



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie

POLYCOPIE DE COURS DE

**Biochimie et Physiologie Végétale :
Nutrition**



Réalisé par Dr. ERROUANE KHEIRA

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2022-2023

Avant propos

Ce polycopié de cours est destiné principalement aux étudiants de Master I du parcours Biotechnologie et Valorisation des Plantes «BVP».

L'objectif principal de ce cours, intitulé: «**Biochimie et Physiologie Végétale : Nutrition**», est l'acquisition de compétences dans les domaines de physiologie et la biochimie végétale. Ce travail est un état des différentes notions de la nutrition chez les plantes.

Ce cours est divisé en six chapitres:

- Le premier, notions de base;
- Le second concerne la relation eau-plante;
- Le troisième concerne la nutrition minérale ;
- Le quatrième chapitre est destiné à l'étude de la nutrition carbonée;
- Le cinquième chapitre, la nutrition énergétique;
- Le sixième chapitre concerne le métabolisme associé.

Liste des abréviations

C: Degré Celsius

g: Gramme

h: Heure

min: Minute

mM: millimolaire

m: Metre carré

µm: Micromètre

%: Pourcentage

Liste des Figures

Fig.1 Lyophilisateur

Fig.2 Les formes de l'eau dans le sol (une vue schématique)

Fig.3 Osmomètre

Fig.4 Succion de l'eau

Fig.5 Rhytidome

Fig.6 Principe de fonctionnement des transports actifs secondaires de la membrane plasmique

Fig. 7 Régulation du transport racinaire d'eau en situation de stress anoxique.

Fig. 8 Les trois états de la cellule en fonction de la pression osmotique externe

Fig.9 Les mycorhizes

Fig.10 Racine de Dicotylédones en coupe transversale

Fig.11 Trajet de l'eau à travers la racine

Fig.12 Thylle (Racine de Courge)

Fig.13 Stomates

Fig.14 Coupe transversale de la nervure principale d'un limbe de Houx

Fig.15 Epis

Fig. 16 Voie s'assimilation de l'azote au niveau racinaire

Fig.17 Modalités de fixation symbiotique de l'azote moléculaire N₂ par les bactéries du genre *Rhizobium*

Fig.18 Régulation transcriptionnelle

Fig.19 Cycle de l'azote

Fig.20 Canaux Shaker impliqués dans le transport de K⁺ dans la racine d'*Arabidopsis thaliana*

Liste des Figures

Fig.21 Transport actif du phosphore

Fig.22 Modèle d'un transporteur de phosphate contenant douze domaines transmembranaires et une large région hydrophile

Fig.23 Transporteurs de la membrane interne des chloroplastes.

Fig. 24 Mécanismes d'absorption du fer par les végétaux

Fig.25 Décomposition de la réaction photosynthétique en deux groupes de réactions Redox

Fig.26 Schéma "en Z", transfert acyclique des électrons

Fig.27 Schéma d'un chloroplaste

Fig.28 Représentation schématique du photosystème II dans la membrane du thylacoïde

Fig.29 Transfert cyclique d'électrons autour du PSI

Fig.30 Cycle de Calvin

Fig.31 Synthèse des sucres

Fig.32 Analyseur de gaz extractif pour mesure d'O₂ paramagnétique

Fig.33 Les plantes CAM

Fig.34 Agave

Fig.35 Anatomie comparée de feuilles de plantes en C3 et en C4

Fig.36 Présentation d'une mitochondrie mettant en évidence les chambres et protéines membranaires qui la composent

Fig.37 Glycolyse chez les plantes.

Fig.38 Réactions du cycle de Krebs

Liste des Figures

Fig.39 La chaîne respiratoire

Fig.39 La chaîne respiratoire

Fig.40 Rôle de la glycolyse dans les métabolismes des espèces oléoprotéagineuses

Fig.41 Mécanisme de synthèse des acides gras

Fig. 42 Regulation of WRINKLED1

Fig. 43 Types de semences

Fig.44 Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliquées en biologie

Fig.45 Les différentes classes des composés phénoliques

Fig.46 Structure de base des flavonoïdes

Fig.47 Différents types structuraux de flavonoïdes

Fig.48 Structure des précurseurs des deux classes de tanins et exemple de structure de tanins végétaux

Fig. 49 Les grandes lignes du métabolisme phénolique

Fig.50 Mode d'élongation des processus terpéniques

Fig.51 Mécanisme de réaction des prényltransférases illustrant la liaison faite par la GPP synthase, la FPP synthase et la GGPP synthase

Fig.52 Principales réactions de liaison à l'origine de la diversité des squelettes carbonés des terpènes

Fig.53 Schémas des principales formes de squelettes carbonés des mono et sesquiterpènes.

Liste des tableaux

Tab.1 Teneur en eau de divers tissus végétaux

Tab.2 TE de divers sols et points de flétrissement

Tab.3 Eléments essentiels aux plantes supérieures

Tab.4 Bilan énergétique de la respiration pour une molécule de glucose

Tab.5 Les acides gras

Tab.6 Récapitulatif des lipides simples et de leur structure

Tab.7 Les principales classes de composés phénoliques

Tab.8 Les sources alimentaires des flavonoïdes

Contenu de la matière

Titre	Page
Introduction générale	10
Chapitre I	Notions de base
1-Généralités	13
Chapitre II	Relation eau-plante
1-Pénétration de l'eau dans la plante	19
2-Transpiration	43
Chapitre III Absorption des éléments minéraux et leurs rôles (nutrition minérale)	
1- Généralités sur les nutriments minéraux	49
2- Nutrition azotée	58
3- Nutrition soufrée	63
4-Assimilation de l'azote et du soufre	65
5-Nutrition en potassium et sodium	80
6-Nutrition phosphatée	83
7-Nutrition en fer	91
Chapitre IV	Photosynthèse et assimilation du CO₂ (Nutrition carbonée)
1-Photosynthèse et assimilation du CO ₂	98
2- Photosynthèse et facteurs du milieu	114
Chapitre V	Le catabolisme (nutrition énergétique)
1-Catabolisme respiratoire	125
2-Bilan respiration/photosynthèse et rôle de la glycolyse dans les métabolismes des espèces oléoprotéagineuses	139
Chapitre VI	Métabolisme associé
1-Les lipides	143
2- Les métabolites secondaires	177
Conclusion	208
Références bibliographiques	

Introduction générale

Introduction générale

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

Les performances hydrominérales du système racinaire des plantes cultivées peuvent être améliorées, soit en jouant sur les capacités d'absorption, de stockage et de synthèse des racines, soit en modifiant la structure et la morphologie du chevelu racinaire, soit enfin en modifiant leur environnement proche (sécrétion de composés organiques). La fonction de la nutrition carbonée et énergétique est également importante afin de comprendre les mécanismes de la croissance des végétaux. Il est admis actuellement que les racines sont les clés de la deuxième révolution verte, celle qui s'affranchira partiellement des intrants rares et coûteux qui sont connus pour polluer l'environnement lorsqu'ils sont apportés en excès (**Morot-Gaudry, 2013**).

L'objectif de cette matière est la connaissance du mode de fonctionnement et la nutrition du végétal

Le polycopié que nous présentons se divise en quatre parties principales:

- Absorption des éléments minéraux et leurs rôles (nutrition minérale);
- Photosynthèse et assimilation du CO₂ (nutrition carbonée);
- Respiration (nutrition énergétique) ;
- Connaissance de la biosynthèse des lipides et des métabolites secondaires.

Chapitre I

Notions de base

Cours 1

Généralités

Cours 1**Généralités****1. Généralités**

La nutrition végétale est l'ensemble des processus qui permettent aux végétaux d'absorber dans le milieu et d'assimiler les éléments nutritifs nécessaires à leur différentes fonctions physiologiques : croissance, développement, reproduction...

Le principal élément nutritif intervenant dans la nutrition végétale est le carbone, tiré du dioxyde de carbone de l'air par les plantes autotrophes grâce au processus de la photosynthèse. Les plantes non chlorophylliennes, dites allotrophes ou hétérotrophes dépendent des organismes autotrophes pour leur nutrition carbonée.

La nutrition fait appel à des processus d'absorption de gaz et de solutions minérales soit directement dans l'eau pour les végétaux inférieurs et les plantes aquatiques, soit dans le cas des végétaux vasculaires dans la solution nutritive du sol par les racines ou dans l'air par les feuilles.

Les racines, la tige et les feuilles sont les organes de nutrition des végétaux vascularisés : ils constituent l'appareil végétatif ou encore appelée la partie aérienne

Par les poils absorbants de ses racines, la plante absorbe la solution du sol, c'est-à-dire l'eau et les sels minéraux, qui constituent la sève brute (il arrive que les racines s'associent à des champignons pour mieux absorber la solution du sol, on parle alors de mycorhize).

Par les feuilles, là où la photosynthèse s'effectue, la plante reçoit des acides aminés et des sucres qui constituent la sève élaborée. Sous les feuilles, les stomates permettent l'évaporation d'une partie de l'eau absorbée (dioxygène : O_2) et l'absorption du dioxyde de carbone (CO_2). Dans la tige, les deux types de sève circulent : la sève brute par le xylème et la sève élaborée par le phloème.

Pour vivre, les plantes ont besoin de :

- L'eau : Nutrition hydrique ;
- Les sels minéraux : Nutrition minérale ;
- La lumière, la chaleur, l'air (dioxyde de carbone): Nutrition carbonée
- L'air (l'oxygène): Nutrition énergétique

2. Importance de l'eau dans la matière végétale

L'eau est pondéralement le constituant le plus important des tissus physiologiquement très actifs.

Tab.1 Teneur en eau de divers tissus végétaux

Organes	Plantes	Poids d'eau (g) pour 100 g de Matière fraîche (MF)
Racines	Orge,	93
	tournesol (de 7 semaines)	71
Tiges	tournesol (de 7 semaines)	87.5
Feuilles	Laitue (feuilles internes),	94.8
	tournesol (de 7 semaines),	81
	Mais adulte	77
Graines	Orge,	10.2
	arachide	5.2

Les racines où la partie feuillée d'un végétal aérien renferment en moyenne de 80 g d'eau pour 100 g de MF (les valeurs sont encore plus élevées pour les végétaux aquatiques, **Tab.1**).

Les organes à vie ralentie, c'est-à-dire à métabolisme très peu actif, se caractérisent au contraire par une teneur en eau très faible : c'est le cas des graines. Le retour à un métabolisme normal nécessite obligatoirement une réimbibition des tissus ; les graines en germination reprennent progressivement une activité métabolique intense et la reprise est directement fonction du taux d'hydratation des tissus jusqu'à 20% d'eau dans les tissus, les échanges restent très faibles ; puis l'intensité respiratoire augmente brusquement pour atteindre des valeurs optimales vers 40 % d'hydratation.

L'eau est un constituant très important à deux niveaux de la plante :

a- au niveau cellulaire, c'est le milieu général d'imbibition de tous les colloïdes protoplasmiques, le liquide au sein duquel s'effectuent toutes les réactions du métabolisme, le milieu de diffusion de tous les ions ou métabolites.

b- au niveau de l'organisme entier, l'eau est tout aussi importante ; c'est le fluide circulant dans les vaisseaux conducteurs, formant avec les matières en solution les sèves brute et élaborée. C'est par ailleurs le liquide responsable de la turgescence de toutes les cellules et donc du port dressé des végétaux non ligneux (**Mazliak, 1974**).

3. Mesure de la teneur en eau (TE)

Pour mesurer la TE des tissus, on effectue généralement la dessiccation du matériel végétal. La quantité d'eau contenue dans l'organe est donnée par la différence de poids entre la MF et la MS. La dessiccation peut être réalisée en étuve à température élevée (70°C-110°C), sous vide, jusqu'à ce que le matériel garde un poids constant. Une autre méthode utilisée, est la cryodessiccation ou lyophilisation (**fig.1**).



Fig.1 Lyophilisateur. La lyophilisation permet de retirer l'eau d'un produit liquide, pâteux ou solide, à l'aide de la surgélation puis d'une évaporation sous vide de la glace sans la faire fondre.

La mesure de la teneur en eau (TE %) est donnée par la formule suivante :

$$TE (\%) = (PF - PS) / PF \times 100$$

PF= poids frais

PS= poids sec

Le déficit en eau (**D θ**) est donné par la formule suivante :

$$D\theta = (\Theta_m - \Theta) / \Theta_m$$

Θ_m : teneur maximale

Θ : teneur réelle

4. Les différents états de l'eau dans la matière végétale

Il n'est jamais facile de dessécher totalement une matière végétale. Les molécules d'eau sont en effet fortement polarisées et de très nombreuses interactions électrostatiques peuvent s'établir, dans les cellules, entre les molécules d'eau et

certaines constituants biochimiques. Ainsi de très nombreuses molécules d'eau sont immobilisées par des liaisons hydrogènes autour des groupements alcooliques, aminés ou carboxyliques. La cellulose notamment fixe une quantité considérable de molécule d'eau le long de résidus glucidiques de ses chaînes moléculaires. Cette eau immobilisée dans la cellule forme « l'eau liée », s'opposant à « l'eau libre » d'imbibition générale facilement circulante ou stagnante dans les vacuoles. En plus de ces catégories on trouve de « l'eau de constitution », stabilisant la structure tertiaire de certaines macromolécules protéiques et ne pouvant absolument pas être enlevée de ces protéines sans en entraîner la dénaturation. Eau liée et eau de constitution ne sont généralement pas entraînées hors de la matière végétale par les procédés de dessiccation décrites ci-dessus. Ces deux catégories ne forment que 3 à 5% de l'eau totale d'un tissu (**Mazliak, 1974; Berger, 1978; Gobat et al.; 1998**).

