des résultats observés aux conditions au champ.

6. RÉPONSES ET ADAPTATIONS DES PLANTES AU DÉFICIT HYDRIQUE

6.1. Introduction

La croissance et le développement des plantes sont directement contrôlés par le **stress** ou **déficit hydrique** dans le végétal, et seulement de manière indirecte par l'atmosphère et le sol. On parle de stress ou de déficit hydrique lors de situations entraînant un déficit de turgescence des cellules végétales. Le déficit hydrique dans la plante peut varier d'une valeur faible, seulement détectable par les instruments de mesure, au flétrissement observé sous une chaleur excessive ou au flétrissement permanent avec mort par dessèchement. En termes plus simples, un déficit hydrique survient quand le taux de transpiration excède celui d'absorption d'eau par les racines.

Le déficit hydrique se caractérise par une chute de la teneur en eau, du potentiel osmotique et du potentiel hydrique total accompagnée par une perte de turgescence, une fermeture des stomates et une chute de la croissance. Un déficit hydrique sévère résulte en une réduction drastique de la photosynthèse et une perturbation de nombreux autres processus physiologiques. Il aboutit en fin de compte à un arrêt de la croissance et à la mort par dessèchement.

On reconnaît généralement que le stress cause plus de dégâts au végétal à certains stades de croissance, appelés **stades critiques**, qu'à d'autres. La période critique coïncide habituellement avec les moments où les organes reproducteurs sont formés et quand surviennent la pollinisation et la fertilisation. Néanmoins, certaines plantes comme le café ont besoin d'un déficit hydrique avant que leur floraison ne soit induite par la pluie ou l'irrigation. De plus dans certaines circonstances, un stress hydrique modéré peut entraîner une amélioration de la qualité des productions végétales comme, par exemple, chez la bettrave à sucre et les cultures fourragères.

6.2. Les causes du déficit hydrique et son développement

Le déficit hydrique chez les plantes est causé soit par la perte excessive d'eau, soit par une absorption inadéquate, ou par une combinaison des deux.

Si l'absorption n'arrive pas à suivre la transpiration, il y aura un stress hydrique dans la plante. *Le retard de l'absorption sur la transpiration* qui est la cause du déficit hydrique, observé chez nombre de végétaux, à midi, *est le résultat d'une résistance importante à l'écoulement de l'eau dans la plante* (Kramer, 1969), et aussi du fait que la transpiration et l'absorption d'eau sont contrôlées par des ensembles différents de facteurs. Le taux de transpiration est en effet contrôlé par l'indice foliaire et la structure du feuillage, par le degré d'ouverture des stomates et par tous les facteurs qui déterminent l'importance du gradient de vapeur d'eau entre la plante et l'atmosphère. L'absorption de l'eau, quant à elle, est influencée par le taux de transpiration, par l'importance de la zone racinaire et l'efficacité du système racinaire, et par le potentiel hydrique et la conductivité hydraulique du sol. La conductivité hydraulique exprime la facilité avec laquelle l'eau s'écoule dans le sol.

Il n'est pas surprenant de voir que deux phénomènes qui ne sont pas contrôlés par les mêmes facteurs ne sont pas parfaitement synchronisés, même si ces deux processus sont interdépendants et "reliés" par des colonnes d'eau allant des racines

jusqu'aux feuilles. Rappelons-nous notre hypothèse de continuum sol-plante-atmosphère. En application de cette hypothèse, on devrait constater le fait suivant : étant donné que l'eau est un fluide non élastique, on devrait s'attendre à ce que toute variation de transpiration ou d'absorption soit instantanément transmise à l'autre processus. Cependant, on a une résistance considérable à l'écoulement de l'eau dans la plante. De plus, on a une zone tampon dans le système formé par le tissu parenchymateux qui fonctionne comme un réservoir qui perdrait son eau pendant les périodes où la transpiration est supérieure à l'absorption racinaire et en gagnerait dans le cas inverse. Par conséquent, le premier effet d'un taux élevé de transpiration est la chute de teneur en eau et la perte de turgescence par les feuilles des plantes qui culminent avec le flétrissement.

On sait donc que la transpiration excessive est responsable du déficit hydrique temporaire des plantes aux heures de midi. Cependant, une diminution de l'absorption racinaire causée par une diminution de la disponibilité en eau dans le sol est responsable des longues et sévères périodes de déficit hydrique dans la plante qui causent les réductions importantes de la croissance des cultures. Le niveau du potentiel d'eau du sol établit le niveau maximal du potentiel hydrique de la plante. Il y a souvent une bonne corrélation entre le stress hydrique et la production végétale, et les illustrations de ce fait abondent dans la littérature. Cependant, comme nous l'avons déjà dit dans les paragraphes précédents, le potentiel d'eau du sol ne représente qu'une indication indirecte de la diminution de la production potentielle des végétaux. En effet la production est directement contrôlée par le déficit hydrique dans les plantes.

6.3. Réponses et adaptations des plantes au déficit hydrique

Le déficit (stress) hydrique fait partie des contraintes de l'environnement qui peuvent empêcher ou diminuer la croissance des végétaux. Il résulte, comme nous l'avons vu, d'un changement dans les conditions d'alimentation en eau des plantes. En matière d'adaptation des plantes au déficit hydrique on peut distinguer (Kramer, 1969 ; Levitt 1980) : la résistance (ou tolérance), l'esquive et l'évasion. Ces trois mécanismes vont être brièvement présentés.

On définit l'adaptation comme le moyen grâce auquel les plantes survivent à des périodes de déficit hydrique. Fondamentalement, les plantes sont résistantes à la sécheresse soit par ce que leur protoplasme est capable d'endurer une déshydratation sans dommage permanent, soit parce qu'elles possèdent des caractéristiques structurales ou physiologiques qui leur permettent de ne pas subir un niveau létal de flétrissement.

6.3.1. La résistance (ou tolérance) au déficit hydrique

On dit qu'une plante est tolérante ou résistante au déficit hydrique quand elle est capable de maintenir son activité métabolique sous de faibles potentiels d'eau, jusqu'à un point donné. La tolérance au déficit hydrique est liée à des adaptations de nature physiologique. Son degré varie selon les espèces et selon le stade de croissance. On distingue également une variation au sein d'une même espèce (comportement variétal).

Du point de vue du principe "maximaliste" qui met l'accent sur la production des plantes et non sur leur capacité de survie pendant des périodes de déficit hydrique, les différences en tolérance au stress sont d'une importance mineure. En effet quand une plante est soumise à un taux de déficit hydrique proche du flétrissement permanent, il y aura vraisemblablement une réduction trop importante en produc-

tion. Pour beaucoup de plantes, la production commence déjà à diminuer pour des potentiels hydriques du sol de -1 à -2 bars, soit bien avant qu'elles ne soient en danger de mort par flétrissement permanent. Néanmoins, certaines plantes comme le sorgho ont la capacité de reprendre une croissance normale après une période de stress notable.

Renard (1980) distingue trois mécanismes explicatifs de la tolérance des plantes au déficit hydrique. Ces mécanismes sont : l'ajustement osmotique, la tolérance à la dessiccation et le maintien de la translocation.

- Dans le cas de l'**ajustement osmotique**, lors d'un déficit hydrique (sécheresse), la perte d'eau à partir des cellules provoque une concentration des solutés du cytoplasme et donc une élévation des potentiels osmotiques cellulaires et tissulaires. Ceci a pour effet de maintenir la turgescence positive et de garder par conséquent les stomates ouverts. Ce mécanisme constitue un processus d'ajustement osmotique passif et il est limité. On a cependant constaté que certaines espèces végétales ont un mécanisme d'ajustement osmotique actif. Ces espèces sont capables d'augmenter le potentiel osmotique des cellules de garde par migration de solutés à partir d'organes tels que les racines, les gaines foliaires et les tiges.

- La **tolérance à la dessiccation** correspond à une capacité de la membrane cytoplasmique de retenir les électrolytes, donc de conserver son intégrité, en cas de dessiccation. L'acquisition de cette capacité est liée au passé de la plante. Il est en effet bien connu que des plantes soumises à la sécheresse au stade jeune seront plus tolérantes ultérieurement que celles dont le passé n'a pas connu de déficit hydrique.

- Un des effets de la sécheresse est de favoriser, chez certaines espèces végétales, telles que les céréales, la translocation des assimilats accumulés dans les racines, tiges et les gaines vers les grains afin de palier le déficit en eau. La capacité de **maintien de la translocation** constitue un mécanisme de tolérance au déficit hydrique.

6.3.2. L'évasion

Dans le cas de l'évasion, la plante effectue son cycle végétatif en dehors des périodes de sécheresse qui pourraient interférer de façon significative avec leur rendement. C'est le cas des cultivars (variétés) à cycle court dont la période de végétation se situe à l'intérieur de la saison favorable. C'est également le cas de plusieurs plantes des régions désertiques qui germent, se développent et fleurissent en quelques semaines après que la pluie ait mouillé le sol. De telles plantes complètent leur cycle de croissance avant qu'un stress hydrique sévère ne s'établisse. Certaines espèces végétales utilisent le phénomène de dormance durant la saison sèche et chaude comme moyen d'évasion envers la sécheresse.

6.3.3. L'esquive

La plante, dans le cas de l'esquive, fait appel à des mécanismes pour maintenir des potentiels hydriques relativement élevés.

Un des moyens les plus efficaces d'"assurance" contre les dommages causés par la sécheresse est un système racinaire dense, profond et à rapport pondéral racines/tiges élevé. Les plantes à enracinement superficiel et peu dense comme par exemple les pommes de terre, les oignons, la laitue vont souffrir plus tôt d'un déficit hydrique que les plantes à enracinement profond comme la luzerne, le maïs, le sorgho et la tomate. La "combinaison" d'une espèce végétale ayant un bon potentiel d'enracine-

ment profond avec des conditions de sol favorables à cet enracinement est vraisemblablement un environnement avantageux pour esquiver la sécheresse.

La deuxième manière de surseoir au déficit hydrique est le contrôle de la transpiration. Les moyens utilisés par les plantes pour cela sont la fermeture stomatique, la résistance cuticulaire, l'enroulement foliaire, la diminution de surface transpirante et la chute foliaire. Renard (1980) donne une discussion assez détaillée sur la prise en compte de ces mécanismes dans l'adaptation des plantes au déficit hydrique.

BIBLIOGRAPHIE

- Badji M. (1984), *Utilisation de l'eau du sol par une culture (Brachiaria ruziziensis) en conditions climatiques semi-arides : Analyse expérimentale et simulation numérique*, thèse de doctorat ès sciences agronomiques, Dissertationes de Agricultura, 125, Faculté des sciences agronomiques, K.U. Leuven, Belgique.
- Belmans C., Wesseling J.G. et Feddes R.A. (1982), *Simulation model of the water balance of a cropped soil providing different types of boundary conditions (SWATRE)*, ICW Nota n° 1257 (improved computer programme), Institute for Land and Water Management Research, Wageningen, Pays-Bas.
- Black C. R. (1979), "The relationship between transpiration rate, water potential and resistances to water movement in sunflower (*Helianthus annuus L.*)", *J. Exp. Bot.*, **30** : 235-243.
- Bouyocos G.J. (1949), "Nylon electrical resistance unit for continuous measurement of soil moisture in the field", *Soil Science*, **67** : 319-330.
- Bouyocos G.J. (1951), "Effect of fertilizers on the plaster of paris electrical resistance method of measuring soil moisture in the field", *Journal of America Society of Agronomy*, **43** : 508-511.
- Bouyocos G.J. (1953a), "An improved type of soil hydrometer", *Soil Science*, **76** : 377-378.
- Bouyocos G.J. (1953b), "More durable plaster of paris moisture blocks", *Soil Science*, **76** : 477-451.
- Bouyocos G.J. (1954), "New type electrode for plaster of paris moisture blocks", *Soil Science*, **78** : 339-342.
- Bouyocos G.J. et Mick A.H. (1948), "A comparison of electrical resistance units for making a continuous measurement of soil moisture under field conditions", *Plant Physiology*, **23** : 532-543.
- Campbell E.C. (1972), "Vapour sink and thermal gradient effects on psychrometer calibration", in *Psychrometry in Water Relations Research*, Brown R.W., Van Haveren B.P. (eds.), Logan, Utah Agricultural experiment Station, 94-97.
- Campbell E.C., Campbell G.S. et Barlow W.K. (1973), "A dewpoint hygrometer for water potential measurement", *Agricultural Meteorology*, **12** : 113-121.
- Doorenbos J., Kassam A.H., Bentvelsen C. et Uittenbogaard G. (1979), "Yield response to water", in *Irrigation and agricultural development*, Jöhl S.S. (ed.), Pergamon Press, 257-280.
- England C.B. (1965), "Changes in fiber-glass soil moisture electrical resistance elements in long-term installations", *Soil Science Society of America Proceedings*, **29** : 229-231.
- Feddes R.A., Kowalik P.J. et Zaradny H. (1978), *Simulation of field water use and crop yield*, Simulation Monographs, Pudoc, Wageningen, Pays-Bas.
- Hadas A. (1973), "Water transfer from soil to plant", in *Arid zone irrigation*, Yaron et al. (eds.), Springer Verlag, 111-122.

- Hanks R.J. et Ashcroft G.L. (1980), *Applied soil physics : Soil water and temperature applications*, Springer-Verlag.
- Hillel D. (1974), *L'eau et le sol : Principes et processus physiques*, traduit de l'anglais par L.W. De Backer, Vander (ed.), Leuven, Paris.
- Hoogland J.C., Belmans C. et Feddes R.A. (1981), "Root water uptake model depending on soil water pressure head and maximum extraction rate", *Actae Horticulturae*, **119** : 123-131.
- Hsiao T.C. (1973), "Plant responses to water stress", *Annual Review of Plant Physiology*, 519-570.
- Jones H.G. (1983), "Estimation of an effective soil water potential at the root surface of transpiring plants", *Plant, Cell and Environment*, **6** : 671-674.
- Jones H.G. (1984), "Physiological and environmental control of evapotranspiration from plants and implications for plant water status", in *Les besoins en eau des cultures/Crop water requirements*, Conférence internationale, Paris 11-14 sept. 1984, INRA, Paris, 23-33.
- Katerji N. et Cruiziat P. (1984), "Transfert hydrique chez les végétaux. Quelques faits et problèmes", in *Les besoins en eau des cultures/Crop water requirements*, Conférence internationale, Paris 11-14 sept. 1984, INRA, 35-54.
- Kramer P. J. (1969), *Plant and soil water relationships : a modern synthesis*, McGraw-Hill Book Company, New York.
- Letey J. (1966), "Measuring aeration", *Proceedings of the Conference on drainage for efficient crop production*, American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, Michigan, 6-10.
- Letey J. et Kemper W.D. (1967), "Soil aeration", in *Irrigation agricultural lands*, Hagan R.M. et al. (eds.), American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, 941-949.
- Levitt J. (1980), *Responses of plants to environmental stresses*, Academic Press, New York.
- Molz F.J. (1981), "Models of water transport in the soil-plant-system : A review", *Water Resources Research*, **17** : 1245-1260.
- Peters D.B. (1965), "Water availability", in *Methods of soil analysis*, Black I.C. A. (dir.), American Society of Agronomy, Monograph 9, 279-289.
- Renard C. (1980), "Mécanismes d'adaptation à la sécheresse chez le riz pluvial", in *Les besoins en eau des cultures/Crop water requirements*, Conférence internationale, Paris 11-14 sept. 1984, INRA, 195-203.
- Ritchie G.A. et Hinckley T.M. (1975), "The pressure chamber as an instrument for ecological research", *Advances in ecological Research*, **9** : 165-254.
- Rose C.W. (1966), *Agricultural physics*, Pergamon Press, Oxford.
- Running S.W. (1976), "Environmental control of leaf water conductance in conifers", *Canadian Journal of Forest Research*, **6** : 104-112.
- Salisbury F.B. et Ross C.W. (1985), *Plant physiology*, Wadsworth Publishing Company, Belmont, California.
- Scholander P.F., Hammel H.T., Bradstreet E.D. et Hemmingen E.A. (1965), "Sap pressure in vascular plants : negative hydrostatic pressure can be measured in plants", *Science*, **148** : 339-346.
- Skaggs R.W., Miller D.E. et Brooks R.H. (1980), "Soil water. Part I. Properties", in *Design and operation of farm irrigation systems*, Jensen M.E. (ed.), an ASAE Monograph, 77-123.
- Slatyer R.O. et Taylor S.A. (1960), "Terminology in plant-soil-water relationships", *Nature*, **187** : 922-924.
- Taylor A.S. et Ashcroft G.L. (1972), *Physical edaphology. The physics of irrigated land and non-irrigated soils*, W.H. Freeman and Co, 553 p.