Chapitre II

Relation Eau- Plante

Cours 2

Pénétration de l'eau dans la plante

Cours2

Pénétration de l'eau dans la plante

1. Pénétration de l'eau dans la plante

C'est avant tout dans le sol que les plantes puisent l'eau qui leur est nécessaire

1.1 L'eau du sol

Un sol peut contenir de l'eau libre circulante et de l'eau plus ou moins retenue, par capillarité dans les canalicules entre les roches ou par adsorption, à la surface de minéraux (eau d'hygroscopie, **fi.g.2**). Les quantités d'eau ainsi immobilisées sont très variables d'un sol à l'autre.

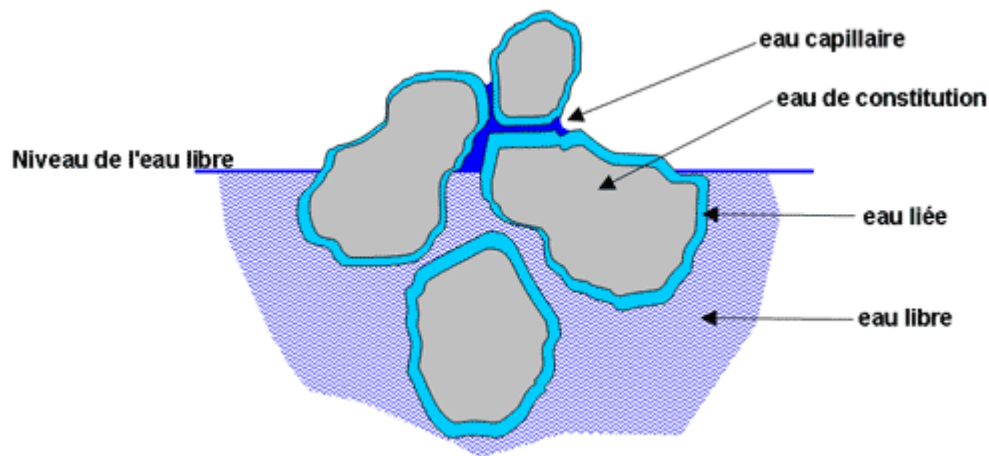
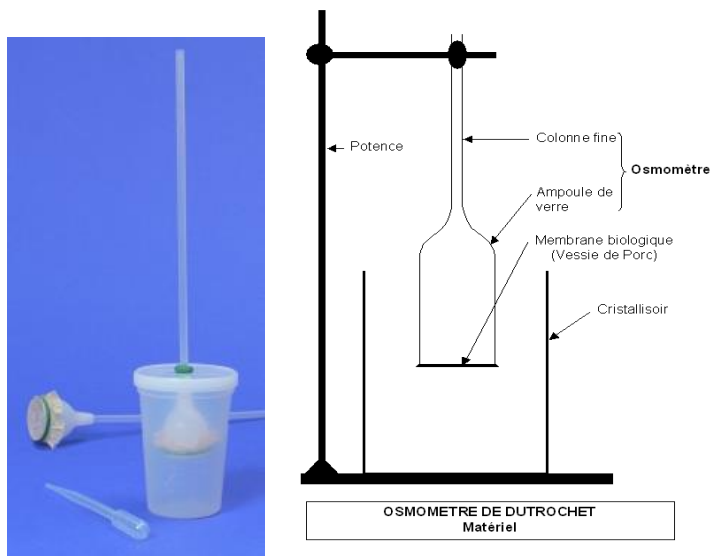


Fig.2 Les formes de l'eau dans le sol (une vue schématique).

Une grandeur est utilisée en pédologie : l'humidité équivalente du sol ; c'est la quantité d'eau retenue par le sol après élimination de toute l'eau s'écoulant par centrifugation d'un échantillon à 1000g. Cette humidité équivalente s'exprime également en pourcentage du poids de l'échantillon de terre desséché à 100°C.

Le **tab2** rend compte de la grande variabilité du pouvoir de rétention de l'eau d'un sol à l'autre. Les forces de rétention de l'eau existant dans un sol donné sont mesurées en « pression osmotique » avec un osmomètre spécial constitué d'un cylindre poreux rempli d'eau pure et relié à un manomètre (**fig.3**).



Manomètre

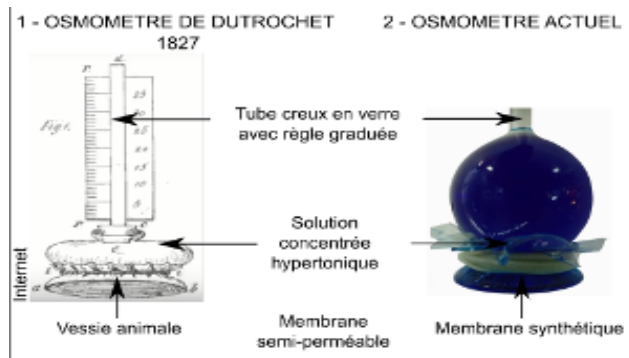


Fig.3 Osmomètre

Le cylindre est enfoncé dans le sol étudié. L'eau quitte le cylindre, attirée par capillarité ou par hygroscopie (utilisation de l'hygroscope, instrument servant à mesurer la vapeur d'eau dans l'air). La « pression négative (à valeur négative : les corps condensés (liquide et solides) peuvent résister à une pression négative (distension) en raison de l'attraction mutuelle de leurs atomes ou molécules. » est alors mesurée (dans le manomètre) , exercée par le sol sur l'eau (la pression osmotique du sol, en atmosphères). Cette pression négative est évidemment d'autant plus élevée, en valeur absolue, que la teneur en eau du sol est plus faible.

Tab.2 TE de divers sols et points de flétrissement. Les valeurs du point de flétrissement sont à peu près identiques pour tous les végétaux sur un sol donné.

Sols	Humidités équivalentes	Points de flétrissement (%)		
		Blé	pois	tomate
Sable grossier	1.6	1.07	1.02	1.11
Sable fin	5.5	3.1	3.3	3.3
Limon sableux	12	6.5	6.9	6.9
Limon ordinaire	19	9.9	12.4	11.7
Limon argileux	27	15.5	16.6	15.3
Argile compacte	40	-	-	-
tourbes	100	-	-	-

Ceci nous permet de repérer dans un sol, plusieurs valeurs critiques pour la végétation :

- a- **la capacité de rétention de l'eau du sol** qui marque le maximum d'eau disponible pour les plantes poussant dans le sol étudié.
- b- **Le point de flétrissement permanent des végétaux** sur le sol étudié qui marque la TE au-dessous de laquelle les forces de rétention de l'eau dans le sol sont trop grandes pour que les plantes puissent les vaincre et arracher l'eau du sol. Ce point de flétrissement permanent s'exprime en % du poids de la terre sèche.

La quantité d'eau disponible pour la végétation est donc très différente d'un sol à l'autre, selon la nature et la texture des minéraux constitutifs. Les agronomes ont établi la relation empirique suivante :

Point de flétrissement permanent des végétaux sur un sol donné = Humidité équivalente du sol / 1.3 à 3.8.

Le point de flétrissement permanent correspond au seuil au-delà duquel l'humidité du sol ne permet plus à la plante de prélever l'eau dont elle a besoin, car la réserve utile en eau du sol a été entièrement consommée. La plante flétrit alors puis meurt si ce taux d'humidité dure.

Puisque le dénominateur de cette fraction est toujours supérieur à 1, cela signifie que la quantité d'eau minimum nécessaire à la végétation est inférieure à la quantité subsistant dans le sol après écoulement de l'eau sous l'action d'un champ de gravitation de 1000g. En d'autres termes de succion de l'eau du sol par les plantes est

supérieure à l'attraction exercée sur l'eau par un champ de gravitation de 1000g : ceci illustre bien la force avec laquelle les végétaux pompent l'eau du sol (**Mazliak, 1974, fig.4**).

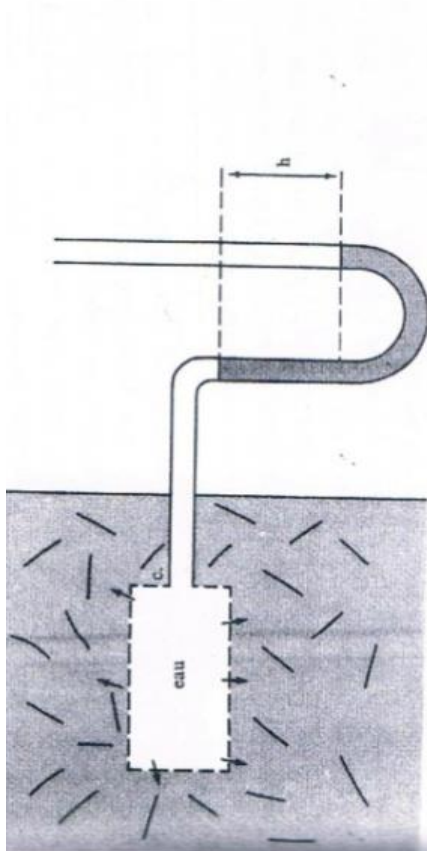
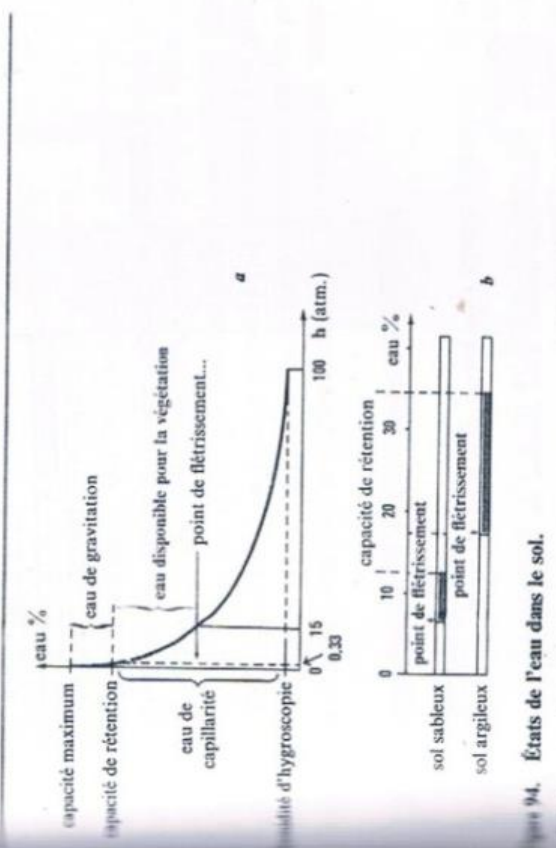


Figure 93. Principe de la mesure des forces de rétention de l'eau par un sol. Le cylindre creux (c.) est rempli d'eau pure et relié à un manomètre. La dépression h mesure la « pression négative » exercée par le sol sur l'eau.



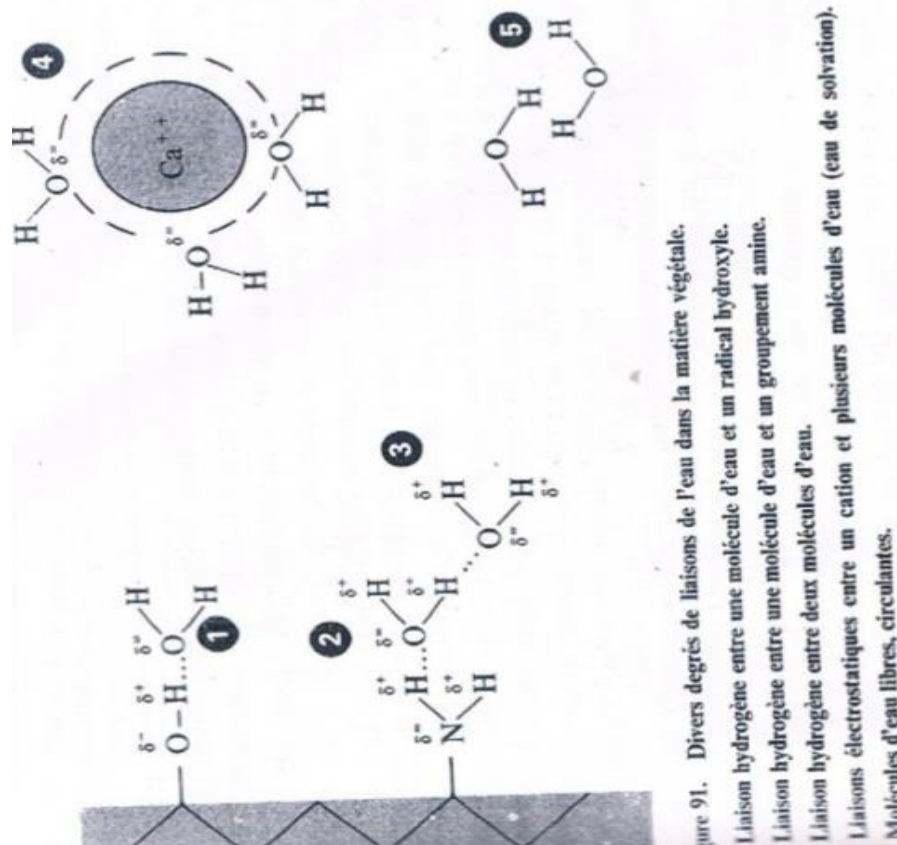


Fig.4 Succion de l'eau

1.2 L'absorption d'eau par les tiges et les feuilles

Les plantes aquatiques peuvent absorber l'eau de n'importe quelle partie de leur organisme. Les épidermes des organes de ces plantes ne sont pas recouverts d'une cuticule cireuse, strictement imperméables à l'eau ; ceci les différencie nettement des végétaux aériens.

Nombre de végétaux des régions méditerranéennes (*Pinus*, *Olea europaea*) absorbent l'eau de condensation de la rosée déposée à la surface de leurs feuilles. Les pins par exemple présentent à la base de leurs aiguilles de petites écailles non cutinisées qui sont le lieu de pénétration de l'eau

1.3 L'absorption d'eau par les racines

L'entrée de l'eau dans la plante s'effectue essentiellement par les poils absorbants des racines. La surface d'absorption de l'appareil racinaire se trouve donc multipliée considérablement par le très grand nombre des poils absorbants. L'absorption d'eau est bien moindre au niveau des zones surélevées (liège) des racines, mais elle se produit néanmoins au niveau des fissures et des lenticelles (pores ou ouvertures de

liège, permettant l'entrée d'air vers les tissus profonds : échange d'oxygène et de dioxyde de carbone), ce qui peut être important pour les grands arbres (**Fig.5**).

L'absorption de l'eau par les poils absorbants n'est pas un mode exclusif malgré sa fréquence; les poils absorbants ne possèdent pas de mécanismes spécifiques d'absorption mais seulement présentent des caractères morphologiques particulièrement favorables aux échanges d'eau :

- Paroi pectocellulosique très mince
- Vacuoles volumineuse
- Surface de contact considérable (**Mazliak, 1974 ; Berger, 1978 ; Gobat et al. ; 1998**).



Fig.5 Rhytidome, une "écorce" brune épaisse, apparaît plus à l'extérieur. Observer suber (partie brune) et lenticelle (pore). Les lenticelles sur ce tronc de tremble *Populus tremula*.

1.4 Mesure d'absorption de l'eau par les racines

Pour mesurer la quantité d'eau pompée dans le sol par une plante les scientifiques posent a priori que la quantité d'eau absorbée est égale à la quantité d'eau perdue par transpiration, dans l'atmosphère. Cette estimation néglige les quantités 'eau transformées ou produites par le métabolisme. Ces quantités sont en vérité tout à fait minimales par rapport aux masses énormes d'eau circulant à travers les organismes végétaux.

La quantité d'eau puisée dans le sol par une plante est mesurée de plusieurs façons :

a* Par simple pesée

b* à l'aide d'un potomètre (ou **transpiromètre**), est un instrument, un appareil qui permet de mesurer le taux d'absorption de l'eau par une plante feuillue par unité de temps. Les causes de l'absorption d'eau sont la photosynthèse et l'évapotranspiration.

Le taux de transpiration peut être estimé de deux manières:

- Indirectement: en mesurant la distance parcourue par le niveau d'eau dans le tube gradué sur une période de temps mesurée. Il est supposé que cela est dû à

la coupe d'eau qui est à son tour nécessaire pour remplacer un volume égal d'eau perdue par transpiration.

- Directement: en mesurant la réduction de masse du potomètre sur une période de temps. Ici, on suppose que toute perte de masse est due à la transpiration.

1.5 Facteurs contrôlant l'absorption d'eau

Les facteurs climatiques (température, humidité de l'air) agissent indirectement sur l'absorption d'eau en modifiant les quantités perdues par transpiration.

Les facteurs pédologiques jouent également un grand rôle dans le contrôle de la quantité d'eau absorbée par une plante. La TE du sol est un facteur décisif : c'est l'eau libre pour la végétation qui doit être prise en compte et d'une manière générale. La quantité d'eau absorbée est d'autant plus grande que les forces de rétention de l'eau dans le sol sont plus faibles.

L'alimentation en oxygène des tissus racinaires est indispensable : le sol doit convenablement aéré, en quantité suffisante. Les poisons découplants les phosphorylations oxydatives réduisent l'alimentation hydrique des racines. Les auxines facilitent en général l'entrée d'eau dans les plantes, vraisemblablement en modifiant l'élasticité des parois cellulaires.

1.6 Mécanismes cellulaires de l'absorption d'eau

Le volume d'eau qui transite dans la plante peut atteindre plusieurs litres d'eau par jour par m² de sol couvert. Ce flux est plusieurs dizaines de fois plus important que le stock d'eau dans le végétal et notamment que la part de stock qui peut être mobilisée pour contribuer à la transpiration générale. L'idée première a donc été d'utiliser un modèle à flux conservatif pour traiter la circulation de l'eau à travers la plante (Mazliak, 1974; Berger, 1978; Gobat et al.; 1998).

*Les systèmes de transport racinaires

Les **capacités de prélèvement des ions** dépendent des systèmes de transport des racines. Les membranes biologiques qui délimitent les cellules et les compartiments intracellulaires des tissus racinaires, sont constituées d'une bicouche lipidique. Les ions métalliques, ne pouvant pas traverser le cœur hydrophobe que constituent les lipides membranaires, passent *via* des protéines de la membrane, dénommées *transporteurs*, enchâssées dans la bicouche lipidique.

On distingue habituellement les *transporteurs passifs*, comme les canaux ioniques, qui offrent une voie de passage qu'emprunte l'ion dans le sens favorable du gradient électrochimique, et les *transporteurs actifs* qui réalisent un couplage énergétique permettant à l'ion de se déplacer dans le sens défavorable. Dans ce cas, l'énergie est fournie par la dissipation du gradient électrochimique d'un autre soluté; on parle alors de transporteurs actifs secondaires (**Fig.6**)

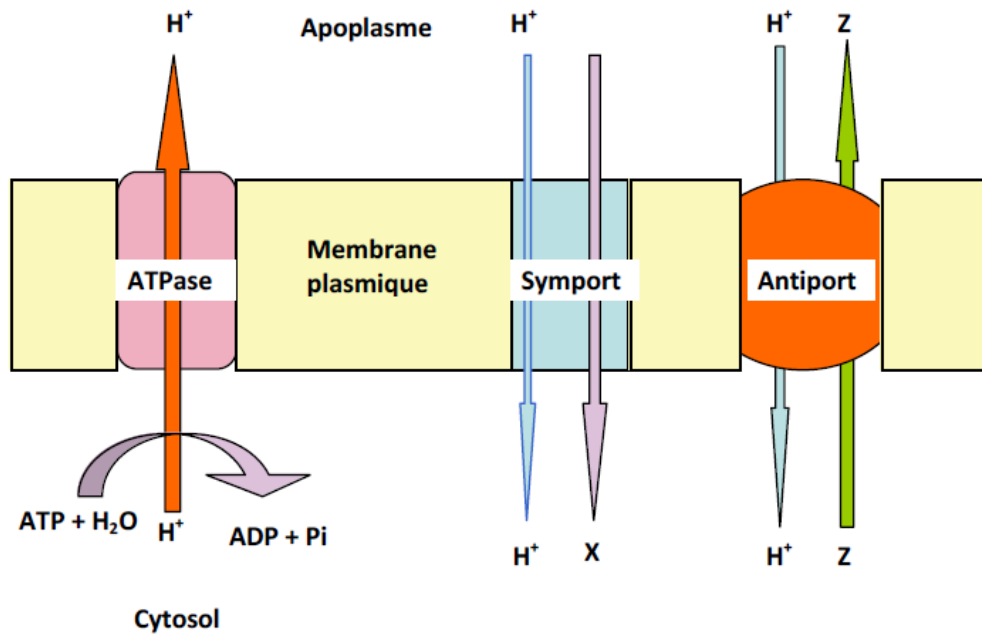


Fig.6 Principe de fonctionnement des transports actifs secondaires de la membrane plasmique, formée d’une bicouche lipidique dans laquelle sont enchâssés les pompes ioniques et les transporteurs d’ions.

Les ions sont transportés activement soit dans le sens de l’influx (X) soit dans le sens de l’efflux (Z). L’ATPase, pompe à protons H⁺, génère un gradient de H⁺ à travers la membrane. Le gradient est alors utilisé pour diriger un flux d’ions H⁺ dans leur compartiment d’origine. Au niveau des transporteurs de ces ions, le flux de retour spontané des H⁺ est couplé soit à l’entrée active de l’ion X (symport), soit à la sortie active de l’ion Z (antiport ; **Morot-Gaudry, 2013**).

Canaux ioniques

Un **canal** est un système qui passe d’un état inactif (fermé) à un état actif (ouvert) par un changement conformationnel, impliquant la modification de la structure spatiale de la protéine enchâssée dans la membrane cellulaire conduisant à l’ouverture d’un pore aqueux (hydrophile) en son sein. Un autre changement conformationnel le fait ensuite passer de l’état ouvert à l’état fermé. Tant qu’il se trouve à l’état ouvert, un canal permet à un flux continu d’ions (10⁷ ions transportés par seconde) de passer à travers la membrane, sans procéder à un changement conformationnel à chaque fois qu’un ion le traverse. Ce système de transport est très efficace, mille fois plus efficace que le transport par les pompes ioniques et les systèmes de cotransport.

Deux types de système de transport sont capables de réaliser un transport actif, les pompes ioniques et les systèmes de co-transport. Une **pompe ionique** est définie comme un système de transport dont le fonctionnement implique l’hydrolyse, à chaque cycle de transport, d’une liaison covalente riche en énergie. Parmi ces pompes ioniques nous trouvons par exemple, les ATPases de type P (ATPase pompes à protons (H⁺) ou à Ca²⁺), présentes dans la membrane plasmique, et les ATPases de type V et des pyrophosphatases (H⁺-PPase) constituant les pompes à H⁺ de la

membrane vacuolaire. Les **systèmes de transports actifs secondaires** (symport ou antiport) impliquent le fonctionnement d'une pompe à protons primaire (dépendante de l'ATP ou du pyrophosphate PPi) et celui d'un transporteur spécifique d'ion (ou de soluté organique) qui transporte également des protons. L'ion (ou le soluté) est transporté de manière active grâce à l'énergie fournie par le gradient de protons qui joue le rôle d'intermédiaire énergétique. Un **transporteur** est donc un système qui change d'état conformationnel à chaque fois qu'il transporte un substrat (ou cotransporte deux substrats), impliquant un passage couplé de co-substrats dans le même sens (symport) ou opposé (antiport) ; c'est, par exemple, le cas du transport du nitrate et du fer). Depuis une décennie, les nouvelles techniques d'analyse du génome, relativement rapides, dites à haut débit, permettent d'accumuler une immense quantité de données et de modéliser des phénomènes complexes dans les conditions environnementales données. Ces technologies sont appropriées pour appréhender les mécanismes de nutrition hydrominérale des plantes. Les premières approches de génomique sur les racines permettent d'identifier et de sélectionner des gènes susceptibles d'optimiser l'absorption de l'eau et des éléments minéraux, azote et phosphore notamment, et de mieux résister à certaines contraintes du sol : sécheresse, toxicité aluminique, acidité par exemple. Voici quelques exemples récents.

Transport de l'eau : les aquaporines

Les plantes se doivent de maintenir leur équilibre hydrique, tout au long de leur développement et dans des conditions environnementales parfois sévères. Au début des années 1990, les biologistes ont identifié chez les plantes des canaux hydriques, appelés aquaporines, facilitant la diffusion de l'eau, de cellules à cellules, au travers des membranes biologiques. Les aquaporines ont une capacité de transport tout à fait remarquable, avec un flux d'eau dans leur pore de l'ordre de 10⁹ molécules par seconde (**Maurel et al., 2008**). Les aquaporines appartiennent à la superfamille des Major Intrinsic Protein (MIP). Ces protéines sont présentes chez quasiment tous les organismes vivants (bactéries, animaux et plantes). Les aquaporines de plantes se distinguent par un nombre important d'isoformes. Ainsi, le génome de la plante modèle *Arabidopsis thaliana* et celui du riz comptent, respectivement, 35 et 33 gènes différents d'aquaporines. Chez ces espèces, les aquaporines se subdivisent en quatre sous-familles selon l'homologie de leurs séquences. Cette classification traduit aussi, dans une certaine mesure, des localisations sub-cellulaires différentes. On distingue ainsi quatre types d'aquaporines :

- Les Plasma Intrinsic Proteins (PIP), dont certaines isoformes ont été localisées sur la membrane plasmique,
- Les Tonoplast Intrinsic Proteins (TIP), localisées au niveau du tonoplaste (membrane de la vacuole),
- Les Nodulin26-like Intrinsic Proteins (NIP) possédant une forte homologie avec l'aquaporine Noduline 26 de la membrane péribactéroïdienne de nodule racinaire de soja.