Chapitre 11

NUTRITION MINÉRALE DES PLANTES

Jean Lambert¹, Nicolas Tremblay² et Chantal Hamel³

1. Université catholique de Louvain-la-Neuve, Belgique

2. Station de recherches, Agriculture, Canada

3. Institut de recherche en biologie végétale de Montréal, Canada

Sommaire

1. Système racinaire et absorption

- 1.1. Introduction
- 1.2. Notions d'éléments essentiels et facultatifs
- 1.3. Notions d'éléments majeurs et d'éléments mineurs
- 1.4. Importance du système racinaire et absorption
- 1.5. La capacité d'échange cationique (C.E.C.) racinaire
- 1.6. Effet de l'absorption minérale au niveau racinaire sur la teneur des sols

2. Les mycorhizes

- 2.1. Définition
- 2.2. Classification
- 2.3. Rôle des mycorhizes
- 2.4. Signification écologique
- 2.5. Implications agronomiques

3. Mécanismes d'absorption et de mouvement des ions

- 3.1. La solution du sol
- 3.2. Les modes de transfert du sol vers la plante
- 3.3. Les conséquences pratiques de ces modes d'absorption
- 3.4. Les mécanismes de pénétration des électrolytes dans la plante

4. Besoins en éléments minéraux

- 4.1. Notions d'équilibre nutritionnel
- 4.2. Besoins qualitatifs
- 4.3. Synchronisme
- 4.4. Besoins bruts
- 4.5. Analyse de sol
- 4.6. Analyse foliaire
- 4.7. Perspectives

Bibliographie

NUTRITION MINÉRALE DES PLANTES

1. SYSTÈME RACINAIRE ET ABSORPTION

1.1. Introduction

Sans les végétaux, il n'y aurait aucune vie possible sur notre planète. En effet, ceux-ci, en utilisant le CO_2 dont l'excès rendrait l'atmosphère totalement irrespirable, assurent grâce au processus de la photosynthèse la transformation de l'énergie solaire en énergie chimique. Cependant, si les éléments indispensables tels que le carbone, l'hydrogène et l'oxygène sont fournis par le CO_2 et l' H_2O , la plante doit pour assurer sa survie puiser dans le sol les autres éléments dont elle a besoin. La nutrition minérale joue donc un rôle prépondérant lorsque l'on veut étudier les paramètres influençant la production végétale.

1.2. Notions d'éléments essentiels et facultatifs

Depuis les expériences de Jan Baptiste Van Helmont (1577-1644), on sait que la croissance et le développement d'une plante sont assurés d'une part par les produits élaborés par la photosynthèse et d'autre part par l'eau et les éléments minéraux puisés dans le substrat. Ces éléments sont acheminés sous forme de sels minéraux jusqu'aux parties supérieures de la plante où ils sont combinés aux glucides obtenus par la photosynthèse pour former les composants indispensables à tous les végétaux. Il importe donc de rappeler rapidement :

- quels sont les éléments minéraux indispensables et quel est leur rôle ;
 - comment ces éléments parviennent du sol jusqu'à la plante ;
 - de quelle façon ils sont absorbés par la plante.
-
- Un **élément essentiel** répond aux critères suivants :
 - sa carence empêche la plante de parfaire son cycle même si tous les autres éléments sont présents et si l'environnement est favorable ;
 - la déficience doit être spécifique pour l'élément considéré, il doit donc être irremplaçable ;
 - son absence empêche directement l'une ou l'autre réaction essentielle du métabolisme (par exemple, il doit être un constituant d'un métabolite essentiel ou bien il est nécessaire à l'action d'un système enzymatique comme c'est le cas du molybdène, pour la nitrate réductase) ;
 - incorporé au milieu de culture, injecté ou pulvérisé, l'élément supposé essentiel doit faire disparaître les symptômes de carence foliaire ou autres imputés à son absence. Il doit amener la plante à sa croissance maximale dans les limites imposées par tous les autres facteurs chimiques et physiques.

Tableau 11.1. Liste des éléments indispensables à la plante.

Carbone	C	Calcium	Ca	Molybdène	Mo
Hydrogène	H	Magnésium	Mg	Bore	B
Oxygène	O	Fer	Fe	Chlore	Cl
Phosphore	P	Manganèse	Mn	(Sodium)	(Na)
Soufre	S	Cuivre	Cu	(Silice)	(Si)
Potassium	K	Zinc	Zn	(Cobalt)	(Co)

Dans le tableau 11.1, on note que les trois premiers éléments C, H, O sont fournis par l'atmosphère et par l'eau, et interviennent dans la photosynthèse. Les trois derniers éléments Na, Si, Co repris entre parenthèses ne sont pas reconnus comme essentiels pour toutes les plantes supérieures. Ils sont cependant nécessaires à certaines plantes. C'est le cas notamment pour le sodium très utile aux chénopodiacées adaptées aux conditions salines et qui sont capables de l'absorber en très grande quantité. Le silicium serait un élément indispensable pour la nutrition du riz. Enfin, le chlore a été ajouté à la liste des éléments essentiels.

Les investigations récentes montrent que certains autres éléments peuvent être essentiels pour des types d'organismes bien déterminés. C'est ainsi par exemple que le vanadium est un élément essentiel pour certains micro-organismes.

Connaissant la relation fondamentale entre un élément nutritif et le rendement d'une plante, on peut écrire que : $y = f(x)$, où y = le rendement et x = l'élément nutritif considéré. Dans le cas d'un élément essentiel, le rendement s'annule pour $x = 0$.

• **L'élément facultatif**, bien que se retrouvant dans la plupart des plantes, n'est pas indispensable à l'accomplissement du cycle végétal. Cela ne signifie cependant pas qu'il soit sans influence sur le rendement. Ainsi par exemple, le sodium qui est un élément facultatif pour de nombreuses espèces, augmente de façon très sensible le rendement des cultures.

Pour un élément facultatif, l'équation citée plus haut devient : $y = f(x) + A$, c'est-à-dire qu'elle ne s'annule pas pour $x = 0$. La valeur de A varie évidemment avec les différents éléments considérés.

On peut donc écrire l'équation générale : $y = f(x) + A$, où $A = 0$ pour un élément essentiel, et A diffère de 0 pour un élément facultatif (voir figure 11.1).

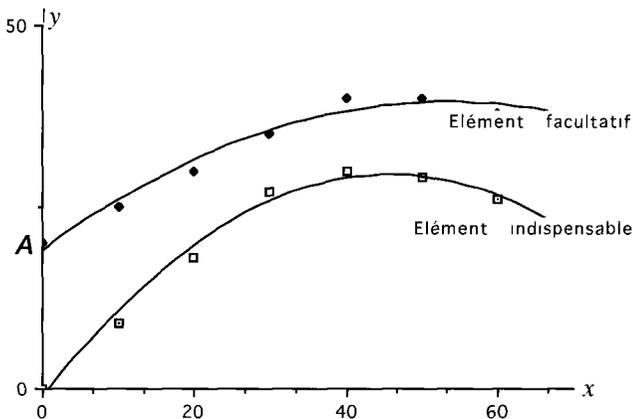


Figure 11.1. Illustration graphique de la définition d'élément nutritif indispensable et facultatif.

1.3. Notions d'éléments majeurs et d'éléments mineurs

• **L'élément majeur** ou **macronutrient** ne manifeste un effet utile qu'à des concentrations relativement importantes. A ces concentrations, aucun effet toxique n'est constaté.

Les éléments majeurs sont : C, H, O, N, P, S, K, Ca, Mg (Na et Si).

Tableau 11.2. Classification des principaux éléments minéraux nécessaires à la plante.

Eléments nutritifs	Formes de prélèvement	Fonctions
Premier groupe : C, H, O, N, S	Absorbés sous forme de CO_2 , HCO_3^- , H_2O , O_2 , NO_3^- , NH_4^+ , N_2 , SO_4^{2-} , SO_2	Composants principaux de la matière organique. Éléments essentiels impliqués dans des processus enzymatiques Assimilation par oxydo- réduction
Deuxième groupe : P, B, Si	Absorbés sous forme de phosphates, d'acide borique, de borate ou de silicates provenant de la solution du sol	Estérification avec les groupes alcooliques Esthers phosphoriques impliqués dans la trans- formation de l'énergie
Troisième groupe . K, Na, Mg, Ca, Mn, Cl	Sous forme d'ions en provenance de la solution du sol	Pas de fonction spécifique au cœur de la chlorophylle, mais contribuent au potentiel osmotique. Participent à l'activation enzymatique. Établissement des liaisons entre différentes réactions. Compléments électriques aux anions en solution. Contrôle de la perméabilité membranaire et des potentiels électriques
Quatrième groupe : Fe, Cu, Zn, Mo	Sous forme d'ions ou de chélates, en provenance de la solution du sol	Présents préférentiellement sous forme chélatée incor- porée dans les groupes prosthétiqes, participent au transport d'électrons par changement de valence.

Source : Mengel K. et Kirkby E.A (1982), *Principles of plant nutrition*, International Potash Institute Bern, Suisse, p. 13

• **L'élément mineur** ou **micronutrient** manifeste un effet à de très faibles doses ; pour des doses encore plus faibles, il produit un effet toxique appréciable.

Les éléments mineurs sont : Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B, Cl, Se, Co, Va.

On le voit, cette distinction entre éléments majeurs et éléments mineurs est assez arbitraire. Ainsi, dans certains cas, la teneur en Fe ou en Mn est parfois aussi élevée que la teneur en S ou Mg. Autre exemple, le chlore, nécessaire en quantité infime, est cependant contenu dans la plante à des concentrations qui sont souvent très élevées. Cet exemple montre bien que la teneur des différents organes d'une plante (feuille, tige, fruit, racines) ne donne que des indications assez faibles sur les besoins physiologiques de cet élément. On peut par exemple trouver de très hautes concentrations d'éléments non essentiels, qui peuvent même être toxiques. Citons l'aluminium, le nickel, le sélénium et le fluor.

Le tableau 11.2 nous donne une classification plus précise des formes sous lesquelles on trouve en général les principaux éléments majeurs et mineurs indispensables à la plante.

1.4. Importance du système racinaire et absorption

On rappellera tout d'abord que les éléments nutritifs se trouvent sous 4 formes dans le sol :

- dissous dans la solution du sol ;
- fixés au sol sous une forme plus ou moins échangeable ;
- incorporés dans la matière organique et libérés au fur et à mesure de la minéralisation. Cette fixation est particulièrement importante pour les 3 anions indispensables : N, P, S ;
- éléments précipités sous une forme temporairement ou définitivement non assimilable par la plante (ex. : rétrogradation acide ou basique des phosphates).

L'interface sol-racine joue un rôle particulièrement important dans l'absorption minérale et depuis quelque temps on attache une importance croissante à sa connaissance. Les considérations qui suivent sont inspirées principalement des travaux de Mengel et Kirkby (1982) et de Callot et al. (1982). Comme on le verra au paragraphe 3, des éléments nutritifs peuvent parvenir au niveau de la racine par flux de masse (*mass flow*), par diffusion ou par interception racinaire (*root interception*). On comprend que la structure du système racinaire joue un rôle primordial sur l'absorption des minéraux. Des expériences menées par Callot et al. (1982) ont montré que la capacité d'absorption de racines de maïs est très élevée et que, sur une partie isolée du système racinaire, on peut avoir une absorption équivalente à celle que l'on trouve ordinairement sur l'ensemble du système de la plante.

Le développement du système racinaire dépend de facteurs internes et externes.

• **Les facteurs internes.** Les monocotylédones développent un tissu racinaire tout à fait différent de celui des dicotylédones. En effet, chez les premières, on trouve des racines séminales à forte capacité d'absorption bientôt suivies de racines adventives auxquelles s'ajoutent des racines coronaires ou d'ancrage comme c'est le cas chez le maïs.

Chez les dicotylédones, la petite racine qui est formée au moment de la germination s'étend rapidement en profondeur dans le sol. L'abondance et la profondeur du système racinaire varient également suivant les facteurs génétiques. On note ainsi de grandes différences non seulement entre espèces mais aussi entre les différentes variétés d'une même espèce. En général, les espèces pérennes ont des racines plus profondes que les espèces annuelles.

• **Les facteurs externes.** Les éléments comme l'atmosphère du sol (teneurs comparées en O₂ et CO₂) et la résistance mécanique influencent considérablement le développement des racines. Celui-ci dépend également de la structure et de la texture des sols. Les sols à texture grossière et à structure finement grumeleuse sont les plus favorables au développement d'un chevelu racinaire à haute capacité d'absorption. Si l'on excepte le cas des plantes en début de végétation ou d'une mise en place à très grand écartement, on peut considérer que l'occupation latérale du terrain dans les couches superficielles du sol est à peu près totale. En conséquence, c'est la *profondeur d'enracinement qui caractérise le plus les différents systèmes*. Des développements récents de De Nobili et al. (1990) ont montré que le rôle du système racinaire pénétrant dans le sous-sol avait en général été fortement sous-estimé. Les espèces à enracinement profond comme la luzerne (*Medicago sativa*), le soja (*Glycine max*) et le coton (*Gossypium hirsutum*) ont un très fort potentiel pour l'exploitation du potassium dans le sous-sol. Mais dans certaines conditions, des céréales peuvent absorber plus de 50 % du potassium en provenance du sous-sol.

1.5. La capacité d'échange cationique (C.E.C.) racinaire

Tout comme pour les sols, la C.E.C. (capacité d'échange cationique) racinaire est définie comme la capacité d'absorption exprimée en milli-équivalents (meq) par 100 g de racines sèches. Cette capacité d'échange est une constante pour une espèce donnée et un type de fertilisation. On distingue 2 types d'espèces :

- les plantes à forte capacité d'échange, essentiellement les légumineuses, ont une absorption préférentielle des ions bivalents Ca-Mg et une absorption moindre des monovalents K-Na ;
- les espèces à faible capacité d'échange sont moins bien armées pour l'absorption des bivalents Ca-Mg.

Plus la capacité d'échange est faible, plus la plante est apte à se développer en milieu pauvre en potassium. Les valeurs suivantes chiffrent l'importance de la capacité d'échange pour quelques graminées et légumineuses fourragères : dactyle (25 meq/100 g), ray-grass anglais (de 20 à 27 meq/100 g), fléole (30 meq/100 g), blé (9 meq/100 g), trèfle blanc (43 meq/100 g), trèfle violet (48 meq/100 g).

En général, on estime que la C.E.C. varie de 25 à 100 meq/100 g chez les dicotylédones et de 10 à 50 meq/100 g chez les monocotylédones.

1.6. Effet de l'absorption minérale au niveau racinaire sur la teneur des sols

L'absorption des éléments nutritifs aux environs de la racine crée un "puits" vers lequel les différents éléments nutritifs peuvent diffuser. L'épuisement en minéraux dépend de la balance entre ce qui est apporté par le sol et ce qui est absorbé par la plante. Des besoins élevés créés par des racines à fort pouvoir d'absorption donnent naissance à un effet de "puits" très fort. Ceci semble indiquer que la racine elle-même et son métabolisme influencent la disponibilité des éléments. Lorsque la diffusion est le principal processus par lequel un élément nutritif est transporté à la surface racinaire, la quantité de cet élément absorbé par la racine peut être décrite approximativement par l'équation suivante (Mengel et Kirkby, 1982, page 66) :

$$Q = 2\pi a \alpha c t$$

où : Q est la quantité d'éléments absorbés par cm de longueur racinaire,
 a = le rayon de la racine en cm,
 α = la capacité d'absorption de la racine pour un élément nutritif exprimé par cm de longueur racinaire,
 c = la concentration moyenne à la surface racinaire,
 t = le temps de l'absorption racinaire.

Cette capacité d'absorption a des conséquences très importantes sur l'interface sol-racine et peut, comme le montre le tableau 11.3, créer de très grandes différences à ce niveau par rapport à ce qui existe dans le reste du sol.

Tableau 11.3. Gradient d'humidité provoqué en 10 jours dans un sol argileux de jeunes racines d'orge ; teneur initiale en eau : 25,9 %.

Teneurs finales en eau % de terre sèche						
Zone bien explorée par les racines	Distance en cm de la zone explorée par les racines					
	1,25	3,5	6	8,8	12,5	17,5
15,3	18,8	20	21,9	24,3	24,2	25

Source Blanchet R (1968), "La nutrition des plantes", *Bulletin technique d'information*, n° 231, Ministère de l'Agriculture, France.

Comme le montrent les tableaux 11.4 et 11.5, l'activité des racines provoque à micro-échelle une hétérogénéité considérable au niveau du sol. Cette hétérogénéité est provoquée par l'absorption sélective de la plante qui par exemple consomme plus de potassium que de calcium.

Plus on est proche de la racine, plus le sol est appauvri en P et en K.

Tableau 11.4. Gradients de concentrations en phosphore et en potassium provoqués, en un mois, par de jeunes racines de maïs, dans un sol de limon.

Distance en cm de la zone bien explorée par les racines	Éléments absorbés ppm de terre		Concentrations des solutions de la terre, mg/litre	
	P isotopiquement diluable	K échangeable	P	K
4	100	75	0,16	2,2
5,9	104	80	0,18	2,1
7,7	112	80	0,21	2,8
10	125	88	0,26	3,3

Source . Blanchet R (1968), *op. cit.*

La sélectivité de l'absorption racinaire prend une signification supplémentaire : "Elle implique en effet que le prélèvement effectué par les racines modifie le substratum dans lequel elle se développe. Il en résulte que les végétaux vont contribuer à modeler le milieu dans lequel ils vivent. L'évolution d'un sol sera donc non seulement le résultat de son origine géologique et des conditions climatiques mais elle sera profondément marquée par l'activité des êtres vivants qu'il abrite et en particulier celle de la végétation qu'il supporte" (Callot et al., 1982, p. 127).