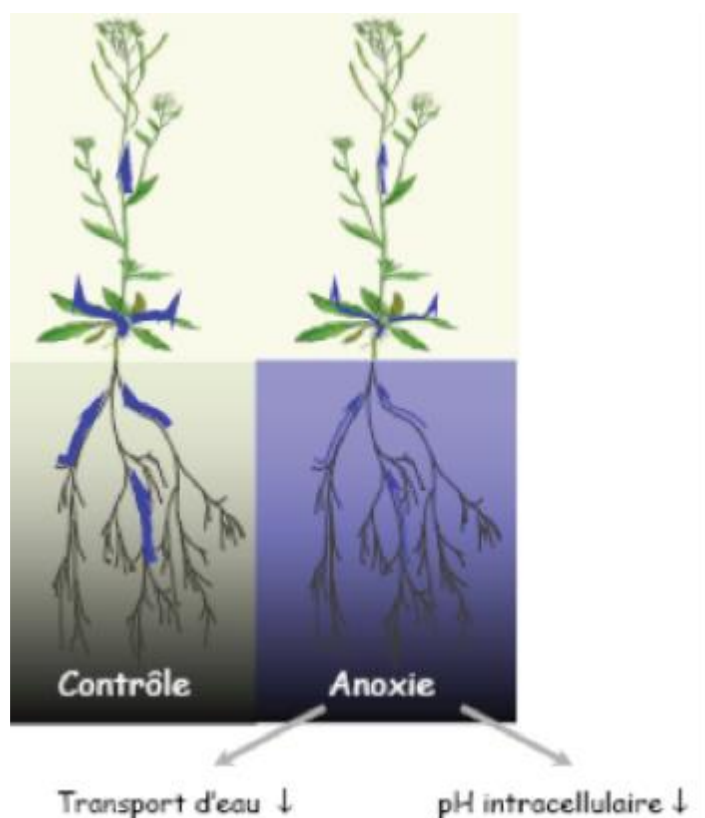


Fig. 7 Régulation du transport racinaire d'eau en situation de stress anoxique.

Ce type de stress, induit notamment par une inondation du sol, mène à une baisse du pH intracellulaire. Une des conséquences directes de cet effet est une inhibition de l'activité des aquaporines et donc une réduction de l'absorption racinaire d'eau non-légumineuses, les NIP ont été localisées au niveau du réticulum endoplasmique ou de la membrane plasmique,

- les Small basic Intrinsic Proteins (SIP) découvertes lors de l'annotation du génome et dont certaines isoformes ont été récemment localisées au niveau du réticulum endoplasmique. Cette forte diversité peut en partie s'expliquer par des différences dans le profil d'expression de ces aquaporines. Certaines isoformes sont exprimées dans tous les organes de la plante alors que d'autres ne sont exprimées que dans certains tissus ou à certains stades de développement (**Maurel et al., 2008**). C'est dans la racine que ces mécanismes ont été les mieux décrits. Par exemple, l'inondation des sols en hiver dans les zones tempérées ou après irrigation en période sèche provoque, au niveau des racines, une carence aiguë en oxygène appelée anoxie (**Fig. 7**). On sait depuis quelques années que ce type de stress, tout comme la sécheresse ou la salinité des sols, affecte l'absorption d'eau par les racines. Il est démontré que le blocage complet du transport racinaire d'eau en condition d'anoxie est strictement lié à une acidification du milieu interne des cellules, acidification qui découle du déséquilibre métabolique général engendré par le manque d'oxygène. Dans ce cas, et de manière très originale, cette acidification sert de signal pour provoquer directement la fermeture des aquaporines PIP localisées sur la membrane plasmique des cellules. Cette propriété de régulation découle d'un caractère structural spécifique des aquaporines PIP. Dans le cas d'un traitement salin, en revanche, les mécanismes en

jeu sont très différents. Ils impliquent une relocalisation cellulaire des aquaporines PIP, liée à un stress oxydant induit par le sel. En complément de leur fonction de transport d'eau, certaines aquaporines peuvent transporter des petits nutriments neutres (bore, silicium) ou des gaz tel que le dioxyde de carbone (CO₂). Des approches génétiques et pharmacologiques mettent en évidence une fonction très complexe des aquaporines dans les feuilles : elles réguleraient les caractéristiques hydrauliques des tissus internes, notamment en fonction du régime lumineux. Elles favoriseraient aussi la diffusion du CO₂ jusque dans le chloroplaste. Ces exemples illustrent comment l'étude des aquaporines implique une approche intégrative des grands processus physiologiques de la plante (**Maurel et al., 2008**). Enfin, il a été montré récemment que les aquaporines intervenaient dans le développement racinaire. Lorsqu'une ramification racinaire apparaît, la racine secondaire se forme à partir de couches cellulaires profondes de la racine primaire. Pour émerger, elle doit se frayer un passage au travers des cellules de cette dernière. Des chercheurs français, britanniques et allemands ont montré récemment que, par l'intermédiaire des aquaporines et de l'hormone auxine, la plante contrôle très précisément les flux d'eau à travers ces différents tissus. Ainsi, dans les zones de ramification, l'eau se concentre dans la racine secondaire en expansion, ce qui permet à ces cellules de gonfler et de repousser mécaniquement les cellules de la racine primaire qui les recouvrent. Cet apport d'eau se fait au détriment des couches superficielles de la racine primaire, dont la résistance mécanique se réduit. Ce mécanisme, grâce à une hormone végétale et aux protéines régulant le passage de l'eau, permet l'émergence des racines secondaires (**Péret et al., 2012**). Ces approches sont difficiles à mener et les cibles moléculaires soupçonnées d'être efficaces ne sont pas aisées à identifier. C'est le cas de maïs résistant à la sécheresse chez lequel une protéine SSPP (de type chaperonne), isolée à partir de la bactérie *Bacillus subtilis*, se lie aux ARN de la cellule afin de faciliter leur fonction. Des recherches récentes, menées conjointement par Monsanto et BASF, ont démontré dans les grandes plaines du Middle Ouest américain que l'introduction du gène *SSPP* permet à ces maïs transgéniques de faire face à la sécheresse et de stabiliser leur rendement dans ces conditions difficiles d'environnement. Pour compléter ces approches, les semenciers recherchent actuellement des sources de tolérance à la sécheresse dans la diversité génétique naturelle existant à l'intérieur de chaque espèce cultivée, essayant d'identifier les allèles qui confèrent aux plantes des caractéristiques favorables dans ces conditions de culture. Ce type d'approche nécessite de mettre en place des systèmes de séquençage et de génotypage sur un grand nombre de plantes cultivées dans les conditions les plus diverses. C'est un énorme travail qui demande des moyens considérables.

1.6.1 Modèle général

L'état hydrique de la plante dépend, à la fois des conditions hydriques dans le sol, dans l'atmosphère, et ses caractéristiques structurales et fonctionnelles, représenté par un modèle linéaire simplifié du potentiel hydrique (Ψ , caractérise l'énergie de liaison de l'eau avec le substrat et s'exprime souvent en bars). Le mécanisme primaire d'entrée de l'eau est le résultat de lois purement physico-chimiques. L'absorption de l'eau est un processus passif (au sens thermodynamique du terme) du à la différence négative entre le potentiel hydrique du poil absorbant et celui du sol. Elle est toute fois sous la dépendance du métabolisme.

Formule : $\Psi = P + \pi + \tau + \rho$

- **P** = le potentiel hydrostatique (**pression de turgescence**).
- P est égal à 0 à la pression atmosphérique. P est dû à la présence de la paroi (cellules végétales) et à la pression du contenu intracellulaire (donc P supérieur à la pression atmosphérique). Le potentiel hydrostatique a une valeur comprise généralement entre 3 et 8 bars.

les variations de volume cellulaire, quoique relativement complexes, sont de la forme générale :

$$P = k \left(\frac{V - V_0}{V_0} \right) \quad (6)$$

avec V_0 , le volume de la cellule lorsque le potentiel de turgescence est nul, V le volume cellulaire et k un paramètre qui représente le module d'élasticité de la paroi cellulaire. Des résultats récents semblent montrer que k dépend fortement du potentiel de turgescence (P).

Certains auteurs ont également envisagé l'hypothèse

Selon laquelle ces déformations pourraient induire des modifications du paramètre L_p (**Robert et Catesson, 1990**)

- π = le **potentiel osmotique**. π est égal à 0 dans l'eau pure, il sera toujours de valeur négative dans les cellules végétales. π traduit la présence de substances dissoutes. On peut définir la pression osmotique qui est égale à la valeur absolue du potentiel osmotique. Il est alors possible de mesurer (avec un osmomètre) la concentration des solutés dans une cellule. Si elle augmente, la pression osmotique va augmenter et le potentiel osmotique diminuer.
- τ = le **potentiel matriciel**. Ce potentiel correspond aux **forces de rétention exercées par la matrice (forces d'imbibition et de capillarité)**. τ est inférieur à 0 (*négligé*), qui empêche l'entrée de l'eau dans la plante.
- ρ = le **potentiel gravitationnel**. ρ est ≥ 0 si la hauteur de la plante dépasse les 10 mètres (arbres).

$$L_p = \pi R^4 / 8\eta$$

- L_p est la conductivité hydraulique.
- R le rayon (diamètre) du capillaire (vaisseaux), η la viscosité du liquide.
- Il en résulte que si le rayon d'un élément conducteur double, L_p est multiplié par 16, si le rayon est multiplié par 4, L_p est donc multiplié par 256 (4^4). En d'autres termes, un vaisseau de rayon $4R$ a une conductivité hydraulique 64 fois supérieure à 4 vaisseaux de rayon R . ainsi les gros vaisseaux de printemps d'une espèce à pores en anneaux (ou à zone poreuse) assurent seuls plus de 97% du débit de la sève brute.
- Or les vaisseaux les plus larges sont aussi les plus longs: il y a peu de parois terminales, freinant la circulation, sur le trajet de la sève. C'est donc dans les

espèces à pores en anneaux que la vitesse de circulation de la sève brute est la plus élevée (**Robert et Catesson, 1990**).

Notion de Pression osmotique : le liquide vacuolaire d'une cellule végétale présente une certaine pression osmotique.

Po ou Posm = C * R * T

$$P_{osm} = R.T [C] = 22.4 [C] \quad \text{à } 0^{\circ}\text{C}$$

Posm : Pression osmotique atmosphérique

R : Constante universelle des gaz parfaits (gaz principaux de l'air, le diazote N₂ et le dioxygène O₂)

T ; Température absolue de la solution en K (Kelvin = T_K = T_C + 273.15 ou °C

K - 273.15 (Le zéro absolu 0K = - 273,15°C = zéro absolu. Selon Van't HOFF, 1886).

Le kelvin est une unité de mesure de la température. Son symbole est le K. C'est l'unité de température thermodynamique (passage de l'eau au sens thermodynamique du terme). Son inventeur est le Lord Kelvin (William Thomson). Kelvin (K) Le kelvin est l'unité de base de la température dans le système SI (Système international d'unités). L'abréviation de l'unité kelvin est K (pas de degré ni de signe degré). C'est William Thomson (Lord Kelvin) qui a présenté l'unité kelvin pour la première fois en 1848. Le kelvin est actuellement défini comme la fraction 1/273,16 de la température thermodynamique (passage de l'eau au sens thermodynamique du terme) du point triple de l'eau, le zéro absolu étant 0 K.

Celsius (°C) Le Celsius est actuellement une unité dérivée de température dans le système SI, le kelvin étant l'unité de base. C'est le Suédois Andreas Celsius qui a présenté l'unité et l'échelle Celsius pour la première fois en 1742. Les deux principaux points de référence de l'échelle Celsius étaient le point de congélation de l'eau (ou le point de fusion de la glace) défini à 0 °C et le point d'ébullition de l'eau à 100 °C.

C : Concentration molaire du liquide vacuolaire

La différence **d'énergie de liaison de l'eau entre deux points d'un système est à l'origine de la force motrice qui fait circuler celle-ci**. Nous avons déjà vu plus haut que la notion de potentiel hydrique est utilisée pour décrire cette énergie de liaison de l'eau et la différence de potentiel devient l'élément moteur de la circulation de l'eau. Le potentiel de l'eau libre, à la température et à la pression de l'expérience, étant pris comme potentiel de référence égal à 0, les potentiels observés sont le plus souvent négatifs. Permettant de relier les principales composantes du potentiel hydrique d'un système. Deux zones d'un système peuvent avoir un potentiel global égal, tout en ayant des composantes très différentes. **Ainsi dans un végétal deux grands**

territoires existent, milieu extracellulaire (vaisseaux et parois) et intracellulaire (cytoplasme, vacuoles) qui, même à l'équilibre de potentiel, ont des caractéristiques très différentes. Dans le milieu extracellulaire les paramètres capillaires ou hydrostatiques (*T*: *pression de Tension*) sont les composantes essentielles et fortement négatives du système. *T* apporte une contribution assez faible, **la sève brute étant relativement peu concentrée.**

Potentiel hydrique de la cellule = potentiel osmotique + potentiel de turgescence

Le mouvement (flux) d'eau se fait vers le potentiel hydrique le plus bas.

1.6.2 Les structures de transfert

Entre le sol et la surface d'évaporation située dans les feuilles, l'eau traverse un premier massif cellulaire au niveau de la racine, un système conducteur qui transporte l'eau de la racine vers les feuilles, et enfin un autre massif cellulaire dans les feuilles.

Au niveau cellulaire, deux voies possibles de circulation de l'eau se présentent. Soit l'eau traverse la cellule et doit donc franchir un certain nombre de barrières membranaires, soit elle contourne la cellule, en circulant dans la paroi cellulosique qui l'entoure. Dans ce dernier cas, le flux principal ne traverse pas la cellule et seuls des échanges mineurs ont lieu entre la cellule et flux privilégié pariétal.