Tableau 11.5. Comparaison des teneurs en potassium et en calcium échangeables observées sur des échantillons de terre sableuse diversement explorés par les racines de blé. (Essai en vase de végétation, durée 1 mois.)

Milieu étudié	K échangeable ppm de terre	Ca échangeable ppm de terre	Rapport Ca/K
Terre initiale	124	520	4,2
Terre peu explorée par les racines	65	356	5,5
Terre prélevée dans la rhizosphère	48	696	14,5

Source . Blanchet R. (1968), *op. cit*

2. LES MYCORHIZES

2.1. Définition

Organes mixtes, résultant de l'association entre des hyphes fongiques et des racines, ces complexes ont reçu de Frank, en 1885, le nom de mycorhizes. De telles associations se sont révélées par la suite très communes. La symbiose mycorhizienne, en fait, est la règle plutôt que l'exception chez les plantes. Le caractère fondamental de la symbiose mycorhizienne s'explique par l'origine très lointaine de l'association. En effet, des restes fossiles datant de 400 millions d'années, époque où les plantes n'avaient pas encore développé de racines, indiquent que celles-ci vivaient déjà en symbiose avec des champignons très semblables aux champignons endomycorhiziens à vésicules et arbuscules modernes. Il est probable que ces champignons, en augmentant la capacité d'absorption des rhizomes préhistoriques, ont aidé les plantes à sortir du milieu aquatique où elles vivaient, pour coloniser la terre ferme (Pirozynski et Dalpé, 1989). Les plantes ont évolué conjointement avec les champignons mycorhiziens.

2.2. Classification

Suivant que les hyphes pénètrent ou non les cellules radiculaires, on parle d'endo- ou d'ectomycorhizes. Du point de vue taxonomique, ces associations sont très variées. Si nombre d'entre elles appartiennent aux **basidiomycètes**, on trouve également des **ascomycètes**, des **zygomycètes** et des *Fungi imperfecti*. Les ectomycorhizes décrites en premier lieu probablement parce que leurs manchons visibles à l'œil nu trahissent leur présence, se retrouvent principalement chez quelques espèces arborescentes des forêts tempérées, appartenant aux familles pinacées, salicacées, bétulacées et fagacées.

On trouve les endomycorhizes pratiquement chez l'ensemble des espèces végétales autres que celles qui ont des ectomycorhizes. Il existe différents types d'endomycorhizes : l'orchidoïde, l'éricoïde, l'arbutoïde et l'endomycorhize à vésicules et arbuscules (V.A.). Ce dernier groupe est de loin le plus important. L'endomycorhize V.A. est formée par l'association entre les champignons des genres *Glomus*, *Gigaspora*, *Sclerocystis*, *Acaulospora* et *Entrophospora* de la famille des glomacées

(environ deux cents espèces), et la plupart des espèces végétales herbacées ou arborescentes, dont la plupart des espèces d'intérêt agricole, horticole ou forestier. Cette symbiose se retrouve sous toutes les latitudes.

2.3. Rôle des mycorhizes

Ce n'est pratiquement que depuis les cinquante dernières années que l'on étudie leur rôle important, dans la nutrition des végétaux. Aujourd'hui, il est largement reconnu que la symbiose mycorhizienne augmente l'efficacité d'absorption des plantes, plus particulièrement l'absorption de l'eau et des éléments peu mobiles dans le sol comme le P. La présence du champignon dans le cortex des racines de la plante-hôte change la physiologie et la morphologie de cette dernière. Par exemple, le rapport tige/racine est souvent moins élevé chez les plantes mycorhizées que chez les plantes vierges. D'autre part, les cellules des racines colonisées ont une durée de vie plus longue, caractéristique qui contribue à l'efficacité des mycorhizes. Les racines mycorhizées sont aussi métaboliquement plus actives et peuvent absorber le P plus énergiquement contre le gradient qui se crée lors de l'absorption de l'élément (Bielecki, 1973). Ainsi, les racines mycorhizées peuvent extraire le P du sol à des concentrations en deçà du seuil requis par un système racinaire vierge.

Toutefois, le mécanisme contribuant le plus à la capacité d'absorption de la mycorhize est tout simplement physique. Les hyphes des champignons mycorhiziens s'étalent sur plusieurs centimètres dans le sol, bien au-delà des 1 à 2 mm de la zone d'épuisement du P formée autour des racines, par une absorption des ions phosphate plus rapide que ne s'effectue leur diffusion vers la racine (Bielecki, 1973).

Le Tacon et al. (1984) ont montré que dans le Massif Central il existait plus de 50 espèces ectomycorhiziennes vivant en symbiose avec le pin et l'épicéa. Ces mycorhizes favorisent l'absorption des éléments minéraux et particulièrement des éléments les moins mobiles du sol : P, Cu, Zn. Elles jouent un rôle favorable sur le métabolisme de l'azote, l'alimentation en eau, l'élaboration de substances de croissance et la protection phytosanitaire des racines contre les agents pathogènes du sol. Ce dernier aspect de protection phytosanitaire, souvent négligé, est pourtant très important.

Comme le fait remarquer Pierart (1988) : (1) le manteau constitue une barrière mécanique d'autant plus efficace qu'il est épais et dense ; (2) le champignon peut produire des antibiotiques actifs sur certains organismes pathogènes ; (3) le champignon peut exercer une attraction pour les communautés bactérienne et fongique de la rhizosphère qui constituent une protection vraisemblable vis-à-vis des pathogènes. De plus, les mycorhizes constituées par certains champignons peuvent manifester une certaine résistance vis-à-vis des aphides et des nématodes.

Clément et al. (1977) ont montré que la tolérance au calcaire du pin noir d'Autriche en conditions naturelles n'est pas une caractéristique génétique de l'espèce. En effet, en l'absence de mycorhization, le pin noir sur substrat calcaire présente une chlorose sévère s'accompagnant de troubles du métabolisme de l'azote et d'une absorption excessive des cations. La mycorhization élimine la chlorose, rétablit une croissance normale, empêche la surcharge des tissus en cations et assure un métabolisme normal de l'azote au niveau de la synthèse des acides aminés et des protéines. Pour favoriser cet effet bénéfique, on pratique souvent l'inoculation avec des champignons ectomycorhiziens des bois ligneux pour reboiser des sols qui en

sont dépourvus au départ. Des expériences effectuées par M. Bouchard de la station forestière de Champenoux (Nancy) ont montré que l'inoculation avec *Laccaria-Laccata* augmentait de façon significative la reprise et la croissance du douglas en forêt. On pratique avec succès l'inoculation du champignon endomycorhizien sur les agrumes.

2.4. Signification écologique

L'endomycorhize V.A., contrairement à l'ectomycorhize, se caractérise par une très faible spécificité entre les deux partenaires, n'importe quelle espèce de champignon endomycorhizien V.A. pouvant coloniser les racines de pratiquement toutes les plantes capables de former ce type de symbiose. Devant ce caractère universel de l'endomycorhize V.A., Read et Birch (1988) ont présenté un concept très intéressant : les plantes d'un écosystème font partie d'un tout, où chacune d'elles est prise en charge par un immense réseau mycélien qui, entre autres, la relie à ses voisines. Le mycélium endomycorhizien peut permettre une redistribution des ressources entre les plantes d'un écosystème. Il a clairement été démontré que P pouvait être transloqué d'une plante saine à une voisine carencée, par voie d'hyphes endomycorhiziens (Newman et Ritz, 1986). D'autre part, Hamel et al. (1991) ont montré que l'endomycorhize V.A. joue un rôle significatif dans le transfert d'azote qui s'effectue entre les légumineuses et les graminées en culture intercalaire.

Il est intéressant de noter que plusieurs espèces de plantes qui ne forment pas d'endomycorhize, sont des mauvaises herbes notoires. Gerdemann (1968) énumère quatorze familles où la symbiose se retrouve rarement, dont celles des cypéracées, brassicacées, caryophyllacées et urticacées.

2.5. Implications agronomiques

Il est clair que la symbiose endomycorhizienne V.A. peut être bénéfique à la production agricole. Cette association augmente l'efficacité d'absorption des racines (Jeffries, 1987) et donc l'efficacité des fertilisants, améliore la tolérance des plantes à la sécheresse (Nelsen et Safir, 1981) et réduit l'impact des pathogènes (Dehne, 1982). Malheureusement, certaines pratiques culturales comme le labour (Evans et Miller, 1990), les rotations impliquant des plantes non hôtes (Ocampo et Hayman, 1981) ou des périodes de jachère (Harinikumar et Bagyaraj, 1988), certains fongicides, les fumigants, et la fertilisation phosphatée (Schubert et Hayman, 1986) nuisent à la colonisation endomycorhizienne des cultures.

De plus, comme les champignons endomycorhiziens V.A. sont biotrophes et, dans l'état actuel des connaissances, ne peuvent pas être produits en bioréacteur, le dommage infligé aux populations indigènes de champignons endomycorhiziens V.A. peut difficilement être compensé par l'inoculation des cultures. Les coûts prohibitifs de production d'inoculum sur plantes-hôtes cultivées en pots restreignent cette pratique aux cultures transplantées. Il conviendrait donc de considérer l'impact potentiel des pratiques culturales sur la microflore endomycorhizienne des sols agricoles lors de l'élaboration de stratégies de production. Récemment, Sieverding (1991) et Jeffries (1987) ont exposé l'état des connaissances sur l'écologie et la biologie des endomycorhizes V.A. dans le cadre de la production agricole.

3. MÉCANISMES D'ABSORPTION ET DE MOUVEMENT DES IONS

3.1. La solution du sol

La partie la plus importante de l'absorption se fait à partir de la solution du sol. Il est indispensable d'avoir une idée des quantités d'éléments chimiques contenues dans la solution du sol. En effet, on admet généralement que le passage de l'élément minéral du sol à la plante se fait par l'intermédiaire de l'eau du sol, d'après le schéma suivant : l'élément diffuse du sol dans l'eau contenue dans ce sol, par **équilibre de Donan**, et passe ensuite à la racine. L'absorption ne se fait pas uniquement par les poils absorbants, comme on le croyait autrefois.

On a parfois émis l'hypothèse que la plante pouvait assimiler les éléments minéraux par contact direct, la racine épousant la particule du sol, sans l'intervention de la phase "solution du sol". Pour certains auteurs cependant, il y aurait toujours passage à cette phase de solution, mais de façon à peine perceptible au niveau de la racine. La figure 11.2 donne une idée de la façon dont pourrait s'établir cet échange direct entre le sol et la racine. Des ions H^+ , libérés par les racines peuvent s'échanger avec des cations adsorbés sur les colloïdes du sol.

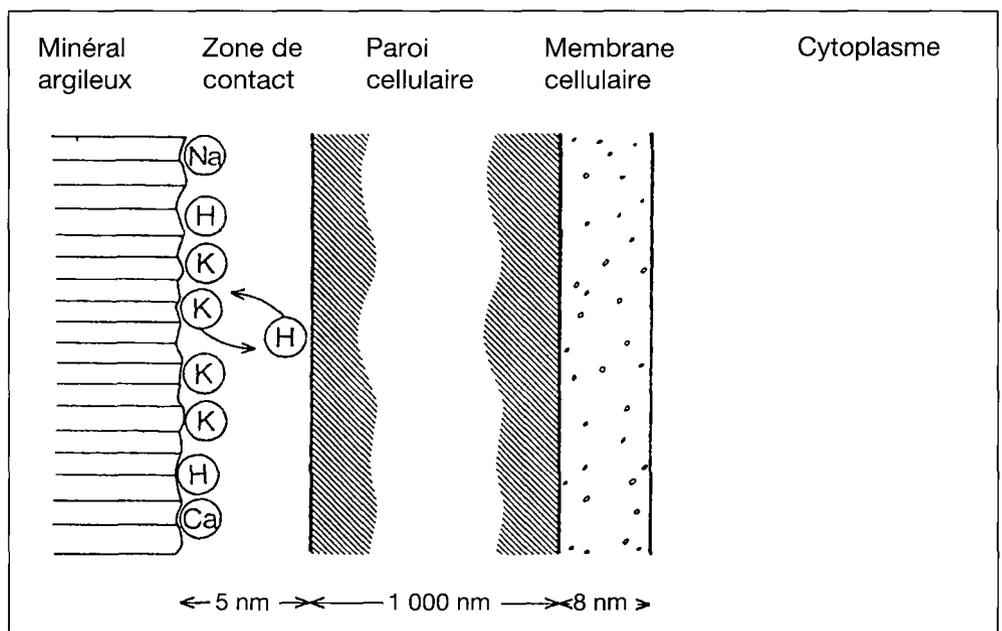


Figure 11.2. Zone d'échange entre un minéral argileux et une cellule de l'épiderme racinaire.

Source : Mengel K et Kirkby E.A. (1982), *op. cit.*, p 64.

On voit d'après ce schéma, que seuls les cations pourraient subir ce type d'échange. De toute façon, comme le fait remarquer Mengel, la quantité totale d'éléments qui seraient échangés par contact direct, est extrêmement faible par rapport à la demande totale en minéraux. C'est surtout vrai lorsque les éléments sont demandés en quantités importantes. C'est la raison pour laquelle, le flux de masse et la diffusion jouent un rôle plus important que l'interception racinaire.

La quantité d'éléments contenues dans le sol varie évidemment dans de très larges proportions. On comprend aisément qu'elle dépend, d'une part, de la quantité totale de minéraux contenus dans le sol, donc de la richesse chimique de ce sol et de sa C.E.C., et, d'autre part, de la quantité d'eau disponible, faisant varier la concentration. C'est la raison pour laquelle, pour éliminer le deuxième point, on se réfère souvent à un sol saturé en eau, par exemple, lors de la capacité au champ.

Les tableaux 11.6 et 11.7 donnent une idée de l'importance de ces concentrations.

Tableau 11.6. Concentrations en éléments majeurs du sol.

Éléments	Valeurs extrêmes pour l'ensemble des sols		Sols acides		Sols calcaires	
	mg/l	meq/l	mg/l	meq/l	mg/l	meq/l
Ca	20 – 1 520	1 – 76	136	6,8	560	28
Mg	16,8 – 2 400	1,4 – 200	45	3,8	168	14
K	7,8 – 390	0,2 – 10	27	0,7	39	1,0
Na	9,2 – 3 450	0,4 – 150	23	1,0	667	29
N(NO ₃ ⁻)	9,9 – 3 410	0,16 – 55	750	12,1	806	13
P(H ₂ PO ₄ ⁻)	0,097 – 97	0,001 – 1	0,68	0,007	2,91	0,03
S(SO ₄ ²⁻)	9,6 – 14 400	0,2 – 300	48	1,0	2 304	48
Cl	7,1 – 8 165	0,2 – 230	39	1,1	710	20

Source : Callot G et al (1982), *Les Interactions sol-racine. Incidence sur la nutrition minérale*, INRA, Paris

Tableau 11.7. Concentrations en oligo-éléments dans l'eau du sol.

Eléments	Concentrations en mg/l	Concentrations en µM/l (micromoles)
Fer	10 ⁻⁶ - 10 ⁻⁷	0,056 - 0,0056 µM
Manganèse	0,1	5 500 µM
Cobalt	0,02	1 180 µM
Cuivre	0,006	381 µM
Zinc	0,02	1 300 µM

Source : Callot et al (1982), *op. cit*

On notera en passant que la solution du sol est très peu concentrée par rapport aux solutions nutritives qui sont utilisées en physiologie végétale. Il faut cependant savoir que la solution du sol se renouvelle constamment au contact de la phase solide du sol. La vitesse de la circulation de l'eau dans un sol a donc une très grande importance : elle détermine le temps de contact entre la phase solide et la phase liquide, ainsi que la masse de soluté qui peut être entraînée par le flux pour une concentration donnée de la solution.

3.2. Les modes de transfert du sol vers la plante

Les éléments nutritifs sont mis à la disposition de la plante de trois façons :

• **Par diffusion des ions.** Ceux-ci atteignent les espaces du sol qui sont ou seront occupés par les racines. La diffusion a lieu lorsqu'un ion est transporté d'une concentration plus élevée vers une concentration moins élevée, par les mouvements thermiques aléatoires. Il y a diffusion lorsque la concentration à la surface racinaire est, soit plus élevée, soit plus basse que celle de la solution environnante. La diffusion a lieu vers la racine lorsque la concentration au niveau de la surface racinaire est abaissée, et elle a lieu de la racine vers le sol lorsque la concentration au niveau de la surface racinaire est plus élevée. La diffusion suit la loi de Fick, on a :

$$F = -D \frac{dc}{dx}$$

où : F est la vitesse de diffusion, quantité diffusée par unité de section et par unité de temps,
 dc/dx est le gradient de concentration,
 c est la concentration,
 D est le coefficient de diffusion,
 x représente la distance.

Les racines des végétaux peuvent donc créer un courant de diffusion des ions. L'importance de ce transfert dépend du rapport entre ce qui est apporté par le sol et ce qui est demandé par la plante. Une demande importante de la part de la plante ou un pouvoir d'absorption élevé chez la racine donnent lieu à un courant plus fort. Ceci montre donc que la racine elle-même et son métabolisme propre influence la disponibilité des éléments nutritifs. On a vu précédemment que l'importance du phénomène dépend de l'effet "puits" créé par la racine.

• **Par transport des ions** dans la solution du sol (*mass flow*). Il s'agit des éléments minéraux présents dans la solution du sol, qui sont absorbés par le courant de transpiration. On comprend aisément que le flux de masse joue un rôle important pour tous les éléments qui sont présents en haute concentration dans la solution du sol. Ce sera le cas notamment pour le calcium, le magnésium et l'azote sous forme de nitrates.

• **Par déplacement de la racine vers l'élément nutritif** (*root interception*). On sait que les racines, par chimiotropisme, peuvent se déplacer vers les endroits qui sont les plus riches en éléments nutritifs. Cependant, cette interception racinaire ne jouerait pas un rôle très important et ne dépasserait pas 2 % des besoins totaux.

3.3 Les conséquences pratiques de ces modes d'absorption

Ainsi qu'on l'a vu plus haut, le flux de masse est capable d'apporter la majeure partie, voire parfois des quantités excédentaires, de calcium, magnésium et azote, indispensable à la plante. Par contre, les éléments tels que le potassium et surtout le phosphore doivent parvenir au végétal par la diffusion.

On peut en tirer une conclusion très importante concernant l'application raisonnée de la fumure phospho-potassique. "Le volume du sol réellement exploité par les racines apparaît très variable selon la nature des éléments minéraux considérés. L'ensemble de la profondeur colonisée par le système racinaire semble bien participer, grâce au mouvement d'eau, à l'alimentation N, S, Ca et Mg (sous réserve naturellement que la fertilisation et l'activité biologique du sol soit assurée). Par contre, l'alimentation potassique et surtout l'alimentation phosphatée s'effectuent essen-

tiellement aux dépens des agrégats situés au voisinage de la racine. Ce fait explique la nécessité de la constitution des réserves phospho-potassiques très supérieures aux besoins annuels des cultures” (Blanchet, 1968).

On peut conclure que l’approche de la fertilisation doit être tout à fait différente suivant que l’on envisage les engrais phospho-potassiques, d’une part, ou les engrais Ca, Mg et N, d’autre part.

Dans le premier cas, à moins d’utiliser par exemple des engrais liquides, il est très difficile de remédier rapidement à une carence en ces éléments dans le sol. Pour l’azote, il en va tout autrement et une application de nitrates peut être rapidement suivie d’un effet positif sur la plante. C’est d’ailleurs sur cette constatation que sont basées, entre autres, toutes les techniques qui font appel au fractionnement de l’azote, comme c’est le cas notamment pour les céréales.

L’ion phosphorique migre très lentement dans le sol et on cite des valeurs de coefficients de diffusion de l’ordre de $5 \cdot 10^{-9}$ cm/seconde. Cependant, l’ion phosphorique peut diffuser suffisamment vite pour expliquer le prélèvement, observé pendant plusieurs jours, par une jeune racine, et à la fin de cette période les racines auront exploré de nouveaux endroits dans le sol. Nous signalons, en passant, la technique du placement qui consiste à enrober certaines graines avec du P et du K, rapidement assimilables par les jeunes racines.

Les mesures effectuées montrent que le potassium se déplace environ 100 fois plus vite que le phosphore. On a effectué des mesures qui montrent que le potassium peut migrer latéralement à 19 cm de sa localisation initiale dans le sol.

La différence de concentration dans la solution du sol entraîne une autre conséquence : au niveau de la racine, on trouve souvent des teneurs très différentes de ce qui passe à quelques cm de celle-ci. En effet, la racine agit comme un filtre qui peut absorber préférentiellement certains éléments pour en laisser d’autres. On estime que le flux de masse transporte la majeure partie de l’azote nécessaire aux cultures et leur fournit un surplus de Ca et de Mg ; par contre, il apporte moins de 10 % de P et moins de 20 % de K. Le reste du P et du K doit donc être fourni par diffusion. Les tableaux 11.8 et 11.9 visualisent cet état de chose.

Tableau 11.8. Ordres de grandeur des transports d’éléments nutritifs par les mouvements d’eau.

Élément considéré	Concentration de la solution du sol, mg/l	Transport par 3 000 t d’eau, kg d’élément/ha	Besoins d’une culture kg/ha (ex. : céréale)	Importance du transport par rapport aux besoins
P	0,2	0,6	25	très insuffisant
K	10	30	120	insuffisant
Ca	200	600	75	largement excessif
Mg	25	75	20	excessif

Source . Blanchet R (1968), *op cit*

Tableau 11.9. Quantités d'éléments majeurs disponibles en fonction des besoins du végétal.

Élément considéré	Quantités disponibles		% du total nécessaire aux plantes	
	dans la couche fertile du sol (kg / ha)	dans l'eau du sol (ppm)	intercepté par les racines	transporté jusqu'aux racines par l'eau courante
N	330	–	4	(96)
P	100	0,05	7	0,4
K	330	4	6	10
Ca	4 400	30	200	187
Mg	825	25	50	208

Source . Blanchet R (1968), *op. cit*

3.4. Les mécanismes de pénétration des électrolytes dans la plante

Les substances minérales pénètrent dans la plante de deux façons très différentes : par **diffusion** (appelée phase passive) ou par **accumulation** (appelée phase active).

Le transport actif est caractérisé par les points suivants :

- c'est une accumulation d'anions et de cations qui n'est plus en rapport avec le milieu externe ;
- cette accumulation continue lorsque la solution externe est nettement moins concentrée que la solution interne ;
- la vitesse d'accumulation dépend de la concentration pour les solutions très diluées, mais devient indépendante de la concentration pour les concentrations élevées ;
- cette vitesse dépend de la concentration interne, de l'espèce d'ions (les monovalents sont absorbés plus rapidement que les bivalents), de l'espèce végétale, de la compétition entre différents ions, de la respiration.

L'accumulation se manifeste dans tous les tissus vacuolés. Les ions traversent la membrane sous forme de composés organiques assez complexes : ils sont pris en charge par des transporteurs ou "*carriers*", qui échangeront ensuite ces ions contre des ions H^+ ou HCO_3^- . Le trajet peut donc être schématisé comme suit :

Transporteur ou "*carrier*"

Espace libre apparent		Milieu interne échange contre H^+ ou HCO_3^-
-----------------------	--	--

La sélectivité de l'absorption s'explique par le fait qu'il y a des transporteurs spécifiques pour les différents ions. La compétition entre différents ions pourrait s'expliquer lorsque ces ions sont transportés par le même "*carrier*" ; ce serait par exemple le cas pour le potassium et le sodium ou le potassium et le rubidium ou le calcium et le césium, ou encore calcium, magnésium et potassium. Cependant cette explication semble assez peu plausible à cause de la différence en grandeur et la structure

de ces ions. Les effets de synergie peuvent à leur tour s'expliquer lorsqu'un ion est nécessaire à la synthèse du transporteur.

En conclusion, on retiendra comme principes généraux de l'absorption :

(1) Des cations mobiles entrent en grand nombre pour neutraliser les anions immobiles de la cellule. Simultanément nous assistons à la sortie d'autres cations.

(2) Là où la concentration en anions immobiles est élevée (c'est-à-dire dans les cellules méristématiques, peu vacuolisées), la concentration en cations est généralement élevée.

(3) Les anions mobiles pénètrent également dans la cellule, mais moins rapidement que les cations mobiles, et ceci à cause de la concentration en anions immobiles. Ces anions mobiles pénètrent lorsqu'ils servent aux combinaisons métaboliques (ex. phosphates et nitrates). Ces anions se rencontrent également à des concentrations élevées dans les cellules de croissance à métabolisme actif.

(4) Enfin, les cations mobiles comme les anions sont accumulés par le transport actif, dans les cellules vacuolisées.

On se souviendra donc que le prélèvement racinaire est sélectif ; c'est la raison pour laquelle la composition minérale des tissus peut être très différente du milieu dans lequel croît le végétal. La découverte du transport actif qui est relativement récente et date de moins d'un siècle explique pourquoi l'activité métabolique d'une cellule peut modifier l'entrée d'un ion minéral. Mais comme le font remarquer Callot et al. (1982, p. 127) : "La sélectivité est un aspect fondamental de la nutrition minérale. Parmi les molécules biologiques, seules les protéines paraissent avoir les caractères de spécificité indispensables pour effectuer le tri des ions minéraux offerts par le milieu à la cellule. Néanmoins, l'identification des transporteurs spécifiques qui seraient inclus dans les membranes est pratiquement inexistante."

4. BESOINS EN ÉLÉMENTS MINÉRAUX

Jadis considérée comme une question résolue, la détermination des besoins des cultures reste toujours d'actualité avec l'avènement de nouvelles techniques de production, la création de nouvelles variétés à haut rendement et les questions de protection de l'environnement.

4.1. Notions d'équilibre nutritionnel

De manière simplifiée, nous pouvons distinguer trois états impliquant la plante dans sa relation avec son apport d'éléments nutritifs : la carence, l'état d'équilibre et la toxicité. Ces états sont schématisés à la figure 11.3.

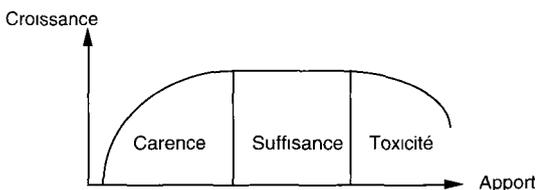


Figure 11.3. Relation entre l'apport d'éléments nutritifs et la croissance.

Ces états se traduisent dans la composition des tissus par une relation d'allure semblable.

• **Les carences.** La carence (ou **déficience**) est une situation d'insuffisance d'un élément caractérisée par l'apparition de symptômes. On distingue les carences "vraies" et les carences induites.

La **carence vraie** est le résultat d'un manque d'élément dans le sol. Cette insuffisance peut être naturelle ou consécutive à l'action épuisante des cultures qui s'y sont succédées. Les éléments majeurs, requis en plus grande quantité sont, davantage que les éléments mineurs, affectés par ce premier type.

La **carence "induite"** survient lorsque l'élément est présent en quantité suffisante mais que la plante se trouve dans l'impossibilité d'en faire l'absorption. Les causes peuvent se trouver dans les conditions physico-chimiques qui prévalent dans le sol. Ce sont principalement :

- trop forte fixation par le sol ;
- pH excessif ;
- antagonismes ou compétition entre éléments.

Les sols à texture sableuse et grossière fixent mal les fertilisants et sont sensibles à la perte par lessivage. Les éléments N, K, Ca et Mg disparaissent du profil, ce qui augmente les risques de carences vraies. De surcroît, la perte des éléments Ca et Mg est associée également à une acidification du sol qui peut, à son tour, réduire la disponibilité d'autres éléments. Les éléments P, K, Ca, Mg, S et Mo sont donc particulièrement sensibles à cet égard (Maynard, 1979).

• **Les interactions.** Les éléments peuvent s'influencer mutuellement d'une manière défavorable à l'absorption. Citons quelques exemples :

- carence en Mg par excès de K ;
- carence en Zn par excès de P ;
- carence en Mn après chaulage ;
- carence en K par excès de Ca ou Mg.

Le bicarbonate (HCO_3^-) peut pénétrer la racine et y augmenter le pH. Dans ces conditions, le fer que contient la racine devient inutilisable et des symptômes de carence se manifestent. Ce phénomène est connu sous le nom de "chlorose liée à l'application de chaux". Des mécanismes ont été identifiés qui permettent à certaines espèces ou variétés de surmonter cette difficulté. Une première stratégie consiste à stimuler la production d'acides organiques pour rétablir l'acidité des cellules, excréter des protons dans la rhizosphère et ainsi solubiliser le fer. Une seconde stratégie fait intervenir l'excrétion de chélates qui permettent la récupération du fer dans les zones de pH alcalins (Findenegg et al., 1986).

4.2. Besoins qualitatifs

La plupart des problèmes liés à la nutrition des cultures peuvent être associés aux situations suivantes : sols sableux (sujets au lessivage), sols organiques (histosols), sols acides, sols alcalins, erreurs humaines ou mécaniques (Maynard, 1979). Également, certaines conditions doivent être réunies avant que la culture puisse satisfaire ses besoins en éléments nutritifs.

• **La température.** L'effet de la température sur la capacité d'absorption de la

plante peut être masquée par son influence indirecte sur la disponibilité des ions dans le sol (Barrow, 1992). Selon Cornillon (1977), l'absorption du phosphore est gênée par les températures froides alors que l'inverse se produit pour l'ammonium (NH_4^+). En période froide, des carences en phosphore sont fréquemment constatées sur les graminées.

- **Le pH.** Fréquemment, le retour à un pH optimal est de nature à solutionner un problème de déséquilibre nutritionnel (Maynard, 1979). Dans ce cas, c'est son influence sur la disponibilité des éléments qui favorise la nutrition.

- **La salinité.** Pour réaliser l'absorption des éléments nutritifs dont elle a besoin, la plante ne doit pas être soumise à un stress hydrique induit par la salinité du sol. La tolérance à la salinité prend parfois une importance prépondérante. Cette question est abordée en détail par Maas (1986).

- **L'aération.** L'aération du sol devient insuffisante lorsque l'importance des pores est limitée par le compactage ou une saturation en eau. Dans un cas comme dans l'autre, l'azote est dénitrifié et soustrait à l'absorption par les racines. Dans un sol compact, les racines croissent avec difficulté et l'absorption de l'ensemble des éléments s'en trouve gênée (Wolkowski, 1990).

- **La forme chimique.** Il est essentiel que l'absorption d'ions de la solution du sol s'effectue de façon à préserver au sein de la plante un certain équilibre des charges électriques positives et négatives (Findenegg et al., 1986). L'azote, qui a la particularité d'être absorbé sous forme anionique en quantité importante est le principal agent en cette matière. Lorsqu'il est absorbé sous forme nitrate (NO_3^-), le résultat est l'alcalinisation de la rhizosphère.

Inversement, l'absorption d'ammonium (NH_4^+) mène à l'acidification de la rhizosphère (Marschner et al., 1986 ; Römheld, 1986). Selon la capacité du sol à réagir aux pressions exercées par la plante sur son pH, la zone d'influence de la rhizosphère peut être plus ou moins grande (Schaller, 1987). L'absorption dans la racine de cations accompagnateurs coïncide généralement avec celle du nitrate. Les plantes alimentées en nitrate contiennent ainsi davantage de cations dans leurs parties foliaires que celles qui absorbent plutôt de l'ammonium.

Pour préserver son équilibre électrique, la plante peut également mobiliser son activité métabolique. Il en résulte alors soit une production, soit une consommation de protons associées respectivement à la synthèse ou à la dégradation d'acides organiques (Findenegg et al., 1986).

4.3. Synchronisme

Le rythme d'absorption d'un élément nutritif donné n'est pas constant au cours de la saison. A titre d'exemple, il est rapporté par Beringer (1985) que, à l'hectare, l'absorption de P_2O_5 par le maïs atteint un maximum environ 60 jours après le semis. Selon Tinker (1985), les percées majeures qu'il faut attendre dans le domaine de la nutrition minérale seront associées à un meilleur synchronisme dans l'espace et dans le temps entre l'apport de fertilisants et les besoins de la culture.

4.4. Besoins bruts

• **Prélèvements.** La quantité d'éléments que la culture intègre dans sa matière vivante à des fins de croissance et de développement est définie par le terme "prélèvement". Leur appréciation est la méthode la plus simple et la plus sûre pour juger des besoins en éléments nutritifs d'une culture.

• **Exportations.** Les "exportations" se rapportent à la partie des éléments nutritifs qui est définitivement retirée du sol lorsque la récolte est consommée. Lorsque, à la suite de la récolte, des parties inutilisées de la culture sont retournées au sol pour y être incorporées, une certaine "restitution" des prélèvements en éléments nutritifs est ainsi réalisée. Les "pertes" sont consécutives à l'action érosive du vent et des eaux de ruissellement, à l'évacuation des eaux de drainage et à la migration des éléments à travers le profil de sol jusqu'à la nappe phréatique.

4.5. Analyse du sol

Le sol doit procurer un approvisionnement en éléments nutritifs suffisant et bien réparti dans le temps. Les analyses permettent, au moyen de solutions extractives, de simuler sa capacité de fournir l'un ou l'autre des éléments nutritifs. Suivant les objectifs poursuivis, la solution extractive peut varier de l'eau distillée aux acides forts. En général, on donne la préférence aux solutions dont la capacité d'extraction se rapproche le plus de celle du système racinaire. On utilise le plus souvent des acides faibles bien tamponnés. Les méthodes diffèrent essentiellement par le type de solution extractive, le rapport sol / solution extractive et la durée de l'extraction. Les méthodes sont validées en corrélant la quantité extraite au rendement ou, avec plus de succès, à l'absorption de l'élément par la plante.

Lorsque les analyses ne portent que sur deux éléments (P et K), le risque est grand de négliger d'autres facteurs importants. De même, en règle générale, les échantillons sont limités à la couche arable et négligent le fait que les cultures peuvent exploiter une profondeur bien plus grande. Les analyses de sols sont surtout utiles pour apprécier la capacité des sols pauvres à fournir les besoins des cultures. En situation d'agriculture intensive, les sols contiennent généralement des quantités largement suffisantes ou même excessives de fertilisants. Les analyses de sols sont alors utiles pour déceler les excès nocifs pour l'environnement et réaliser des économies d'engrais. Avec les sols riches, on distingue trois attitudes agronomiques (Beringer, 1985) :

- (1) le comblement des exportations ;
- (2) l'équilibre des éléments caractérisant la capacité d'échange cationique (C.E.C.) i.e. 65 % par le Ca^{++} , 10 % par le Mg^{++} , 5 % par le K et 20 % qui reste par H^+ , Na^+ et les autres cations ;
- (3) le maintien des réserves du sol au niveau duquel aucune augmentation de rendement ne peut plus être obtenue.