1.6.3 Pénétration à travers la racine

Quelle que soit la structure considérée, l'absorption d'eau se fait toujours à travers une paroi cellulaire. Pour expliquer ces mécanismes, il faut se rappeler que les échanges d'eau entre le milieu intra-cellulaire et le milieu extra-cellulaire se font à travers la membrane cytoplasmique conformément aux lois physiques de la diffusion : l'**osmose** qui s'effectue toujours du milieu hypotonique vers le milieu hypertonique. La pression osmotique qui détermine le flux d'eau est proportionnelle à la différence de concentration entre les deux milieux. Ainsi une cellule placée dans une solution hypertonique par rapport au milieu intra-cellulaire perd de l'eau et devient plasmolysée. En revanche, si elle est placée dans un milieu extra-cellulaire hypotonique par rapport au milieu intra-cellulaire, de l'eau pénètre dans la cellule, la vacuole gonfle : la cellule est alors turgescence (**fig.8**).

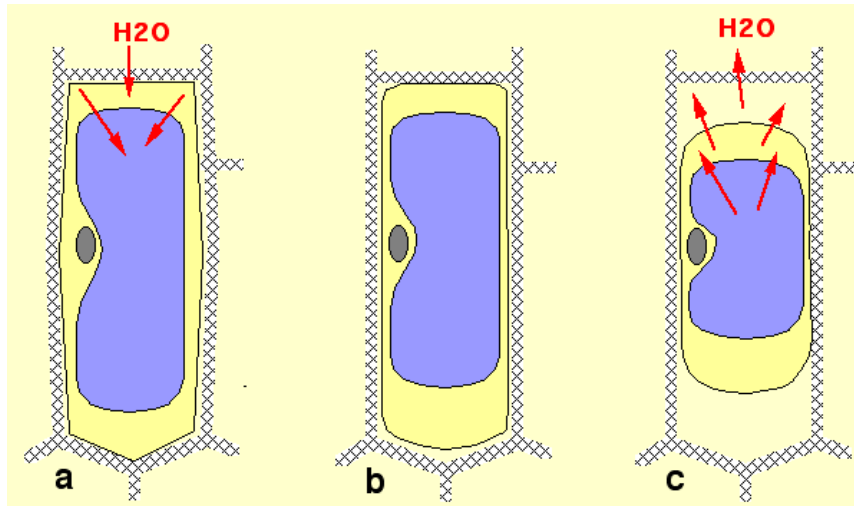
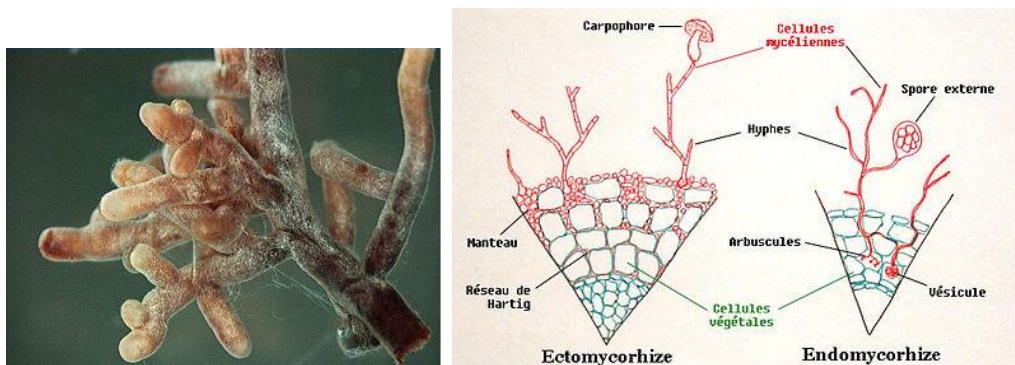


Fig.8 Les trois états de la cellule en fonction de la pression osmotique externe ; a : Le milieu est moins concentré que la vacuole de la cellule. L'eau a tendance à entrer dans la cellule. La cellule gonfle et exerce une pression sur la paroi (pression de turgescence). Si la paroi n'est pas plastique (cellule âgée), l'entrée d'eau s'arrête lorsque la contre pression exercée par la paroi est égale à la pression de turgescence. Si la paroi est plastique, elle se déforme sous l'effet de la pression de turgescence et la cellule grandit. b : Le milieu a la même concentration que la vacuole. Il n'y a aucun échange d'eau. La cellule n'exerce aucune pression sur la paroi. La pression de turgescence est nulle. C'est la plasmolyse limite. La croissance n'est pas possible. c : le milieu est plus concentré que la vacuole. L'eau à tendance à sortir de la cellule. C'est la plasmolyse.

Dans les conditions naturelles, la cellule du poil absorbant (ou celle du mycélium des mycorhizes, **fig.9**) est toujours hypertonique par rapport à la solution du sol : elle absorbe donc l'eau passivement par osmose. Une plante, arrosée avec une solution trop concentrée en sels minéraux, se fane et meurt car, non seulement les cellules des racines n'absorbent plus d'eau, mais elles en perdent ce qui entraîne leur plasmolyse.



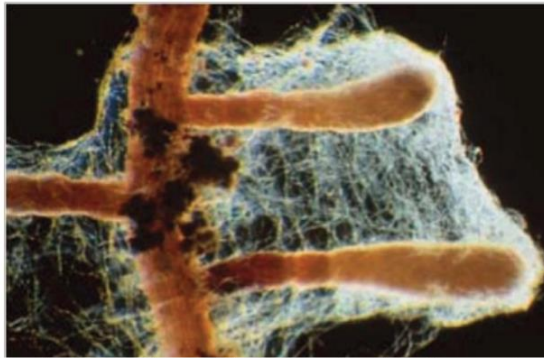


Fig. 9. Les mycorhizes, sont des symbioses entre des champignons microscopiques et les racines des végétaux. Les champignons aident les végétaux à puiser les éléments nutritifs du sol et en échange les végétaux fournissent aux champignons l'énergie qu'ils sont incapables de tirer eux-mêmes car dépourvus de photosynthèse. La quasi-totalité des végétaux terrestres vivent en symbiose mycorhizienne (Morot-Gaudry, 2013).

Les endomycorhizes à arbuscules et les ectomycorhizes sont les associations mycorhiziennes les plus répandues chez les plantes. Le préfixe *endo* fait référence au fait que les hyphes ("poils mycorhiziens") franchissent les parois et "repoussent" la membrane plasmique des cellules hôtes, sans pour autant pénétrer le protoplaste, c'est à dire sans traverser la membrane plasmique. Le préfixe *ecto* traduit le fait que les hyphes mycéliennes progressent strictement entre les cellules du cortex racinaire, au niveau de la lamelle moyenne, sans jamais sortir de l'apoplasme. Les mycorhizes sont connus depuis des lustres pour améliorer grandement la fouille du sol pour l'eau et les éléments minéraux. Les champignons mycorhiziens du genre *Glomus* accroissent l'absorption du phosphore par les plantes. En sécrétant des phosphatases, ils sont capables de transformer le phosphore organique non directement mobilisable par la plante en formes orthoet polyphosphates assimilables (Richardson et al., 2009).

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

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

La découverte des facteurs Myc ouvre la voie à de nombreuses applications agronomiques, d'autant plus qu'ils concernent les symbioses entre champignons endomycorhiziens et la plupart des plantes, y compris les céréales, ce qui n'est pas le cas de la symbiose responsable de la fixation symbiotique de l'azote qui ne concerne que les plantes de la famille des légumineuses.

Les facteurs Myc pourraient être utilisés pour stimuler la formation des symbioses chez les plantes cultivées optimisant ainsi la nutrition minérale et **permettant de réduire l'apport d'engrais**, notamment phosphorés. Restent cependant encore de nombreuses questions à élucider avant que de telles applications s'avèrent efficaces au champ (**Morot-Gaudry, 2013**).

□□ *Hypotonie du milieu* : Si la cellule est plongée dans un milieu hypotonique (de pression osmotique inférieure à celle de son liquide vacuolaire), un appel d'eau se produit du milieu le moins concentré vers le milieu le plus concentré. De l'eau entre dans la cellule et celle-ci se gonfle, devient turgescente. La paroi cellulaire se déforme, se distend sous l'effet de cette pression osmotique (**Posm**) et oppose progressivement une pression membranaire (**Pmbr**) de résistance à la déformation lorsque ces deux pressions opposées s'équilibrent, la cellule atteint son volume maximum. C'est l'état de pleine turgescence, état naturel aux cellules des végétaux non ligneux à port dressé.

S (Succion de l'eau) = |Posm - Pmem| = Force qui attire l'eau.

□□ *Isotonie* : la pression osmotique du liquide vacuolaire est donc responsable de l'entrée de l'eau dans la cellule végétale mais à chaque instant cette pression osmotique doit être diminuée de la contre pression de résistance à la déformation exercée par le cadre pecto-cellulosique, c'est la force de "Succion S », elle est obtenue par la différence entre la pression osmotique et la pression membranaire ou contre pression de résistance à la déformation exercée par la paroi.

La quantité d'eau entrant dans une cellule végétale est à chaque instant, proportionnelle aux forces de succion exercées par la cellule sur l'eau de son entourage. Cette pression de succion de l'eau est à son maximum quand le milieu est de même concentration ou de même pression osmotique que le liquide vacuolaire

□□ *Hypertonie du milieu extérieur* : quand le milieu présente une force de succion de l'eau inférieure à celle de la cellule, l'eau sort de la cellule vers l'extérieur et ceci provoque une *plasmolyse* de la cellule ; c'est ce qui se produit notamment dans les sols desséchés au-delà du point de flétrissement des végétaux.

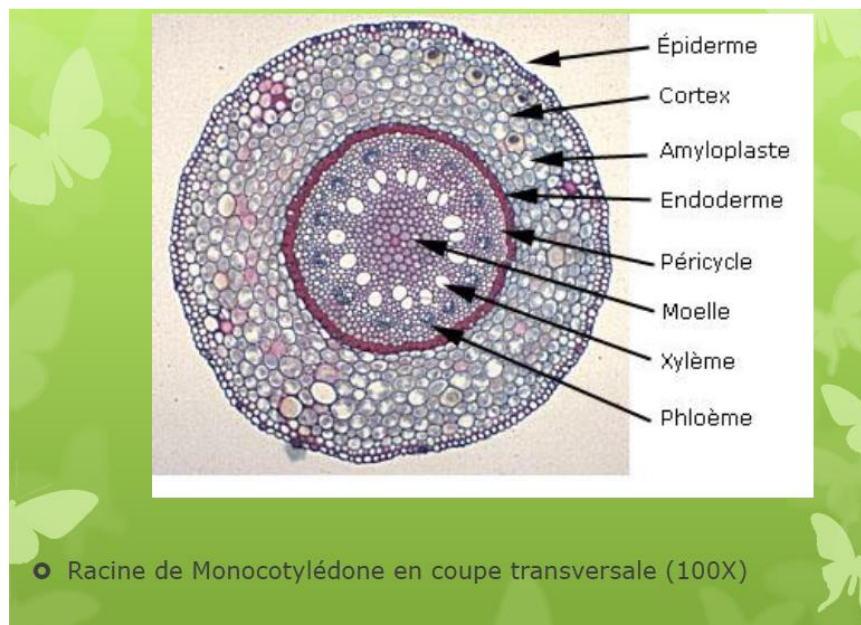
Autrement dit il doit y avoir une hypertonie de la vacuole suffisante du poil absorbant par rapport à la solution du sol, pour surmonter la résistance qu'oppose la turgescence à l'entrée de l'eau.

C'est en définitif l'hypertonie du poil absorbant qui est généralement le facteur déterminant de l'absorption et elle est largement sous le contrôle de l'activité physiologique.

Transit de l'eau dans la plante :

- Dans les racines

Le massif cellulaire qui, dans la racine, sépare le sol du système conducteur de la sève brute est composé d'un certain nombre de couches cellulaires dont la structure pariétale constitue un continuum pouvant assurer presque intégralement la conduction de l'eau. On observe, en effet, un épiderme muni de poils absorbants qui assurent le contact racine-sol, puis une zone corticale sans particularité anatomique et enfin une zone circulaire entourant l'ensemble des vaisseaux conducteurs. Cette couche monocellulaire (endoderme) présente une modification telle des parois transversales (bandes de Caspary, pour les dicotylédones) que la voie pariétale de circulation de l'eau est interrompue et qu'à ce niveau une pénétration cellulaire est indispensable. Cette pénétration obligée, dans la couche cellulaire, est à l'origine d'une résistance importante à la circulation de l'eau à travers les racines, mais a cependant une signification adaptative certaine. Elle est la base du système de contrôle de pénétration de substances diverses, contenues dans la solution qui imprègne les parois (**fig.10**).