4.6. Analyse foliaire

• **Valeur minimale critique.** Historiquement, les programmes destinés à diagnostiquer les besoins en fertilisants à partir des analyses foliaires ont été basés sur la "valeur minimale critique", définie comme la concentration de l'élément (dans une certaine partie de la plante, et à un stade précis) sous laquelle une baisse de rende-

ment de 5 à 10 % peut être prévue. Cette approche rencontre de sérieuses limitations (Sumner, 1979). Comme pour l'analyse de sol, dès que la valeur minimale critique est atteinte, l'interprétation de la relation entre la concentration de cet élément et la croissance est rendue difficile par la présence d'interactions avec d'autres éléments nutritifs (Beringer, 1985).

- **DRIS.** Le "DRIS" (*Diagnosis and Recommendation Integrated System*) a été développé avec succès chez plusieurs cultures à partir des rapports d'éléments minéraux qui parviennent le mieux à caractériser les populations à haut rendement (Sumner, 1979 ; Walworth et Sumner, 1987). Les rapports qui unissent les éléments minéraux entre eux sont souvent moins variables que les concentrations individuelles. On a démontré que l'utilisation du DRIS remédiait à plusieurs des limitations de l'approche diagnostique traditionnelle. Par exemple, les problèmes causés par le pourcentage variable de matière sèche de l'échantillon sont réduits, et les effets de l'âge du tissu, du cultivar et de la position du tissu échantillonné sur la plante sont considérablement diminués. Le DRIS résout mieux les problèmes de déséquilibres minéraux que l'approche de la valeur minimale critique (Davee et al., 1986). Le DRIS comporte l'avantage supplémentaire de classer les éléments de l'analyse foliaire selon qu'ils sont plus ou moins limitatifs (l'élément dont la valeur indice est la plus négative est l'élément le plus requis par la plante) et de donner un aperçu général de l'état nutritionnel de la plante au moyen de la somme des valeurs absolues des indices.

L'élaboration de normes DRIS est documentée pour un ensemble de cultures : maïs grain (Elwali et al., 1985), soja (Bethlenfalvay et al., 1990) ; herbe de Bahia (Payne et al., 1990) ; laitue (Sanchez et al., 1991) ; céleri (Tremblay et al., 1990).

- **Coefficient d'absorption.** Dans le cas d'espèces pérennes vivant en association, comme c'est le cas des prairies ou des pâturages, on a montré (Lambert et al., 1972 ; Lambert et al., 1973) qu'on pouvait utiliser un coefficient synthétique défini comme le **coefficient spécifique relatif** ($C.S.R. = T_s/T_{ss}$) qui, pour chaque élément minéral, est égal au rapport entre la teneur de l'espèce considérée (T_s) et la teneur de toutes les espèces composant la phytocénose (T_{ss}). Suivant que le coefficient est inférieur, égal ou supérieur à 1 on parlera d'espèce épuisante, neutre ou enrichissante pour l'association végétale.

Il existe de grandes différences dans les capacités spécifiques d'absorption des plantes prairiales. En général les graminées ont des C.S.R. faibles pour la plupart des éléments. Au contraire, les légumineuses ont des C.S.R. très élevés pour le calcium et le magnésium et certaines autres dicotylédones comme *Taraxacum officinale*, *Heracleum sphondylium* ou *Plantago lanceolata* se caractérisent par des C.S.R. très élevés pour le potassium ou le sodium. L'utilisation de ces coefficients est un atout précieux pour prévoir les changements des teneurs minérales des associations végétales en fonction des modifications du rapport entre les espèces.

4.7. Perspectives

Depuis le virage vers l'agrochimie, et malgré les recommandations d'analyse de sol, l'application d'un excès de fertilisant constitue pour le producteur une sorte d'assurance que les besoins de sa culture soient "rencontrés". Cette pratique d'application superflue est toutefois de moins en moins tolérable étant donné les impacts sur la compétitivité des entreprises, la pollution diffuse des cours d'eau et l'induction de déséquilibres nutritionnels. La plante déséquilibrée par un apport im-

modéré de fertilisant devient plus sensible aux carences induites et aux attaques de ravageurs, ce qui contribue à alimenter le cercle vicieux de l'utilisation des pesticides. Ainsi, la question de la nutrition minérale déborde le cadre immédiat de la simple obtention des meilleurs rendements possibles et ses implications rejoignent plusieurs aspects dont la génétique, la protection contre les ravageurs et la valeur alimentaire.

En somme, les méthodes permettant d'estimer les besoins en éléments minéraux sont variées. L'expérience montre que l'agronome doit avoir recours à tous les moyens qui lui permettent de porter un diagnostic sur la fertilité du sol et donc sur les compléments d'engrais minéraux à appliquer pour assurer le rendement optimal. Il utilise parallèlement les résultats fournis par l'analyse des sols et des plantes et les observations de terrain : plantes indicatrices et examen des carences éventuelles. D'autres méthodes utiles font appel au végétal telles que les indicateurs phytosociologiques, les essais à long terme et la méthode des bilans.

BIBLIOGRAPHIE

- Barrow N.J. (1992), "A Brief Discussion on the Effect of Temperature on the Reaction of Inorganic Ions with Soil", *Journal of Soil Science*, **43** (1) : 37-45.
- Beringer H. (1985), "Adequacy of soil testing for predicting fertilizer requirements", *Plant Soil*, **83** : 21-37.
- Bethlenfalvay G.J., Franson R.L. et Brown M.S. (1990), "Nutrition of Mycorrhizal Soybean Evaluated by the Diagnosis and Recommendation Integrated System (DRIS)", *Agronomy Journal*, **82** (2) : 302-304.
- Bielecki R.L. (1973), "Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability", *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **24** : 225-252.
- Blanchet R. (1968), "La nutrition des plantes", *Bulletin technique d'information*, n° 231, Ministère de l'Agriculture, France, juillet/août 1968.
- Broyer T.C., Carlton A.B., Johnson C.M. et Stout P.R. (1954), "A micronutrient element for higher plants", *Plant Physiol.*, **29** : 526-532.
- Callot G., Chamayou H., Maertens C. et Salsac L. (1982), *Les interactions sol-racine. Incidence sur la nutrition minérale*, INRA, 1-325.
- Clément A., Garbaye et Le Tacon F. (1977), "Importance des ectomycorhizes dans la résistance au calcaire du Pin noir (*Pinus nigra* Arn. ssp. *nigricans* host)", *Écol. plant.*, **12** (E) : 111-131.
- Cornillon P. (1977), "Effet de la température des racines sur l'absorption des minéraux par la tomate", *Ann. agron.*, **28** (4) : 409-423.
- Davee D.E., Righetti T.L., Fallahi E. et Robbins S. (1986), "An evaluation of the DRIS approach for identifying mineral limitations on yield in 'Napolean' sweet cherry", *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **111** (6) : 988-993.
- Dehnbe H.W. (1982), "Interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant pathogens", *Phytopathol.*, **72** : 1115-1119.
- De Nobili M., Vittori L., Antisari et Sequi P. (1990), "K uptake from subsoil" in *Development of K-fertilizer recommendations*, Proceedings of the 22^e Colloquium of the International Potash Institute, Soligorsk, Russie, 1990, 133-144.
- Elwali A.M.O., Gascho G.J. et Sumner M.E. (1985), "DRIS Norms for 11 Nutrients in Corn Leaves", *Agronomy Journal*, **77** : 506-508.
- Evans D.G. et Miller M.H. (1990), "The role of the external mycelial network in the

- effect of soil disturbance upon vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of maize”, *New Phytol.*, **114** : 65-71.
- Findenegg G.R., van Beusichem M.L. et Keltjens W.G. (1986), “Proton balance of plants : Physiological, agronomical and ecological implications”, *Neth. J. Agric. Sci.*, **34** (3) : 371-379.
- Gerdemann J.W. (1968), “Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth”, *Ann. Rev. Phytopathol.*, **6** : 397-415.
- Hamel C.U., Barrantes-Cartin V. Furlan et Smith D.L. (1991), “Endomycorrhizal fungi in nitrogen transfer from soybean to corn”, *Plant and Soil*, **138** : 33-40.
- Harinikumar D.M. et Bagyaraj D.J. (1988), “Effect of crop rotation on native vesicular arbuscular mycorrhizal propagules in soil”, *Plant and Soil*, **110** : 77-80.
- Jeffries P. (1987), “Use of mycorrhizae in agriculture”, *CRC Crit. Rev. Biotech.*, **5** : 319-357
- Lambert J., Denudt G. et Van Oudenhove C. (1973), “Aspects écologiques et phytosociologiques de l’analyse minérale des herbages”, *Revue de l’Agriculture*, n° 4, juillet-août 1973, 893-908
- Lambert J., Denudt G. et Toussaint B. (1972), “L’indice de modification spécifique : une mesure des effets primaires et secondaires de la fumure azotée”, CIEC, VII^e Congrès mondial des fertilisants, 15-19 mai 1972, Wien und Baden, 155-161.
- Le Tacon F., Lamoure D., Guimberteau J. et Fike C. (1984), “Les symbiotes mycorrhiziens de l’épicéa commun et du douglas dans le Limousin”, *R.F.F.*, **XXXVI** (4) : 325-338.
- Maas E.V. (1986), “Salt tolerance of plants”, *Applied Agric. Res.*, **1** (1) : 12-25.
- Marschner H., Romheld V., Horst W.J. et Martin P. (1986), “Root-induced changes in the rhizosphere : Importance for the mineral nutrition of plants”. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenkd.*, **149** (4) : 441-456.
- Maynard D.N. (1979), “Nutritional disorders of vegetable crops : a review”, *Plant nutr.*, **1** (1) : 1-23.
- Mengel K. et Kirkby E.A. (1982), *Principles of Plant Nutrition*, International Potash Institute Bern, Suisse, 7-654.
- Nelsen E.I. et Ritz C.R. (1981), “Increased drought resistance of mycorrhizal onion plants”, *Phytopathol.*, **71** : 896-897.
- Newman E.I. et Ritz K. (1986), “Evidence on the pathways of phosphorus transfer between vesicular-arbuscular mycorrhizal plants”, *New Phytol.*, **104** : 77-87.
- Ocampo J.A. et Hayman D.S. (1981), “Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. II. Crop rotation and residual effects of non-host plants”, *New Phytol.*, **87** : 333-343.
- Payne G.G., Rechcigl J.E. et Stephenson R.J. (1990), “Development of Diagnosis and Recommendation Integrated System Norms for Bahiagrass”, *Agronomy Journal*, **82** (5) : 930-934.
- Pierart P. (1988), *Écophysiologie des mycorrhizes*, Université d’État de Mons, 3^e édition, 84 p.
- Pirozynski K.A. et Dalpe Y. (1989), “Geological history of the Glomaceae with particular reference to mycorrhizal symbiosis”, *Symbiosis*, **7** : 1-36.
- Read D.J. et Birch C.P.D. (1988), “The effects and implications of disturbance of mycorrhizal mycelial systems”, *Proc. Royal Soc. Edinburg*, 948 : 13-24.
- Romheld V. (1986), “pH changes in the rhizosphere of various crop plants, in relation to the supply of plant nutrients”, *Potash Review*, **55** (12) : 16 p.
- Sanchez C.A., Snyder G.H. et Burdine H.W. (1991), “DRIS Evaluation of the Nutritional Status of Crisp-Head Lettuce”, *Hortscience*, **26** (3) : 274-276.
- Schaller G. (1987), “pH changes in the rhizosphere in relation to the pH-buffering of soils.”, *Plant Soil*, **97** (3) : 439-444.

- Schubert A. et Hayman D.S. (1986), "Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. XVI. Effectiveness of different endophytes at different levels of soil phosphate", *New Phytol.*, **103** : 79-90.
- Sieverding E. (1991), "Vesicular-arbuscular mycorrhiza management in tropical agroecosystems", Deutsche Gesellschaft for Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH, Eschborn.
- Simon L., Bousquet J., Levesque R.C. et Lalonde M. (1993), "Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants", *Nature*, **363** : 67-69.
- Sumner M.E. (1979), "Interpretation of foliar analyses for diagnostic purposes.", *Agron. J.*, **71** : 343-348.
- Tinker P.B. (1985), "Crops nutrients : control and efficiency of use", *Philosophical transactions of the Royal Society of London*, **B. 310** (1144) : 175-191.
- Tremblay N., Parent L.E. et Gosselin A. (1990), "Elaboration de normes DRIS provisoires pour des transplants de céleri.", *Phytoprotection*, **71** (3) : 129-136.
- Walworth J.L. et Sumner M.E. (1987), "The diagnosis and recommendation integrated system (DRIS)" in *Advances in soil science*. Stewart B.A. (ed.), Springer Verlag, New York, **6** : 149-188.
- Wolkowski R.P. (1990), "Relationship Between Wheel-Traffic-Induced Soil Compaction, Nutrient Availability, and Crop Growth : A Review", *Journal of Production Agriculture*, **3** (4) : 460-469.

Chapitre 12

FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE

Mohamed Ismaili

Faculté des sciences, Meknès, Maroc

Sommaire

1. Introduction

2. Fixation biologique de l'azote

- 2.1. Les macrosymbiotes
- 2.2. Les microsymbiotes
- 2.3. Nodulation
- 2.4. Inoculation

3. Méthodes de mesure de la fixation biologique de l'azote

- 3.1. Réduction de l'acétylène
- 3.2. Méthode de différence
- 3.3. Méthode de dilution isotopique

4. Métabolisme de l'azote chez les légumineuses et les plantes non fixatrices

- 4. 1. Métabolisme de l'azote chez les plantes non fixatrices de l'azote
- 4. 2. Métabolisme de l'azote chez une légumineuse

5. Conclusion

Bibliographie

FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE

1. INTRODUCTION

L'ensemble des réactions de transformation de l'azote, par la microflore, et de son devenir dans le système sol-plante-atmosphère forment le cycle de l'azote, étudié dans le chapitre 5. Brièvement, l'azote de l'air (N_2) peut être fixé en azote organique par des microbes libres ou par des associations symbiotiques microbe-plante qui rendent l'azote directement disponible aux plantes. L'azote des tissus végétaux est consommé par les animaux qui le transforment en protéines animales. Quand les animaux et les plantes sont dégradés par les microbes, l'azote organique est libéré sous sa forme minérale, qui est utilisée par les plantes ou oxydée en nitrate. Le nitrate peut être perdu par lessivage, peut servir comme nutriment aux plantes ou être réduit en ammonium ou en azote N_2 gazeux qui s'échappe dans l'atmosphère, fermant ainsi le cycle de l'azote (figure 12.1).

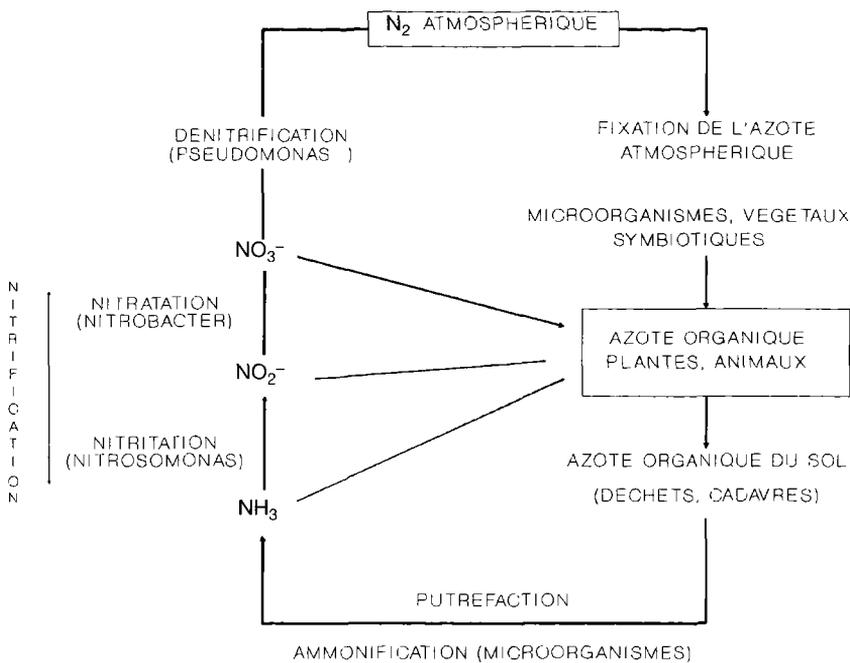


Figure 12.1. Cycle de l'azote montrant les transformations majeures dans le système sol-plante-atmosphère.

Source : Mazliak P. (1974), p 238

La partie du cycle de l'azote qui est contrôlée par le métabolisme microbien se compose des transformations accompagnant les processus de minéralisation, de nitrification et d'immobilisation. La minéralisation des substances organiques et l'assimilation microbienne des ions inorganiques se font simultanément. L'équilibre entre les deux processus, immobilisation et minéralisation, est largement contrôlé par le rapport C/N de la matière organique. On considère en général que les résidus végétaux à C/N inférieur à 20 (%N > 1,8 %) permettent la libération de l'azote minéral, alors que les résidus ayant un C/N supérieur à 30 (%N < 1,2 %) provoquent une immobilisation nette de l'azote minéral (Tisdale et Nelson, 1966). La figure 12.2 illustre ce phénomène.

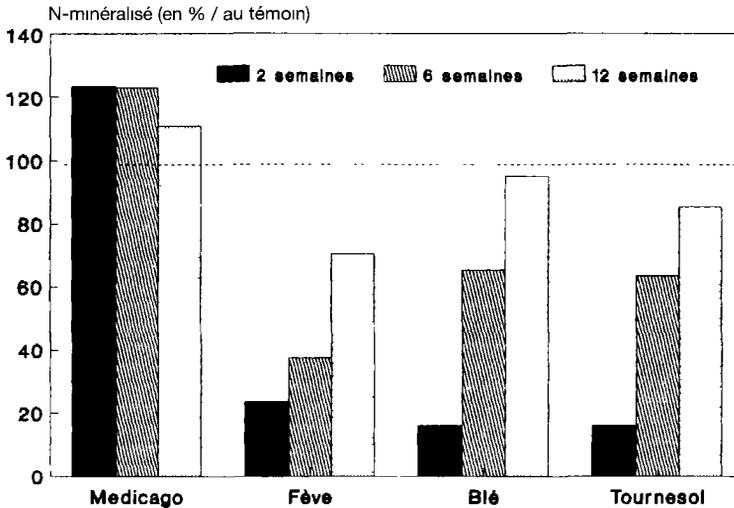


Figure 12.2. Influence de différents types de résidus de cultures à différents %N sur la minéralisation de l'azote organique dans un sol limoneux de la région de Meknès (Maroc). L'azote minéralisé a été déterminé par la technique des incubations successives dans des tubes de percolation en conditions d'aérobiose à 32 °C. Les résidus de *Medicago* à teneur en azote élevée permettent une plus grande libération de l'azote minéral.

Du point de vue agronomique, l'immobilisation biologique de l'azote est indésirable durant le cycle de croissance de la culture, car elle peut diminuer la disponibilité de l'azote pour les plantes. Cependant, l'immobilisation peut être bénéfique sous certaines conditions puisqu'elle permet de protéger l'azote du sol sous forme organique contre les pertes par drainage, volatilisation et dénitrification. Les pertes par dénitrification peuvent être compensés par la fixation biologique de l'azote.

2. FIXATION BILOGIQUE DE L'AZOTE

La fixation biologique de l'azote atmosphérique est la voie majeure d'introduction de l'azote gazeux dans l'écosystème. Elle est faite par des procaryotes libres, associatifs ou symbiotiques.

- **Les fixateurs libres** sont terrestres ou aquatiques ; ils peuvent être aérobies photosynthétiques comme *Chromatium*, aérobies facultatifs comme *Rhodospseudomona*

ou hétérotrophes comme *Azotobacter*, ou encore des cyanophycées (*Anabeana*, *Nostoc*).

- **Les fixateurs associatifs** (*Azospirillum*) vivent dans la rhizosphère des plantes et fixent l'azote en étroite association avec la plante.

- **Les fixateurs symbiotiques** appartiennent aux genres *Rhizobium*, *Azorhizobium* et *Frankia*. Ils forment des excroissances corticales appelées **nodosités**. A l'exception des plantes *Trema* et *Parasponia*, l'infection par le *Rhizobium* est limitée à la famille des légumineuses. Le *Frankia* a une nodulation plus étendue et concerne toutes les plantes ligneuses (exceptées les distacées) nommées communément plantes actinorhiziennes.

Les légumineuses diffèrent par leur capacité à fixer l'azote de l'air (tableau 12.1). Cette capacité est souvent représentée par la proportion d'azote dérivant de l'atmosphère (%N dfa). Le %N dfa diffère selon les espèces, leur provenance (Sanginga et al., 1990a), ainsi que selon les conditions de culture.

Tableau 12.1. Taux de fixation chez quelques légumineuses annuelles

Espèce	%N dfa	Source
<i>Phaseolus vulgaris</i>	16 à 68	Rennie et Kemp, 1983
<i>Lens culinaris</i>	46	Bremner et al., 1988
<i>Pisum sativum</i>	54	Bremner et al., 1988
<i>Vicia faba</i>	71	Bremner et al., 1988
<i>Lupinus angustifolius</i>	> 80	Evans et al., 1987 ; Herridge et Doyle, 1988 , Palmason et al., 1992
<i>Trifolium repens</i>	> 90	Broadbent et al., 1982 , Labandera et al., 1988
<i>Trifolium vesiculosum</i>	> 90	Morris et Weaver, 1987

2.1. Les macrosymbiotes

2.1.1. Famille des légumineuses

La famille des légumineuses détient une place importante parmi les plantes à fleurs. Elle est à dominance tropicale et comprend différentes formes biologiques : des herbacées (trèfle), des buissons (genêt), des arbrisseaux (lupins) et des arbres (*Acacia*). Les espèces cultivées comprennent des plantes alimentaires (haricot, lentille, fève...) et des plantes fourragères et pastorales (luzernes, vesce...). La famille des légumineuses est divisée en 3 sous-familles différentes par la fréquence de nodulation :

- la sous-famille des césalpiniaées (*Cassia*, *Gleditsia*, *Caesalpinia*...), presque dépourvue d'espèces fixatrices d'azote à cause d'un facteur intrinsèque inhibiteur de la nodulation ;

- la sous-famille des mimosacées (*Acacia*, *Leucaena*, *Prosopis*...) ;

- la sous-famille des papilionacées (*Medicago*, *Trifolium*, *Sesbania*...) où la nodulation est très fréquente : 85 % des espèces sont nodulées (Lim et Burton, 1982).

Les légumineuses ne répondent pas de la même façon à l'inoculation par les *Rhizobium* (tableau 12.2). On distingue 6 groupes d'inoculation croisée, chaque groupe contient les légumineuses qui peuvent interchanger leur *Rhizobium* : (1) luzernes et mélilot ; (2) trèfles ; (3) pois et vesces ; (4) soja ; (5) haricot ; et (6) lupins. Les *Rhizo-*

bium capables de noduler les six groupes sont respectivement : *Rh. meliloti*, *Rh. trifolii*, *Rh. leguminosarum*, *Rh. japonicum*, *Rh. phaseoli*, *Rh. lupini*. D'autres groupes existent, comme *Rhizobium* spp. de *Vigna unguiculata* (L) Walp., infectant plusieurs espèces : *Arachis*, *Acacia*, *Cajanus*, *Phaseolus aureus* (Lim et Burton, 1982).

Tableau 12.2. Nodulation de différentes provenances de *Casuarina equisetifolia* et *C. cunninghamiana* inoculés avec un mélange de souches de *Frankia*

Provenances	<i>C. equisetifolia</i>		<i>C. cunninghamiana</i>	
	Nodules (N ^b /plante)	Masse (mg/nodule)	Nodules (N ^b /plante)	Masse (mg/nodule)
1	3	44	4	37
2	3	54	7	19
3	9	11	2	8
4	8	19	7	19
5	9	21	1	42
6	7	29	6	22
7	10	20	7	22
8	10	21	8	20
9	10	23	7	23
10	9	22	2	22
11	25	5	2	77
PPDS 5 %	12	38	NS	42

PPDS : plus petite différence significative.

NS : différence non significative

Source : Sanginga N , Bowen G D., Danso S K A. (1990a), p. 544.

Cette classification est contestée à cause de l'existence de souches non spécifiques. En effet, certaines souches du groupe *Vigna unguiculata* forment des nodules avec plusieurs genres, espèces et variétés de légumineuses du groupe haricot (*Phaseolus retensis* et *P. adenathus*) alors que *P. coccineus* et *P. angustifolia* sont infectés par *Rh. phaseoli*. Les espèces du groupe trèfle requièrent des souches différentes et spécifiques (Lim et Burton, 1982).

Les arbres fixateurs de l'azote sont classés en 3 groupes (Dreyfus et Dommergues, 1981) :

- plantes nodulant avec des *Rhizobium* à croissance rapide : *Acacia raddiana*, *Acacia farneisiana*, *Leucaena leucocephala*, *Sesbania rostrata* et *Acacia senegal*, *Acacia nilotica*, *Prosopis alba* et *Sesbania grandiflora* ;
- plantes nodulant avec des *Rhizobium* à croissance lente : *Acacia albida*, *Acacia holosericea*, *Acacia mearnsii*, *Acacia melanoxylon* et *Albizia lebbec* (*Bradyrhizobium*) ;
- plantes répondant aux *Rhizobium* et *Bradyrhizobium* : *Acacia seyal*, *Acacia cyanophylla* et *Parasponia* spp., *Prosopis glandilosa* et *Gliricidia sepium*.

Le premier groupe est spécifique et requiert des pH élevés et du calcium. L'établissement de ces plantes nécessite l'inoculation avec les souches compatibles qui sont généralement moins ubiquistes. Les plantes nodulant avec les *Bradyrhizobium* ré-

pondent rarement à l'inoculation comme c'est le cas dans les sols tropicaux (Bowen, 1991). Chez les césalpiniacées, la nodulation est moins fréquente que chez les mimosacées et les papilionacées. De plus, certaines espèces nodulent en certaines aires et pas en d'autres. En effet, une restriction géographique a été démontrée pour certaines associations actinorhiziennes (*L. leucaena* nodule bien au Nigéria, rarement au Zaïre et pas au Zimbabwe). Le genre *Cassia* (césalpiniacées), considéré non fixateur, a été divisé en 3 genres : *Cassia*, *Senna* et *Chamaechrista*. Ce dernier comporte des espèces nodulantes (Lim et Burton, 1982).

Certains auteurs ont défini le potentiel de fixation et la fixation réelle (Bowen, 1991). Le premier paramètre est déterminé par le génotype de la plante, l'âge et la souche rhizobienne. Par exemple, *A. mangium* et *L. leucocephala* ont un potentiel de fixation élevé alors que *A. albida* et *A. senegal* ont un potentiel faible. Les arbres à croissance rapide ont généralement un potentiel de fixation élevé (Bowen, 1991).

L'activité fixatrice est élevée chez les jeunes plantes. Elle diminue avec l'âge à cause d'une retranslocation de l'azote des parties âgées vers les tissus jeunes, et de la combinaison *Rhizobium*/arbre à cause de l'effectivité des rhizobia (Bowen, 1991). La fixation réelle est affectée par le génotype, la souche et les conditions édaphiques et climatiques. Ainsi, il y a une grande variation entre les saisons et même au sein d'une même saison. La fixation est réduite en saison aride quoiqu'une fixation substantielle puisse persister en horizons profonds humides.

Les conditions du sol (fortes ou faibles températures, humidité, acidité, salinité, teneur en azote inorganique et en phosphore) affectent la fixation à travers la survie des rhizobia, la nodulation et l'activité fixatrice. Le stress hydrique réduit la fixation de l'azote par une action directe sur le système de fixation ou une action indirecte sur la croissance de la plante (Ismaili et al., 1983). Des pH acides réduisent la croissance de la plante hôte et la survie des rhizobia dans le sol (Rice, 1982, Nazih, 1992).

La fixation biologique est également affectée par la teneur du sol en éléments minéraux comme le potassium (Barta, 1982) et le bore (Agbenin et al., 1990). La fixation de l'azote est réduite par l'azote inorganique du sol. Certaines espèces d'aulnes tolèrent une certaine dose d'azote qui stimule leur activité fixatrice. Le phosphore est important pour la croissance des plantes et pour la fixation de l'azote. Chez *Gliricidia sepium* et *Leucaena leucocephala*, la fertilisation phosphatée réduit le délai de nodulation et augmente le nombre et le poids sec des nodules (Sanginga et al, 1991).

2.1.2. Plantes actinorhiziennes

Le *Frankia* induit des nodules chez 23 genres, répartis en 8 familles dont la famille des bétulacées (genre *Alnus*) et celle des casuarinacées (genres : *Casuarina*, *Allocasuarina*). Presque 200 espèces ligneuses forment des associations symbiotiques avec *Frankia*. Toutefois, les plantes actinorhiziennes sont moins nombreuses que les légumineuses quant au nombre des espèces fixatrices. Trois groupes d'inoculation ont été déterminés :

- (1) *Frankia* - éléagnacées compatibles ;
- (2) *Frankia* - *Alnus* - *Comptonia* (myricacées) compatibles ;
- (3) *Frankia* - *Casuarina* - *Allocasuarina* compatibles.

Les deux derniers groupes sont proches entre eux et éloignés du premier. Les *Frankia* du *Myrica* peuvent infecter les groupes (1) ou (2). Certains *Frankia* sont capables de noduler à la fois *Alnus* et *Elaeagnus*. Les *Allocasuarina* et les *Casuarina*

sont très spécifiques alors que *Alnus glutinosa*, *Elaeagnus angustifolia* et *Myrica gale* sont non spécifiques. Enfin, les casuarinacées sont réparties en deux groupes : groupe des *Casuarina*, avec une cross-inoculation entre ses espèces, et celui des *Allocasuarina*, avec une cross-inoculation entre ses espèces. Entre les 2 genres, la cross-inoculation est faible (Torrey et Racette, 1989).

2.2. Les microsymbiotes

2.2.1. *Rhizobium* (O : rhizobiales ; F : rhizobiacées)

Le principal caractère distinctif des *Rhizobium* est l'induction de nodules, ou **infectivité** (Date, 1982). L'infectivité se perd moins rapidement que l'effectivité qui peut se perdre après plusieurs années de stockage ou après plusieurs repiquages sur un milieu riche en certains acides aminés (Vincent, 1982).

Pour isoler des *Rhizobium* du sol, le passage par la plante est obligatoire, car il n'y a pas de milieux sélectifs pour ces bactéries (Date, 1982). Dans le sol, les rhizobia sont libres sous forme de bâtonnets gram négatif, de taille petite à moyenne, mobiles grâce à des flagelles polaires ou périphériques ; aérobies strictes même si certains peuvent supporter de faibles pressions d'oxygène (Vincent, 1982).

Le *Rhizobium* croît sur milieu à base de mannitol et d'extrait de levure. Sa température optimale est de 25 à 30 °C et le pH de 5 à 8,5. Il a des besoins élevés en fer et en calcium. Les métaux lourds (Ni, Cr, Zn) ont des effets toxiques même à faible concentration (Vincent, 1982).

• **Description de la nodulation.** Après inoculation d'une légumineuse avec des rhizobia, on peut avoir :

- une plante non nodulée : pas de nodules, pas d'excroissances observées sur les racines et donc l'initiation de la nodulation n'a pas eu lieu. La plante est petite, jaune et présente des symptômes de déficience en azote ;
- une plante nodulée : l'initiation des nodules sur les racines a été faite.

La nodulation peut être :

- inefficace, les racines portant des excroissances corticales ou/et de petites nodules blanches et vertes. La plante reste alors petite, jaune et montre une déficience en azote ;
- efficace, les racines étant bien nodulées.

Même lorsqu'elle est efficace, la nodulation peut être inefficace : les nodules sont verts et blancs à l'intérieur et quelquefois roses ; la plante reste petite et jaune. A l'inverse, dans le cas d'une nodulation efficace, les nodules sont rouges à l'intérieur ; la plante est vert foncée et se porte très bien.

L'infectivité est l'aptitude d'une souche à induire des nodules sur les racines de la plante hôte. L'effectivité est la capacité de fixer l'azote. Une nodulation efficace est une nodulation résultant en une fixation d'azote : les nodules sont larges, concentrés sur la partie supérieure du système racinaire et de coloration rouge (due à la **leghémoglobine**). Quand les nodules se développent mais fixent peu ou pas d'azote, ils sont dits inefficaces. Ils sont petits, nombreux et dispersés sur le système racinaire.

Les termes "effectif" et "efficent" sont parfois utilisés dans un même sens, or ils sont différents. Les nodules effectifs peuvent être efficients ou inefficients. Les nodules effectifs inefficients sont de petite taille et de couleur blanche à rose et fixent peu ou pas d'azote. Les plantes avec ce type de nodules sont chlorotiques. Les nodules effectifs et efficients sont de grande taille, de couleur rose à rouge et fournissent de grandes quantités d'azote. Les plantes avec ce type de nodules sont vertes et vigoureuses. Plus récemment, l'effcience est utilisée pour évaluer le pourcentage d'électrons transférés à la nitrogénase et réellement utilisés dans la fixation de l'azote. Le reste étant utilisé pour la production d'hydrogène et donc non bénéfique pour l'hôte. Enfin, le terme ineffcient décrit les nodules produits par les rhizobia à grande capacité fixatrice mais qui ne peuvent pas fonctionner proprement à cause d'une déficience en molybdène, ou à cause d'un stress thermique et/ou hydrique.

La classification des *Rhizobium*, basée sur l'affinité par rapport aux plantes (groupes de cross-infection), est remplacée par une nouvelle classification basée sur des critères divers : [G,C], homologie d'ADN, sérologie et transfert des plasmides. On distingue alors deux genres : *Rhizobium* et *Bradyrhizobium*.