Interruption de la voie apoplasme à l'endoderme (E)

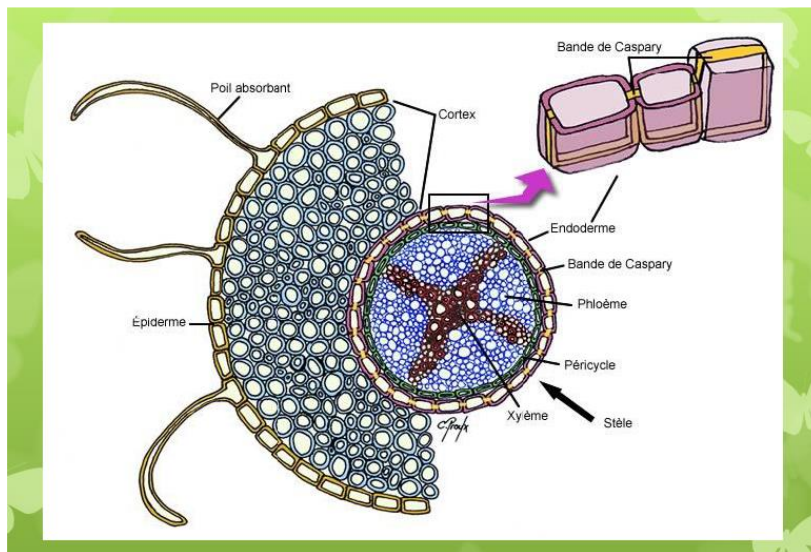
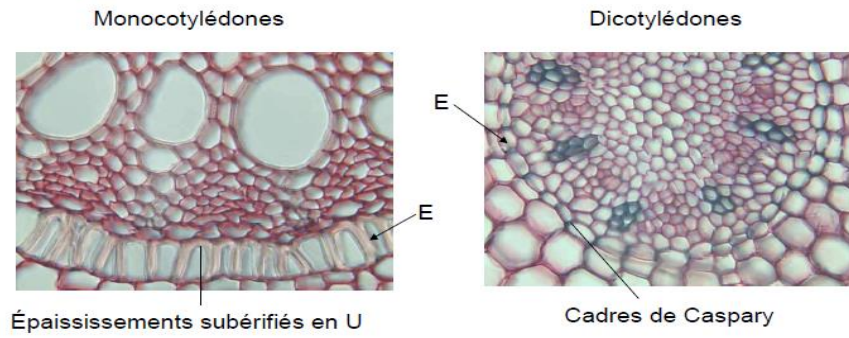


Fig.10 Racine de Dicotylédones en coupe transversale

Des mesures de pression osmotique réalisée sur une racine indiquent l'existence d'une inversion du gradient de pression osmotique au niveau de l'endoderme. Des poils absorbants à l'endoderme, l'eau circule de **manière passive** selon les lois de l'osmose ; à partir de l'endoderme, la progression nécessite une dépense d'énergie : c'est un **transport actif (Fig.11)**

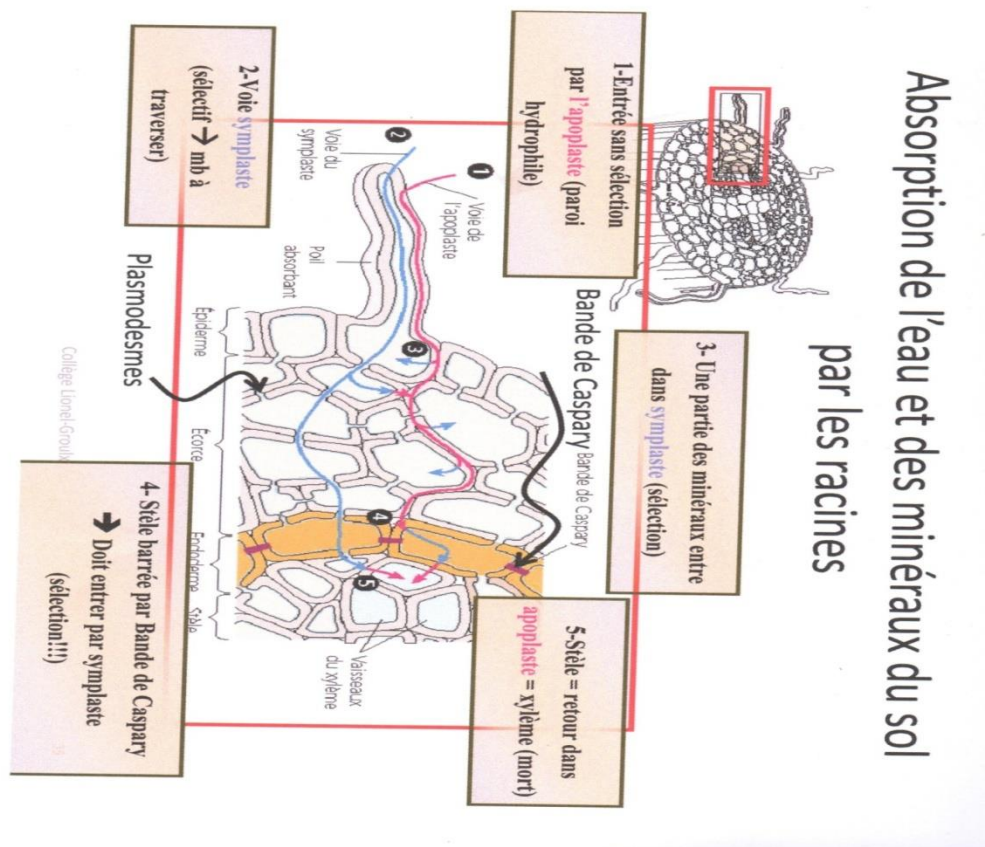
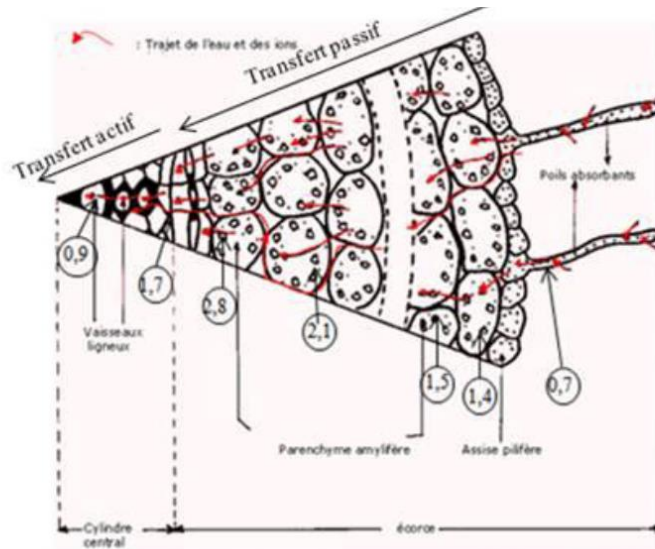


Fig.11 Trajet de l'eau à travers la racine (Transport radial de la sève brute). Schéma d'une coupe transversale de racine indiquant le transport apoplastique et symplastique des ions (d'après Gobat et al., 1998).

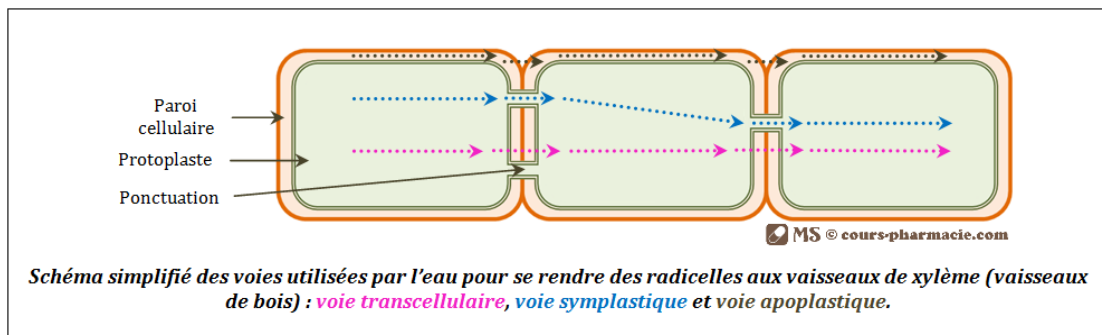
-Trajets de l'eau : L'eau entrée par les poils absorbants gagne les vaisseaux conducteurs par le cortex (écorce) et la stèle (cylindre central). Elle suit trois voies ;

***L'apoplasme** : c'est l'ensemble des parois, des lacunes et des méats des cellules, très accessible à l'eau et aux ions minéraux.

***Le symplaste** : c'est l'ensemble des cytoplastes qui sont en continuité par les systèmes de jonction tels que les plasmodesmes.

***De vacuole à vacuole** : au travers des parois et des couches cytoplasmiques ; ce transport est dit transport transcellulaire par opposition au transport transmembranaire limité à une seule membrane.

Dans le cortex, l'apoplasme qui offre très peu de résistance à l'eau est la voie principale mais, le cadre subérifié des cellules endodermiques forme un barrage que l'eau doit contourner par le symplaste. Les trois voies sont d'ailleurs en constante communication.



-Poussée radiculaire : A l'entrée des vaisseaux l'eau est émise sous pression ; c'est la poussée radiculaire ou racinaire qui dépasse souvent 1 bar

La poussée radiculaire n'existe que si la racine est vivante et aérée ; elle est inhibée par le cyanure et diminue quand la température s'abaisse et sur la racine excisée, elle disparaît si les racines sont inanitiées, ne reprenant qu'en présence de glucides. Elle présente une périodicité journalière avec maximum en fin de matinée. Elle joue certainement un rôle important dans la montée de la sève. Toute fois son existence n'est pas constante ; certaines espèces notamment les conifères ne la présentent pas. En outre, elle disparaît chez les plantes en transpiration active et, si on les décapite alors elle ne reprend que plusieurs heures après la décapitation.

Mécanismes : le mouvement de l'eau à travers la racine est dans les conditions normales, essentiellement dû à l'appel des parties aériennes (transpiration) ; mais le mécanisme de la poussée radiculaire est mal élucidé. Il s'agit indiscutablement d'un processus actif lié au métabolisme et plusieurs hypothèses tentent de l'expliquer :

- La tendance actuelle serait de considérer la poussée radiculaire pour une large part comme de nature osmotique.

- Il y aurait une sécrétion active d'ions dans les vaisseaux conducteurs par les cellules de la stèle, les ions sécrétés entraînent l'eau. Ce point de vue est en accord avec le fait que la concentration saline de la sève brute suit un rythme sensiblement analogue à celui de la poussée racinaire.

-Dans la tige :

- Caractères : la solution minérale venue du cortex et collectée dans les vaisseaux, constitue la sève brute qui est une solution très diluée de sels minéraux (0.1 à 2 g/l) avec une pression osmotique d'au moins 1 bar en plus d'acides aminés résultant de la réduction des nitrates dans les racines et enfin de parcours, elle s'appauvrit en sels

minéraux mais elle s'enrichit en substances organiques (surtout au printemps par mobilisation des réserves).

La sève brute ne circule par les vaisseaux comme le montrent des expériences très simples :

- Tremper la base d'un rameau isolé dans de la paraffine fondue, en gratter la surface pour que seuls les vaisseaux restent obturés ; le rameau mis dans l'eau se fane.
- Plonger un rameau dans une solution de carmin et faire des coupes à différentes hauteurs.
- Pratiquer une décortication annulaire sur la tige si elle va jusqu'à la moelle en sectionnant les vaisseaux, la plante se fane mais si elle la respecte, la plante reste turgescente.

La sève ne circule pas dans les vaisseaux lésés (entailles) ou obturés par des thylls (**Fig.12**). Si la lésion n'est pas trop importante, elle peut être contournée par le parenchyme du xylème.

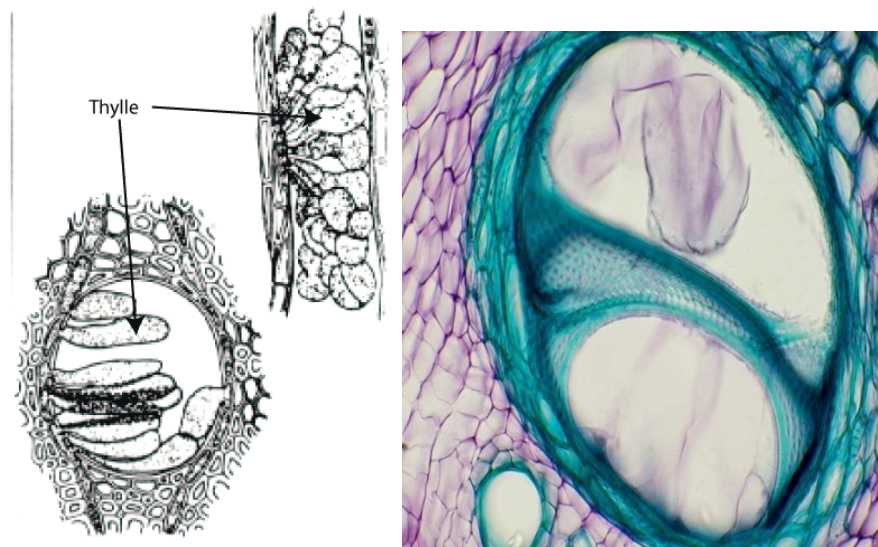


Fig.12 Thylle (Racine de Courge).

- **Mécanismes** : Plusieurs mécanismes peuvent être considérés pour expliquer la montée de la sève dans la tige

-la capillarité : la sève monte dans les vaisseaux conducteurs comme l'encre monte dans la trame d'un buvard. L'inconvénient est que ce mécanisme ne pourrait expliquer que la montée de la sève dans les végétaux très bas (mousses) ou dans des fleurs coupées (Au-delà dessus du niveau d'équilibre, les forces de tension en cause tendent plutôt à s'opposer à une montée vers les niveaux supérieurs).

-la poussée radulaire : quand elle existe, joue un rôle important lorsque la transpiration est faible en particulier la nuit ; cependant cela reste insuffisant.

-La transpiration est le plus souvent, le principal moteur de la montée de la sève. Son appel se transmet le long de la tige grâce à la cohésion des filets d'eau comme dans le modèle de Dixon, un entonnoir fermé d'une plaque de plâtre poreux est relié par un

tube vertical à une cuve à mercure, l'évaporation provoque un appel d'eau qui entraîne une élévation de la colonne de mercure de plus d'un mètre qui correspond à 15 m d'eau.