Les *Rhizobium* ont une croissance rapide ; le temps de génération est de 2-4 heures. Ils forment des colonies circulaires, translucides, gommeuses, de 2-4 mm de diamètre après 3-5 jours d'incubation. Les *Rhizobium* utilisent différents sucres et leur [G,C] est de 59,1 à 63,1 % (Vincent, 1982).

Les *Bradyrhizobium* ont une croissance lente ; le temps de génération est de 6 à 8 heures. Ils forment des colonies circulaires, opaques dont le diamètre est inférieur à 1 mm même après 10 jours d'incubation. Les *Bradyrhizobium* produisent des alcalins alors que les *Rhizobium* produisent des acides (Vincent, 1982).

Les *Rhizobium* associés aux arbres sont classés en 3 genres : *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* et *Azorhizobium*. Le degré de spécificité est variable. Certaines plantes sont très spécifiques (*Sesbania rostrata*, *Acacia mangium*) et d'autres sont peu spécifiques et répondent à des *Rhizobium* et des *Bradyrhizobium* (*Crassiparva*). D'autres encore (*Acacia auriculiformis*) sont intermédiaires (Galiana et al, 1989).

2.2.2. Frankia (O : actinomycétales)

C'est une bactérie filamenteuse qui a été isolée de plusieurs espèces de casurinacées. Dans les racines, les *Frankia* forment des hyphes et des vésicules. Au microscope, on distingue 3 structures : (1) les hyphes filamenteuses, septées et ramifiées (structure végétative) ; (2) les sporanges polymorphes (structures de reproduction), et (3) les vésicules (système de fixation de l'azote). Dans le cas des plantes âgées, une quatrième structure peut exister : des hyphes toruleuses issues de l'élargissement et du cloisonnement des hyphes normales (Elsas et Heijnen, 1990). Ces structures assurent la survie et la régénération des *Frankia*. La capacité de sporuler *in vitro* est déterminée par certaines conditions physico-chimiques. Les *Frankia* possèdent une sporulation endophytique et complexe, contrôlée par la génétique du microsymbiote, la physiologie de l'hôte et les facteurs de l'environnement (Torrey, 1987).

2.3. Nodulation

La nodulation comprend différentes phases (figure 12.3), dont l'infection qui commence par une multiplication des *Rhizobium* dans la rhizosphère, suivie de l'adhé-

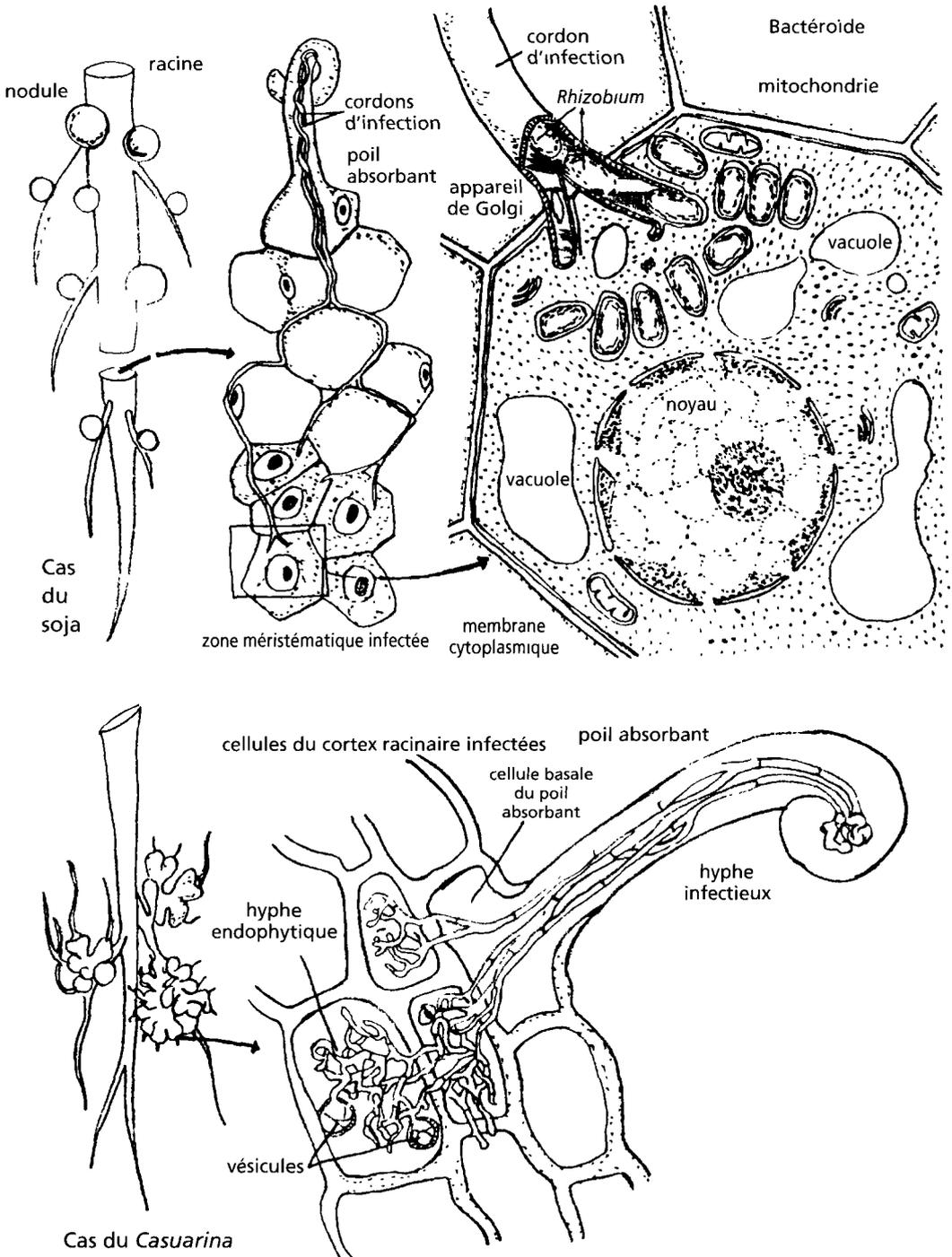


Figure 12.3. Processus de la nodulation dans le cas du soja et du *Casuarina*.
 Source Dommergues Y, Dreyfus B et al. (1985), *La Recherche*, 16 (162), p. 27.

sion des bactéries à la surface des poils absorbants qui se courbent en crosse. La spécificité à ce stade est assurée par des lectines, molécules ponts entre des récepteurs à la surface des poils et d'autres à la surface du *Rhizobium* (Dommergues et al., 1985). Ensuite il y a formation d'une structure tubulaire (cordon infectieux) à l'intérieur duquel les bactéries se disposent en file. Le cordon pénètre dans les cellules du cortex dont plusieurs se divisent et forment un méristème. Chaque bactérie

est entourée d'une enveloppe appelée membrane pér bactéroïde (Dommergues et al., 1985). Les cellules infectées se multiplient jusqu'à former des excroissances de taille variable : les nodules.

A l'intérieur des nodules, la réduction de l'azote en ammoniac est assurée par la nitrogénase. La léghémoglobine transporte l'oxygène vers les bactéroïdes à une concentration qui n'entraîne pas l'inhibition de la nitrogénase mais assure la phosphorylation oxydative et donc la production d'ATP.

Certaines plantes tropicales (*Sesbania rostrata*, 17 espèces d'*Aeschynomene* et une espèce du genre *Neptunia*) forment des nodules colinéaires. L'infection se fait au niveau de sites prédéterminés sur la tige, constitués d'ébauches racinaires perçant l'épiderme. Elle débute au niveau de fissures circulaires au point d'émergence de l'ébauche (Barreto et Cagnaire, 1989). Les bactéries se multiplient entre les cellules et forment des poches intercellulaires à côté desquelles certaines cellules de la couche interne de l'écorce se divisent et forment un méristème. A partir de ces poches se développent des cordons qui pénètrent dans les cellules du méristème. Les cellules envahies de bactéroïdes, devenant nombreuses, constituent un tissu central volumineux donnant une forme globuleuse ou nodule (Dommergues et al., 1985).

Pour *Frankia*, l'infection commence par la courbure des poils absorbants en crosse et, au lieu du cordon infectieux, il se développe des hyphes qui s'allongent pour atteindre les cellules de l'écorce. Dans le nodule, les hyphes s'entourent de gaines peptiques (originaires de la plante), de vésicules et parfois de sporanges (Dommergues et al., 1985). L'activité nitrogénase débute avec la formation des vésicules dont la paroi protège la nitrogénase de l'oxygène. Chez *Casuarina*, il n'y a pas de vésicules et la nitrogénase est protégée dans les hyphes (Torrey et Racette, 1989).

Les nodules sont pérennes et peuvent dépasser 10 cm de diamètre chez l'aulne et *Casuarina*.

2.4. Inoculation

L'inoculation, ou bactérisation, des légumineuses et des plantes actinorhiziennes consiste en l'introduction dans le sol de souches de *Rhizobium* ou de *Frankia*, pour permettre la nodulation, une activité fixatrice élevée et une meilleure productivité. L'inoculation n'est pas toujours nécessaire et s'impose quand une espèce est introduite pour la première fois dans une région, ou si elle a eu une mauvaise nodulation, et dans les sols laissés en jachère pendant plusieurs années. En présence de souches indigènes, la réponse à l'inoculation peut être très faible ou nulle, mais on peut y remédier par l'apport de grandes quantités d'inoculum.

2.4.1. Inoculation des légumineuses

La première étape dans la production d'un inoculum est la sélection de souches efficaces, compétitives et avec une grande capacité de survie dans le sol. En effet, après introduction dans le sol, les rhizobia sont affectés par les facteurs abiotiques et édaphiques, et par les antagonistes.

L'industrie des inoculums à *Rhizobium* comprend : des cultures dans l'agar, des cultures liquides, des cultures disséquées dans la vermiculure, des cultures lyophilisées et des cellules incorporées dans des supports organiques (tourbe, compost de paille,

bagasse, déchets de plantes, poudre de cellulose, charbon). D'autres supports sont utilisés tels que : argile, limon, terreau et bentonite. Toutefois, le support le plus utilisé est la tourbe. Après sélection de la souche, elle est multipliée dans de larges fermenteurs, en milieu à base de mannitol, extrait de levure, additionné de glucose et de sucrose. La troisième étape est l'inclusion dans la tourbe. Celle-ci est finement broyée, stérilisée (autoclavage ou irradiation aux rayons gamma), neutralisée par du CaCO_3 et son taux d'humidité est ajusté à 40-50 %. Ensuite, la souche est introduite dans le support et l'ensemble est incubé à 20-25 °C pendant 4 jours (Okon et Hadar, 1987).

Un autre inoculum consiste en l'encapsulation des *Rhizobium* dans des supports synthétiques qui sont des polymères non toxiques, homogènes, à qualité constante et biodégradables dans le sol pour libérer des rhizobia d'une façon progressive (Diem et al., 1988).

Les méthodes d'inoculation sont de deux types, directes et indirectes. Dans l'inoculation indirecte, les graines sont semées et l'inoculum est appliqué au sol. Dans l'inoculation directe, les graines sont inoculées avant le semis ; elle peut se faire par poudrage, bouillie ou enrobage.

2.4.2. Inoculation des plantes actinorhiziennes

L'inoculation peut être réalisée par des sols où des plantes actinorhiziennes ont été cultivées, par des suspensions de nodules frais ou dessiqués ou par des inoculums liquides. Le processus d'infection inclut la pénétration d'un filament hyphal dans les cellules du poil absorbant d'où la nécessité d'inoculer avec une culture jeune. Toutefois, on a montré que les spores issues de vieilles cultures étaient capables de germer et de former des hyphes infectieux (Smolander et al., 1990).

• **Inoculation par des suspensions de nodules.** Des nodules frais sont écrasés, homogénéisés et lavés plusieurs fois par des centrifugations répétées, dans du tampon phosphate salin et 2 % de polyvinyle pyrrolidone (PVP) qui élimine les phénols. La suspension des nodules écrasés est diluée dans de l'eau de robinet puis directement appliquée aux plantes. Une quantité de 1 à 2 grammes de nodules suffit pour inoculer 1 000 plantes (Burleigh et Torrey, 1990).

• **Inoculation par des cultures pures.** L'utilisation de cultures pures de *Frankia* est plus rentable car, en utilisant des broyats, il y a risque d'introduire des pathogènes et des souches inefficaces (Diem et al., 1988 ; Burleigh et Torrey, 1990). Dans ce cas, les nodules, stérilisés avec du tetroxyde d'osmium pendant 30 s à 6 min puis lavés plusieurs fois à l'eau stérile, sont découpés en petits morceaux en présence de tampon PVP qui protège l'endophyte exposé vis-à-vis des phénols. Les morceaux de nodules sont transférés aseptiquement dans des tubes à milieu nutritif contenant du glucose et de la lécithine. Le propionate peut être utilisé comme source de carbone et le casamino-acide comme source d'azote. Des colonies se développent alors sur la périphérie des nodules. *In vitro*, le *Frankia* peut former des hyphes, des sporanges et des vésicules (sièges de la fixation d'azote). Pour induire la formation des vésicules, le même milieu est utilisé sans source d'azote inorganique (Burleigh et Torrey, 1990).

L'inoculation peut être faite de deux façons : dans des pots et sachets où les plantes sont semées (inoculation en phase pépinière) ou directement sur le terrain, par injection de l'inoculum à la base des racines au moment de la transplantation des plants (Burleigh et Torrey, 1990). La réussite de l'inoculation dépend de la quantité et de la qualité de l'inoculum, du moment et de la méthode d'application de l'ino-

culum et du statut nutritionnel du sol. Des essais ont montré que l'inoculation en sachets était meilleure, que l'aulne rouge avait une meilleure nodulation quand il est inoculé au moment du semis en comparaison avec son inoculation 4 semaines après semis, et enfin, que l'azote minéral permet d'améliorer la croissance mais réduit la nodulation.

Il existe un autre type d'inoculum qui consiste en un piégeage aseptique de cellules de *Frankia* dans des billes d'alginate. La méthode de fabrication comprend le mélange de culture de *Frankia* avec de l'alginate, suivi d'une précipitation dans du CaCl_2 et d'un lavage à l'eau stérile ; ces billes à *Frankia* peuvent être stockées à 20-25 °C pendant plusieurs mois (Diem et al., 1988).

3. MÉTHODES DE MESURE DE LA FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE

3.1. Réduction de l'acétylène

Cette méthode est basée sur la mesure de l'activité de l'enzyme nitrogénase. Cette dernière n'est pas spécifique à la triple liaison du diazote N_2 , elle catalyse aussi la réduction de l'acétylène C_2H_2 en éthylène C_2H_4 . Cette propriété est exploitée pour mesurer la fixation biologique de l'azote. Il s'agit de mesurer l'accumulation de l'éthylène dans un bocal fermé de volume connu, contenant des nodosités détachées ou collées aux racines, après un certain temps d'exposition à l'acétylène. La quantité d'éthylène est mesurée par chromatographie en phase gazeuse (Hardy et al., 1968).

Cette méthode est rapide, extrêmement sensible et peu chère. Cependant, la nécessité d'avoir accès au système racinaire et l'aspect très aléatoire de la transformation de cette mesure en quantité d'azote fixé ont suscité le développement d'autres méthodes de mesure (Messenger, 1987).

3.2. Méthode de différence

C'est une méthode qui dépend du rendement en azote d'une légumineuse fixatrice d'azote et d'une plante non fixatrice (plante de référence), plantées en même temps et sous les mêmes conditions (Boddey, 1987). La différence entre l'azote total de la plante fixatrice et la plante référence est supposée être la part d'azote qui vient de la fixation de l'azote atmosphérique (LaRue et Patterson, 1981 ; Weber, 1966) :

$$\%N_{\text{dfa}} = \left(\frac{N_f - N_{\text{nf}}}{N_f} \right) \times 100$$

N_f et N_{nf} sont respectivement l'azote total de la plante fixatrice et de la plante non fixatrice.

La méthode de différence suppose que la plante fixatrice et la plante référence assimilent la même quantité d'azote du sol. Pour cela, les deux plantes doivent avoir la même capacité d'extraction de l'azote du sol, assimiler cet azote durant la même période de leur croissance (Weaver, 1986) et doivent être affectées de la même façon par les variations de l'environnement (Philips et al., 1983).

3.3. Méthode de dilution isotopique

Dans la plupart des cas, les systèmes fixateurs obtiennent une partie seulement de leur azote via la fixation biologique, le reste provenant du sol par simple absorption. Seule la technique isotopique permet de distinguer l'apport respectif des deux sources. La méthode de dilution isotopique est fréquemment utilisée. Elle consiste à épandre un engrais marqué et à déterminer dans la plante la proportion d'azote qui provient de l'engrais (Zapata et Hardarson, 1989). On compare l'enrichissement en ^{15}N de la légumineuse qui utilise l'azote marqué du sol et le $^{14}\text{N}_2$ atmosphérique à celui de la plante témoin qui utilise seulement l'azote marqué du sol (Hauck et Bremner, 1976).