Dans les troncs d'arbres, la continuité des filets d'eau se démontre à l'aide d'iode radioactive. elle résiste à des tensions de plus de 2MPa.

- L'appel d'eau produit par la transpiration est très important mais, s'il s'exerçait seul, le gradient de pression hydrostatique entre l'atmosphère et la sève ne pourraient faire monter la sève au dessus de 10 mètres (en effet, l'atmosphère équivaut à peu près à la pression exercée par une colonne d'eau de 10 m).
- la traction de la sève (motricité) depuis les racines jusqu'au sommet d'arbres de plus de 30 mètres est facilitée par les forces de cohésion s'exerçant entre les molécules d'eau: celles -ci sont en effet des dipôles capables de s'accrocher les uns aux autres par les liaisons H⁺

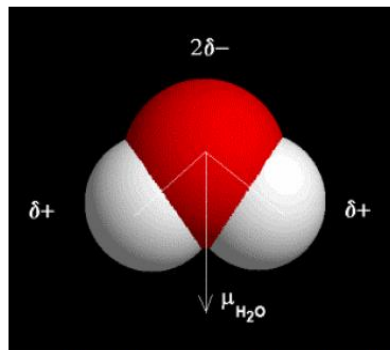


Schéma de la polarisation de la molécule d'eau

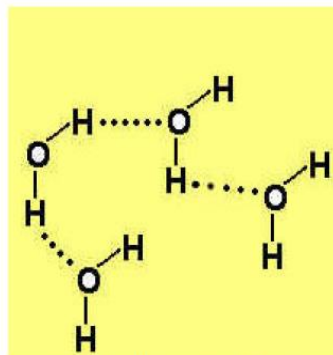


Schéma représentatif des liaisons hydrogènes entre ces molécules

Lorsque la transpiration l'emporte on dit que l'eau est sous tension ; lorsque c'est la poussée radiculaire qui l'emporte, elle est sous pression. Ainsi selon l'heure de la journée, la sève est-elle sous pression ou sous tension. On peut le vérifier avec un manomètre fiché dans le tronc (ou avec un dendrographe (dendrographie =classification des arbres par climats)). On enregistre ainsi les variations quotidiennes d'une fraction de mm ou de 1 mm pour les gros arbres avec maximum en fin de matinée (poussée radiculaire ayant agit toute la nuit) et minimum en fin d'après midi (transpiration atteint son maximum).

Cours3

Transpiration

Cours 3**Transpiration****1. Mesure de la transpiration**

C'est la quantité d'eau émise par unité de temps et par unité de masse (ou de surface) de matière respirante.

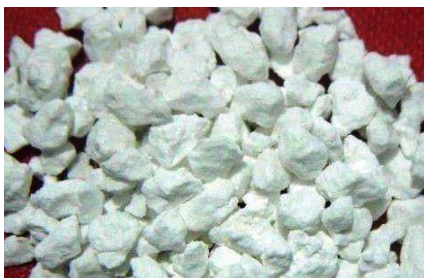
-Cette quantité peut être mesurée simplement par le poids perdu par une plante en pot non arrosée ou par un organe détaché de la plante mère (fruit, feuille...) pendant un temps donné et limite. Il faut parfois tenir compte de la perte de CO₂ par respiration.

-On peut aussi, pour connaître la transpiration, mesurer la quantité d'eau émise en l'absorbant par un corps chimique de nature hygroscopique tel que : chlorure de cobalt (CoCl₂); (P₂O₃) ou l'acide sulfurique (H₂SO₄) au fur et à mesure de son émission.

Quantité d'eau émise (g)=masse CoCl₂ (ou d'autre corps chimique hygroscopique) après absorption d'eau - masse CoCl₂ avant absorption d'eau



Sachet déshydratant chlorure de calcium composé de poudre CoCl₂



Poudre de CoCl₂

Intensité de la transpiration (g/m² /h): La transpiration est définie comme étant la quantité d'eau émise par unité de temps et unité de masse ou surface de la matière végétale transpirante.

D'autres méthodes plus modernes ont été mises au point : détermination de l'humidité de l'air et de ses variations par la mesure de son pouvoir absorbant en infrarouge.

2. Localisation de la transpiration au niveau de la plante

Elle se produit essentiellement par les feuilles mais aussi par les jeunes troncs et les pièces florales. Elle s'effectue pour une part au travers de la cuticule (pellicule lipidique qui recouvre l'épiderme) si celle-ci est suffisamment mince, mais surtout par les stomates, qui sont des structures formées de deux cellules (cellules de garde) en regard, réniformes, laissant entre elles une ouverture ; l'ostiole plus ou moins fermée selon les conditions ambiantes (jusqu'à $8\mu\text{m}$ à l'ouverture maximale). La paroi des cellules de garde est plus ou moins épaisse que celle des cellules épidermiques voisines surtout les faces qui délimitent l'ostiole ; cette particularité morphologique joue un rôle capital dans le mécanisme d'ouverture. Sous les cellules de garde se trouve une vaste lacune : la chambre sous-stomatique (**Fig.13**).

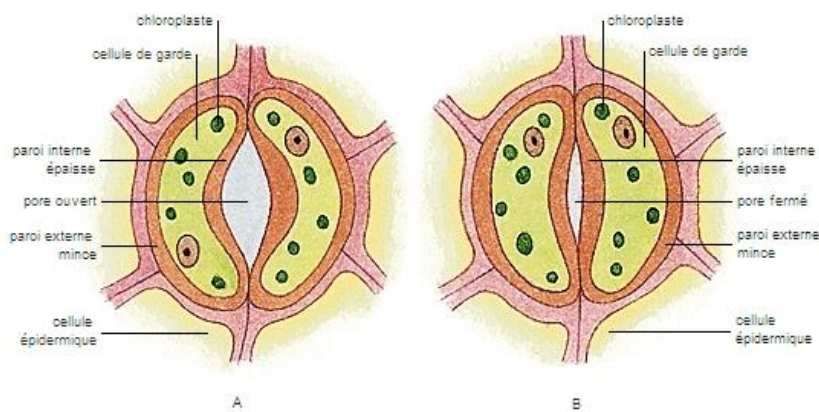


Fig.13 Stomates

* Circulation dans la feuille

Les nervures, parties terminales du système conducteur, amènent dans la feuille l'eau, qui doit traverser ensuite un massif cellulaire, non vascularisé, avant d'aboutir dans la zone d'évaporation. Ici la voie pariétale n'est interrompue par aucune structure de type endodermique. Du fait de leur composition anatomique particulière, ces trois structures de transfert offrent des résistances différentes à la circulation de l'eau, en phase liquide. La chute de potentiel hydrique nécessaire pour assurer un flux de $0,1 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ est de $2 \cdot 10^{-4}$ bar, pour un vaisseau conducteur de $1\,000 \mu\text{m}$ de longueur et de $20 \mu\text{m}$ de rayon, 30 bars pour la traversée d'une paroi ($10 \mu\text{m}$ d'épaisseur) et

$2 \cdot 10^4$ bars pour la traversée d'une membrane telle que le plasmalemme (membrane plasmique – est en interface avec le cytoplasme d'un côté et les parois de l'autre).

Il faut signaler enfin une dernière structure de transfert, l'épiderme, qui intéresse la diffusion de la vapeur d'eau évaporée dans les méats intercellulaires de la feuille. L'épiderme est constitué d'une couche de cellules dont la paroi externe, plus ou moins cutinisée, est relativement imperméable à la diffusion des gaz. Les échanges sont assurés par une population de pores, les stomates, qui perforent cet épiderme et dont le diamètre varie en réponse à un certain nombre de facteurs externes à la plante (lumière, température, humidité de l'air) et internes à celle-ci (état hydrique, teneur en CO des méats foliaires, balance hormonale etc.)

La cuticule contient des polymères : la **cutine** et la **cutane**. Elle contient aussi plusieurs types de cire. Ces matériaux sont **hydrophobes**, ce qui signifie littéralement qu'ils ont « peur de l'eau ». Les matériaux hydrophobes rendent la cuticule imperméable, et cela est très utile parce qu'ainsi l'eau ne peut pas s'évaporer de plante (**Fig.14, Mazliak, 1974; Berger, 1978; Gobat et al., 1998**).

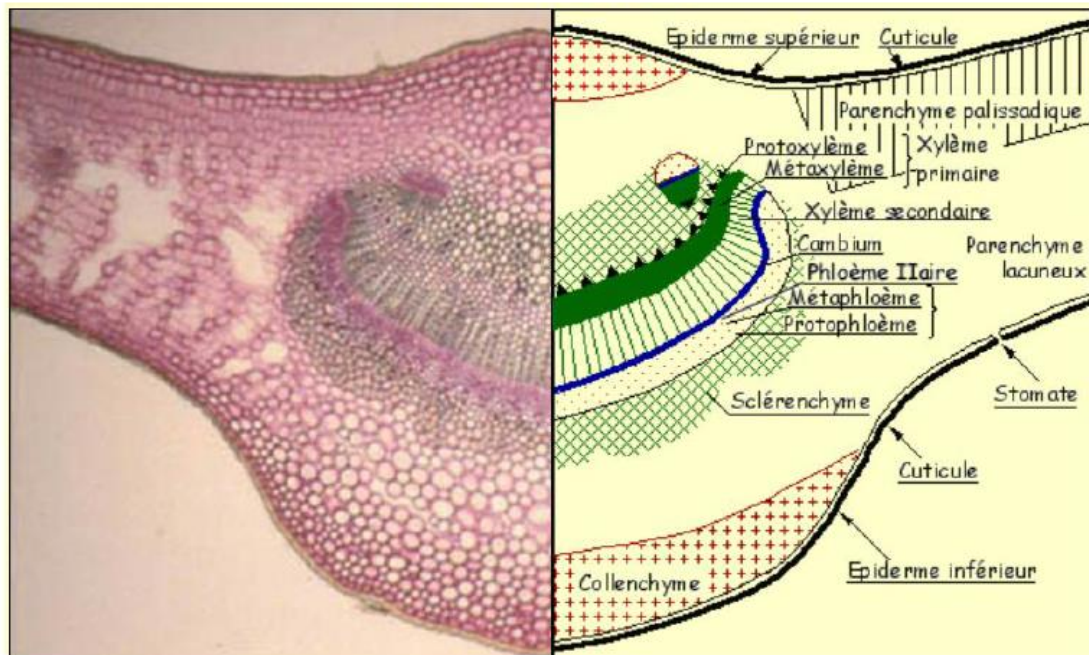
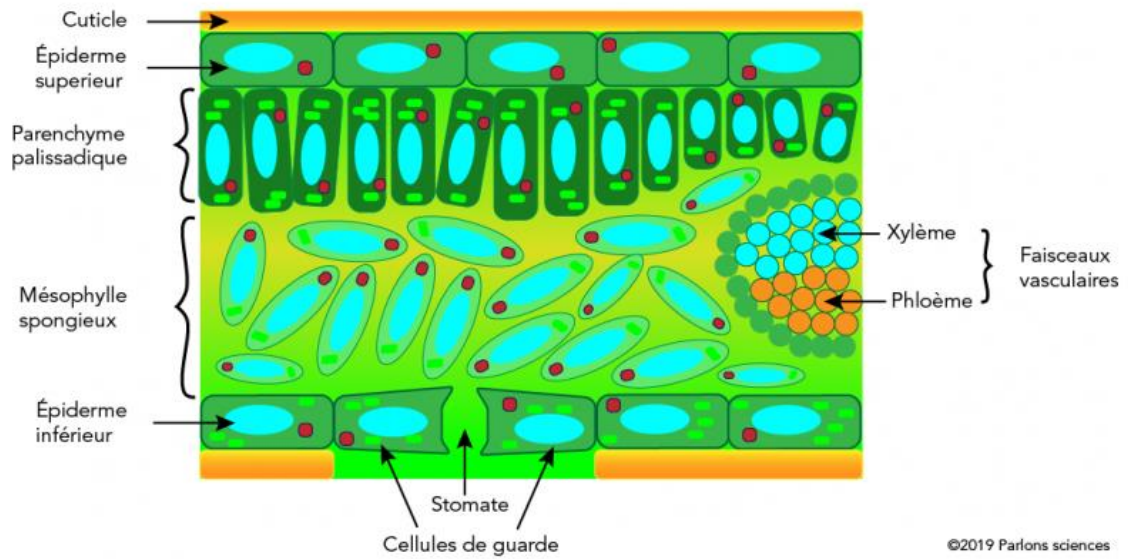


Fig.14 Coupe transversale de la nervure principale d'un limbe de Houx

Le système conducteur de la sève brute des racines vers les feuilles est constitué de cellules vides, d'un diamètre de 10 à 500 μm et de quelques centaines de μm à quelques millimètres de longueur. Cette zone offre à la circulation de l'eau une résistance relativement faible.

Chapitre III

Absorption des éléments minéraux et leurs rôles (nutrition minérale)

Cours 4

Généralités sur les nutriments minéraux

Cours4**Généralités sur les nutriments minéraux****1. Généralités sur les nutriments minéraux**

Les éléments requis pour assurer la croissance et le développement de la plante (encore appelé nutriments) sont considérés comme essentiels. Le caractère essentiel est principalement fondé sur deux critères formulés par Epstein (1972):

- a) en l'absence de l'élément, la plante est incapable de boucler son cycle de développement,
- b) l'élément fait parti d'un constituant ou d'un métabolite essentiel.