Pour pouvoir déterminer les proportions relatives d'azote dérivant de l'air et du sol, il faut admettre que la plante fixatrice et la plante référence assimilent l'azote du sol et celui de l'engrais avec un même ratio $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. La plante fixatrice et la plante référence reçoivent la même quantité d'engrais avec un même enrichissement en ^{15}N . Donc, s'il n'y avait comme source d'azote que le sol et l'engrais, ces deux plantes auraient une même composition isotopique $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$. Mais la présence d'une troisième source d'azote chez la légumineuse fait que le % ^{15}N atome excès de la plante fixatrice devient inférieur à celui de la plante référence. Et c'est à la base de cette différence que le %N dfa est calculé et représente le pourcentage d'azote dérivant de l'atmosphère chez la légumineuse (Fried et Middelboe, 1977) :

$$\%N \text{ dfa} = \left(1 - \frac{\%^{15}\text{N atome excès de la plante fixatrice}}{\%^{15}\text{N atome excès de la plante témoin}} \right) \times 100$$

La précision de cette méthode dépend aussi du choix de la plante référence appropriée qui ne doit pas être une plante fixatrice d'azote, et doit avoir la même profondeur d'enracinement pour tirer son azote de la même zone que la plante testée (Fried et Middelboe, 1977 ; Witty, 1983 ; Weaver, 1986). En plus, les deux plantes doivent être semées et récoltées en même temps, et doivent être affectées de la même façon par les changements des conditions de l'environnement (Hardarson et Danso, 1990). Les estimations obtenues par cette méthode varient selon le choix de la plante référence (Wagner et Zapata, 1982 ; Ledgard et al., 1985 ; Sanginga et al., 1990b).

4. MÉTABOLISME DE L'AZOTE CHEZ LES LÉGUMINEUSES ET LES PLANTES NON FIXATRICES

4.1. Métabolisme de l'azote chez les plantes non fixatrices

Chez les graminées, le nitrate est absorbé par les racines. Une partie de l'azote absorbé du sol est réduite ou assimilée dans des substances organiques azotées au niveau des racines. Une autre partie des nitrates absorbés peut être stockée dans les racines pour une utilisation ultérieure. Mais la majorité des nitrates absorbés est transportée vers la partie aérienne dans le xylème. Les parties âgées peuvent utiliser les nitrates directement du xylème. Le nitrate transporté dans le xylème est essentiellement stocké dans le parenchyme des entre-nœuds et des pétioles. Une petite partie de ces nitrates peut être réduite par la nitrate réductase de ces organes, mais généralement, l'activité nitrate réductase est faible dans les tiges.

Tous les nitrates qui entrent dans les feuilles âgées sont réduits par une nitrate réductase active. Cette activité permet la production d'acides aminés et de protéines libres qui ne s'accumulent pas dans les feuilles âgées et sont continuellement exportés vers les parties jeunes de la plante. Ainsi, les nitrates ne peuvent pas être détectés dans les feuilles âgées à cause de leur réduction rapide même si l'activité nitrate réductase est faible dans ces feuilles.

Les parties jeunes de la plante, à croissance rapide, sont très actives dans la réduction des nitrates, en raison d'une activité nitrate réductase élevée. Les nitrates y sont très rarement accumulés, alors que les constituants aminés s'accumulent dans les parties jeunes pour contribuer à la croissance de la partie aérienne. Les squelettes carbonés nécessaires pour la synthèse des acides aminés sont essentiellement fournis par la photosynthèse.

Dans les feuilles âgées, le principal produit de la photosynthèse est l'amidon et le saccharose. Le saccharose exporté des feuilles est transporté pour être utilisé essentiellement dans la synthèse des carbohydrates insolubles et non dans la synthèse des acides aminés. Durant le vieillissement des feuilles, la concentration de l'azote soluble et des protéines diminue. Les acides aminés produits de ces sources peuvent être transportés dans le phloème vers les méristèmes des racines et de la partie aérienne. En plus, les acides aminés produits par le recyclage des protéines des feuilles peuvent être transportés vers les parties jeunes de la plante. L'amidon, les nitrates et les protéines s'accumulent dans les racines et les tiges et forment des réserves qui contribuent à la synthèse des acides aminés et de sucre, dans les parties jeunes de la plante, durant des conditions de déficience en nutriments.

4.2. Métabolisme de l'azote chez une légumineuse

Chez une légumineuse nodulée, on distingue trois sites d'assimilation d'azote organique : les nodules fixateurs d'azote, la nitrate réductase dans les racines et la nitrate réductase dans la partie aérienne. Les nitrates absorbés par les racines sont essentiellement réduits par la nitrate réductase utilisant un pouvoir réducteur provenant de la respiration. Les produits de l'assimilation des nitrates par les racines sont surtout des acides aspartique et glutamique, qui sont en majorité transportés vers les feuilles. Toutefois, une petite partie des nitrates assimilés est stockée dans les racines ou transportée vers les zones de croissance des racines.

Les amides, glutamines et asparagines provenant de la fixation biologique de l'azote dans les nodules, sont transportés vers les autres parties de la plante, dans le xylème. Lorsque l'on analyse les exsudats du xylème on y trouve des uréides (acide allantéique) et quelques acides aminés. L'azote de ces exsudats peut provenir soit de la fixation symbiotique de l'azote ou du métabolisme des nitrates. Une partie de l'azote fixé est utilisée dans le développement des racines et des nodules. Les feuilles âgées peuvent absorber des métabolites azotés du xylème : amides, acides aminés, nucléotides, acides nucléiques, protéines, etc. Ces métabolites sont dégradés, et les substances azotées libérées sont transportées vers les feuilles jeunes et vers les racines ; ils peuvent servir comme source d'azote pour la production photosynthétique des acides aminés. Les nitrates qui arrivent dans les feuilles âgées peuvent être réduits par la nitrate réductase utilisant un pouvoir réducteur provenant de la photosynthèse.

Dans les feuilles âgées, la synthèse des protéines est minimale. En effet, au cours du vieillissement des feuilles, on observe une diminution de la teneur en azote et des

protéines solubles. Ainsi, les produits du métabolisme de l'azote dans ces feuilles sont surtout transportés comme acides aminés et amides vers les points de croissance.

Les parties jeunes de la plante sont approvisionnées en azote par trois sources : la fixation biologique de l'azote dont le transport est assuré par le xylème ; la réduction des nitrates dans les racines (transport par le xylème) ; et les acides aminés transportés par le phloème. En plus, les nitrates transloqués dans le xylème sont métabolisés par la nitrate réductase à pouvoir réducteur photosynthétique dans les feuilles jeunes. Le phloème approvisionnerait les racines en azote à partir du système aérien.

5. CONCLUSION

La fixation de l'azote, symbiotique et asymbiotique, permet de transformer l'azote de l'air en azote minéral et organique, et de compenser ainsi les pertes par dénitrification.

La fixation biologique de l'azote se mesure par la méthode de réduction de l'acétylène, la méthode de différence et la méthode de dilution isotopique, chacune ayant ses avantages et ses inconvénients. Ces techniques plus ou moins sophistiquées sont toutes utiles pour l'agronome qui essaie d'évaluer les quantités d'azote disponibles pour les plantes, de comprendre le métabolisme azoté et de raisonner l'apport d'azote. La rationalisation de la fertilisation azotée et des autres pratiques culturales permet non seulement d'augmenter le rendement des cultures et d'améliorer la qualité des produits mais aussi de préserver l'environnement. Ce sont ces considérations qui font l'objet des chapitres suivants de cet ouvrage.

BIBLIOGRAPHIE

- Agbenin J.O., Lombin G., et Owonubi J.J. (1990), "Effect of boron and nitrogen fertilization on cowpea nodulation, mineral nutrition and grain yield", *Fertilizer Research*, **22** : 71-79.
- Barreto S. and Cagnaire J. (1989), "Les mamelons caulinaires de *S. sesbania* : "Développement en racines adventives et rôle dans l'absorption minérale", *Acta Oecologica, Oecol. plant*, **10** (4) : 411-422.
- Barta A.L. (1982), "Response of symbiotic N₂ fixation and assimilate Partitioning to K supply in Alfalfa", *Crop Science*, **22** : 89-92.
- Boddey R.M. (1987), "Methods for quantification of nitrogen fixation associated with gramineae", reprinted from the CRC Critical Reviews in *Plant Sciences*, **6** (3) : 209-266.
- Bowen G. (1991), "Managing Nitrogen fixation by trees", *FAO/IAEA Regional training course and nuclear techniques in studies on soil-plant relationships with emphasis on agroforestry and plant nutrition* ; RAF/5/020, 29 juillet-30 août 1991.
- Bremner E., Rennie R.J. and Rennie D.A. (1988), "Dinitrogen fixation of lentil field pea and fababean under dryland conditions", *Can. J. Soil Sci.*, **86** : 553-562.
- Broadbent F.E., Nakashima T. and Chang G.Y. (1982), "Estimates of nitrogen fixation by isotope dilution in field and greenhouse experiments", *Agron. J.*, **74** : 625-628.

- Burleigh S. and Torrey J.G. (1990), "Effectiveness of different *Frankia* cell types as inocula for the actinorhizal plant *Casuarina*", *Applied and Environmental Microbiology*, **56** (8) : 2565-2567.
- Date R.A. (1982), "Assessment of Rhizobial status of the soil", in *Nitrogen fixation in legumes*, Academic Press Australia, 85-94.
- Diem H.G., Ben Khalifa K., Neyra M. and Dommergues Y. (1988), "Recent advances in the inoculant technology with special emphasis on plant symbiotic microorganisms", workshop on *Advanced technologies for increased agricultural production*, Santa Margherita Ligure, Italy, 196-209.
- Dommergues Y., Dreyfus B., Diem H.G. and Duhoux E. (1985), "Fixation de l'azote et agriculture tropicale", *La Recherche*, **16** (162) : 22-31.
- Dreyfus B. and Dommergues Y. (1981), "Nodulation of *Acacia* species by fast and slow growing tropical strains of *Rhizobium*", *Applied and Environmental Microbiology*, **41** (1) : 97-99.
- Elsas J.D.V. and Heijnen C.E. (1990), "Methods of introduction of bacteria into soil : a review", *Biol. Fertil. Soils*, **10** : 127-133.
- Evans J., Turner G.L., O'connor G.E. and Bergersen F.J. (1987), "Nitrogen fixation and accretion of soil nitrogen by field-grown lupins (*Lupinus angustifolius*)", *Field Crops Research*, **16** : 309-322.
- Fried M. and Middelboe V. (1977), "Measurement of amount of nitrogen fixed by a legume crop", *Plant and Soil*, **47** : 713-715.
- Galiana A., Chaumont J., Diem H.G. and Dommergues Y. (1989), "Nitrogen-fixing potential of *Acacia mangium* and *Acacia auriculiformis* seedlings inoculated with *Bradyrhizobium* and *Rhizobium* spp.", *Biol. Fertil. Soils*, **9** : 261-267.
- Hardarson G., Danso S.K.A. (1990), "Use of ^{15}N methodology to assess biological nitrogen fixation", in *Use of Nuclear Techniques in Studies of Soil-Plant Relationships*, AIEA (Vienne), 129-160.
- Hardy R.W.F., Holsten R.D., Jackson E.K. and Burns R.C. (1968), "The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation : laboratory and field evaluation", *Plant Physiol*, **43** : 1185-1207.
- Hauck R.D. and Bremner J.M. (1976), "Use of tracers for soil and fertilizer nitrogen research", *Advances in Agronomy*, **28** : 219-266.
- Herridge D.F. and Doyle A.D. (1988), "The narrow-leaved lupin (*Lupinus angustifolius* L.) as a nitrogen fixing rotation crop for cereal production. II. Estimates of fixation by field-grown crops", *Aust. J. Agric. Res.*, **39** : 1017-1028.
- Ismaili M., Briske D.D., and Weaver R.W. (1983), "Nitrogen fixing activity of water stressed siratro", *Agron. J.*, **75** : 649-653.
- Labandera C., Danso S.K.A., Pastorini D., Curbelo S. and Martin V. (1988), "Nitrogen fixation in a white clover-fescue pasture using tree method of nitrogen-15 application and residual nitrogen-15 uptake", *Agron. J.*, **80** : 265-268.
- LaRue T.A. and Patterson T.G. (1981), "How much nitrogen do legumes fix ?" in N.C. Brady (ed.), *Advances in Agronomy*, **34** : 15-38.
- Ledgard S.F., Morton R., Freney J.R., Bergerson F.J. and Simpson J.R. (1985), "Assessment of the relative uptake of added and indigenous soil nitrogen by nodulated legumes and reference plants in the ^{15}N dilution measurement of N_2 fixation : Derivation of method", *Soil Boil. Biochem.*, **17** (3) : 317-321.
- Lim G. and Burton J.C. (1982), "Nodulation status of the leguminosea", in *Nitrogen Fixation*, vol 2 : *Rhizobium*, Clarendon Press, Oxford, 1-34.
- Mazliak P. (1974), *Physiologie végétale et métabolisme*, Hermann, Paris, 171-238.
- Messenger A. (1987), "Sélection des légumineuses pour l'amélioration de leurs aptitudes à la symbiose fixatrice de l'azote", in P. Guy (ed.), *Nutrition azotée des légumineuses*, Les colloques de l'INRA (37), Versailles, 309-332.
- Morris D.R. and Weaver R.W. (1987), "Competition for nitrogen-15 depleted am-

- monium nitrate and nitrogen fixation in arrowleaf clover-gulf regrass mixtures", *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **51** : 115-119.
- Nazih N. (1992), *Populations sizes of clover rhizobia in soil in East Texas, Influence of liming of rhizobial survival and number of rhizobia needed for prompt nodulation of arrowleaf and crimson clovers.*, Ph. D. diss., Texas A&M Univ.
- Okon Y. and Hadar Y. (1987), "Microbial inoculants as crop yield enhancers". *CRC Critical Reviews in Biotechnology*, **6** (1) : 61-85.
- Palmason F., Danso S.K.A. and Hardarson G. (1992), "Nitrogen accumulation in sole and mixed stands of sweet-blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.), regrass and oats", *Plant and Soil*, **142** : 135-142.
- Phillips D.A., Jones M.B., Center D.M. and Vaughen C.E. (1983), "Estimating symbiotic nitrogen fixation by *Trifolium subterraneum* L. during regrowth", *Agron. J.*, **75** : 736-741.
- Rennie R.J., and Kemp G.A. (1983), "N₂-fixation in field beans quantified by ¹⁵N isotope dilution. I. Effect of strains of *Rhizobium phaseoli*", *Agron. J.*, **75** : 640-644.
- Rice W.A. (1982), "Performance of *Rhizobium meliloti* strains selected for low pH tolerance", *Can. J. Plant Sci.*, **62** : 941-948.
- Sanginga N., Bowen G.D. and Danso S.K.A. (1991), "Intraspecific variation in growth and P accumulation of *Leucaena leucocephala* and *Gliricidia sepium* as influenced by soil phosphate status", *Plant and Soil*, **133** : 201-208.
- Sanginga N., Bowen G.D. and Danso S.K.A. (1990a), "Genetic variability in symbiotic nitrogen fixation within and between provenances of two *Casuarina* species using the ¹⁵N-labelling methods", *Soil Biol. Biochem.*, **22** (4) : 539-547.
- Sanginga N., Danso S.K.A., Zapata F. and Bowen G.D. (1990b), "Influence of reference trees on N₂-fixation estimates in *Leucaena leucocephala* and *Acacia al-bida* using ¹⁵N-labelling techniques", *Biol. Fertil. soils*, **9** : 341-346.
- Smolander A., Rönkkö R., Lassla E.L.N. and Hahtela K. (1990), "Growth of *Frankia* in the rhizosphere of *Beula pendula* an nonhost tree species", *Can. J. Microbio.*, **36** : 649-658.
- Tisdale S.L. and Nelson W.L. (1966), "Soil and fertiliser nitrogen", in *Soil fertility and fertilizers*, 2^e edition, Mc Millan, 126-180.
- Torrey J. and Racette S. (1989), "Specificity among the casuarinacea in root nodulation by *Frankia*", *Plant and soil*, **118** : 157-164.
- Torrey J. (1987), "Endophyte sporulation in root nodules of actinorhizas", *Physiol. Plantarum*, **70** : 279-288.
- Vincent J.M. (1982), "Nature and basic properties of the rhizobia", in *Nitrogen Fixation in legumes*, Academic Press, Australia, 5-11.
- Wagner G.H. and Zapata F. (1982), "Field evaluation of reference crops in the study of nitrogen fixation by legumes using isotope techniques", *Agron. J.*, **74** : 607-612.
- Weaver R.W. (1986), "Measurement of biological dinitrogen fixation in the field", in R.D. Hauck and R.W. Weaver (eds.), *Field measurement of dinitrogen fixation and dinitrification*, Soil Sci. Soc. Am. Spec. Pub 18. Madison, WI, 1-10.
- Weber C.R. (1966), "Nodulating and nonnodulating soybean isolines : I. Agronomic and chemical attributes", *Agron. J.*, **58** : 43-46.
- Witty J.F. (1983), "Estimating N₂-fixation in the field using ¹⁵N-labelled fertilizer : Some problems and solutions", *Soil Biol. Biochem.*
- Zapata F. and Hardarson G. (1989), "La fertilité des sols : recherches et formation (FAO/IAEA) au laboratoire de Seibersdorf", *AIEA Bulletin*, **4** : 55-60.