Selon d'Arnon et de Stout (1939): 3 critères sont à considérer pour pouvoir déterminer si un élément minéral est indispensable ou non à la croissance et au développement des plantes :

- Si la carence en cet élément empêche la plante de terminer son cycle biologique; c'est le cas de l'azote
- Si cet élément ne peut pas être remplacé par un élément de propriétés similaires; par ex le potassium ne peut pas être remplacé par le sodium.
- Si l'élément ne participe pas directement au métabolisme de la plante.

En général, 17 éléments sont considérés comme essentiels pour la plante. Ils sont séparés en deux catégories : les macro-éléments (au nombre de neuf) et les microéléments (encore appelé oligoéléments, au nombre de 8, **tab. 3**). Cette distinction a été établie en fonction des concentrations dans les tissus végétaux. En effet, les macroéléments sont présents à des concentrations supérieures à 10 mmoles par kilo de matière sèche (**tab. 3**). Ils sont le plus souvent impliqués dans la composition des macromolécules (ADN, ARN, protéines etc....), ce qui explique les besoins élevés des plantes.

Tab.3. Eléments essentiels aux plantes supérieures et concentrations internes considérées comme optimales pour une croissance normale (Marschner, 1988). MS : matière sèche

	Elément	Symbole chimique	Forme disponible	Concentration (mmol/kg MS)
Macro-éléments	Hydrogène	H	H ₂ O	60 000
	Carbone	C	CO ₂	40 000
	Oxygène	O	O ₂ CO ₂	30 000
	Azote	N	NO ₃ ⁻ NH ₄ ⁺	1 000
	Potassium	K	K ⁺	250
	Calcium	Ca	Ca ²⁺	125
	Magnésium	Mg	Mg ²⁺	80
	Phosphore	P	HPO ₄ ⁻ ,HPO ₄ ²⁻	60
Micro-éléments	Soufre	S	SO ₄ ²⁻	30
	Chlore	Cl	Cl ⁻	3,0
	Bore	B	BO ₃ ³⁻	2,0
	Fer	Fe	Fe ²⁺ Fe ³⁺	2,0
	Manganèse	Mn	Mn ²⁺	1,0
	Zinc	Zn	Zn ²⁺	0,3
	Cuivre	Cu	Cu ²⁺	0,1
	Nickel	Ni	Ni ²⁺	0,05
Molybdène	Mo	Mo ₄ ²⁻	0,001	

Les macro-éléments sont au nombre de 8 et ils sont absorbés sous forme d'ions :
 Catégorie des anions : azote, soufre, phosphore, chlore
 Catégorie des cations : calcium, magnésium, potassium, fer
 En plus de ces 8 macro éléments on peut considérer l'hydrogène comme faisant partie des anions car il fait l'objet d'échange dans la formation du complexe argilo humique; de même pour le sodium et le silicium qui sont utilisés par les plantes pour des raisons particulières, les plantes halophytes, leur cellule contient un taux très élevé de sodium dans leur tissu pour pouvoir absorber l'eau de mer, les graminées présentent du silicium dans leur tissu pour pouvoir supporter les épis (**fig.15**).



Epis de blé



Epis de maïs

Fig.15 Epis

On trouve des variations selon les plantes et les organes d'une plante: on trouve le soufre chez les crucifères, le potassium chez les algues, le silicium chez des graminées, les prêles et les fougères. La graine est plus riche en phosphore pauvre en potassium que la plante. Les parties âgées sont plus riches en calcium alors que les parties jeunes sont riches en potassium, phosphore et azote. Il est donc nécessaire d'entretenir la fertilité du sol en reconstituant ses réserves par des apports de matières fertilisantes adaptées. Ces apports dépendront de la richesse du sol et des besoins des plantes.



Prêle des champs : Tiges stériles



Fougère

Les oligo-éléments sont ainsi appelés car au sein du tissu végétal leur concentration est infinitésimale. Ils sont au nombre de 11, bien que Stout n'en a mentionné que 4 dans son expérience. Voici ces éléments : le manganèse Mn, le zinc Zn, le cuivre Cu, le bore B, le molybdène Mo, l'iode I, le brome Br, l'aluminium Al, le nickel Ni, le cobalt Co et le fluor Fu. D'autres éléments peuvent être détectés mais en général on les considère comme contaminant, c'est le cas du lithium Li et du chrome Cr (Cailliau, 2005 ; Jana, 2009 ; Cheniti-Abed, 2016, ¹).

1.1 Rôle des éléments minéraux

LE RÔLE DES MICRO-ÉLÉMENTS ESSENTIELS	
molybdène et cobalt	aident à la fixation de l'azote
cuivre et zinc	activent plusieurs réactions cellulaires
manganèse	participe à la photosynthèse
bore	est nécessaire à la division cellulaire
fer	est nécessaire à la fabrication de la chlorophylle
chlore	intervient dans l'ouverture et la fermeture des stomates
nickel	contribue à la viabilité des graines

Le **gaz carbonique** de l'atmosphère pénètre dans la plante au niveau des feuilles.

L'**eau** du sol est absorbée par les racines.

LE RÔLE DES MACRO-ÉLÉMENTS ESSENTIELS	
soufre	composant des protéines
magnésium	composant de la chlorophylle
calcium	composant de la paroi cellulaire
phosphore	composant de molécules de transport d'énergie
potassium	intervient dans l'ouverture et la fermeture des stomates
azote	composant, entre autres, des protéines

Les **sels minéraux** puisés par les racines sont issus de la dégradation des roches du sol.

Le phosphore intervient dans la photosynthèse, la gestion de l'énergie métabolique (ATP) et entre dans la constitution d'enzymes ainsi que de nombreuses molécules. Il stimule la croissance et le développement des racines et des fruits. Cet élément minéral est en importante quantité pendant la floraison et dans les graines.

Le potassium a un rôle très important dans le contrôle de la pression osmotique, la régulation stomatique, l'économie de l'eau, ainsi que dans les résistances au stress hydrique, au gel et aux maladies. Le potassium est impliqué dans le métabolisme des glucides.

Généralement Les ions permettent le maintien de la turgescence, du pH (système tampon), la création de potentiels membranaire qui agissent sur la perméabilité de la membrane.

Les rôles constitutifs sont tenus par :

*Les éléments phosphorylés, comme les phospholipides, les nucléotides, et les acides nucléiques. On trouve le soufre dans les acides aminés et dans les protéines.

*On trouve le calcium dans les parois où ils forment avec les peptides, des pectates (sel ou ester of a acide pectique ou acide polygalacturonique, est un acide gélatineux transparent insoluble dans l'eau présent dans les fruits trop mûrs et certains légumes); dans la vacuole il est sous forme de cristaux d'oxalate de calcium; dans le cytoplasme il est associé à la calmoduline (CaM, abréviation pour calcium-modulated protein), est une calcioprotéine ubiquitaire, capable de s'associer aux ions calcium présents dans le milieu cellulaire. La liaison avec l'ion calcium induit un changement de conformation de la protéine et forme un complexe calcium-calmoduline (Ca^{2+} -CaM). Ce complexe permet l'activation, par changement de conformation, de nombreuses protéines). Le calcium se trouve dans les chloroplastes (en formant les plastocyanines) et dans les mitochondries où ils forment les cytochromes oxydases. En générale, cet élément se trouve le plus souvent dans les lieux de stockage des produits toxiques (en général se sont les vacuoles).

Les phosphates favorisent l'entrée du magnésium, alors que le calcium freine son entrée (Cailliau, 2005; Jana, 2009 ; Cheniti-Abed, 2016, ¹).

1.3 L'origine des minéraux

Dans le sol, les ions sont en solution, ils varient selon la nature et le pH du sol. Ils sont, soit à l'état fixé dans le complexe argilo-humique (dans des solutions colloïdales), dans le complexe anionique. Si c'est une fixation par un cation, et si celui-ci est divalent, il fixera l'anion au sol. Si le sol a beaucoup de complexes argilo-humiques, il sera riche. La majorité des ions sont transformés par la plante pour pouvoir être utilisés. On a par exemple, les sulfates réduits au niveau des chloroplastes. Ces ions seront souvent à faibles concentrations. On trouve aussi dans la plante, des ions à concentrations élevées. On observe, chez une plante, une sélectivité pour l'absorption des ions et pour le maintien de la concentration de ces ions.

2. Mécanismes généraux

Absorption des nutriments

Les nutriments du sol doivent être acheminés en solution, du sol jusqu'au xylème pour ensuite être distribués à l'ensemble des tissus végétaux. Pour parvenir jusqu'aux vaisseaux conducteurs localisés dans la stèle, ils progressent transversalement et de façon centripète dans la racine.

Au niveau du parenchyme xylémien de la stèle (les nutriments sont chargés dans le xylème), des transporteurs vont permettre d'accumuler les nutriments dans les vaisseaux conducteurs à l'encontre de leur gradient de concentration (même au niveau d'endoderme).

En raison de l'importance de l'azote, du soufre, potassium, sodium, phosphore et du fer, dans ce polycopié, les modes d'acquisition de ces éléments par les plantes vont maintenant être décrits en détail (Cailliau, 2005; Jana, 2009 ; Cheniti-Abed, 2016, 1).

3. Phytoremédiation

La phytoremédiation est une technique de dépollution des sols, d'épuration des eaux et éventuellement d'assainissement de l'air utilisant les plantes (ex :

Lierre (*Hedera helix*) : formaldéhyde, benzène, trichloréthylène, monoxyde de carbone ; Palmier-dattier (*Phoenix roebelenii*) : xylène et toluènes ; *Ficus elastica* (figuier à caoutchouc) ou *Yucca*

permet d'éliminer l'ammoniac et le benzène ; L'azalée de l'Inde

absorbe efficacement le formaldéhyde, l'ammoniac et le xylène ; la Phalangère

Elle absorbe non seulement une bonne quantité de formaldéhyde mais aussi le monoxyde de carbone, le toluène, le benzène et le xylène contenu dans les cartouches d'encre, les cigarettes, les détergents et les solvants).

On parle de phyto-extraction quand on utilise de plantes qui absorbent et concentrent dans leurs parties récoltables (feuilles, tiges) les polluants contenus dans le sol comme les éléments métalliques (Éléments trace métallique ou ETM : arsenic, cadmium, chrome, cobalt, cuivre, zinc, etc.) et des radionucléides : césium, strontium, uranium, etc. Certaines plantes accumulatrices et / ou hyperaccumulatrices, généralement à forte croissance et évapotranspiration élevée, sont capables de tolérer et d'accumuler de grandes quantités de ces éléments métalliques (plus de 1 mg/g de matière sèche) qu'elles immobilisent ainsi. Après culture, les plantes sont récoltées et incinérées ; les cendres sont stockées ou valorisées pour récupérer les métaux accumulés ('*phytomining*'). Ces plantes sont utilisées pour décontaminer les sols des friches industrielles et des milieux miniers (mines de nickel en Nouvelle Calédonie, par exemple).

Ces techniques de bio-remédiation d'un coût relativement faible permettent de maintenir l'activité biologique et la structure des sols traités, d'améliorer le paysage par l'introduction d'un couvert végétal et de récupérer les métaux rares.

L'inconvénient est que ces techniques, généralement longues (plusieurs années pour décontaminer un sol pollué) ne peuvent traiter que la couche de sol accessible aux racines. Des recherches sont actuellement en cours pour sélectionner des plantes hyperaccumulatrices de métaux lourds, très performantes, robustes et facilement récoltables (Morot-Gaudry, 2013).

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

Cours 5

Nutrition azotée

Cours5**Nutrition azotée****1. Nutrition azotée**

L'azote constitue un des éléments majeurs pour la croissance des végétaux, sa carence ayant un très fort impact sur la réduction de croissance. Il est le quatrième élément le plus abondant dans un végétal et le principal facteur limitant sa croissance, notamment en raison de sa présence dans de très nombreuses macromolécules essentielles à la vie cellulaire : Il entre dans la constitution des protéines, des acides aminés, de la chlorophylle ainsi que de l'ADN et certaines hormones.

L'azote est le quatrième élément le plus abondant de la planète. Contrairement à ce qui se passe pour les autres minéraux, l'érosion des roches mères ne relargue que de très faibles quantités de cet élément. En effet, l'azote représente moins de 0,1% des éléments de la croûte terrestre. En revanche, il est le principal constituant de l'atmosphère terrestre dont il représente 78% du volume (sous forme de diazote N₂). Les océans et la matière organique du sol sont respectivement les deuxième et troisième réservoirs en azote de la planète. Seules les cyanobactéries (ou cyanophycées, ou encore algues bleues (leurs anciens noms), sont des bactéries photosynthétiques, c'est-à-dire qu'elles tirent parti, comme les plantes, de l'énergie solaire pour synthétiser leurs molécules organiques) et les bactéries symbiotiques du genre *Rhizobium* (sont des bactéries aérobies du sol appartenant à la famille des Rhizobiaceae. qui peuvent créer des symbioses avec les fabacées (ou légumineuses= Plantes dont le fruit est une gousse) afin de leur apporter de l'azote, en échange les plantes apportent des substrats carbonés aux bactéries) peuvent utiliser le diazote de l'air. Les nitrates (NO₃⁻) et les ions ammonium (NH₄⁺) sont les principales sources d'azote inorganique assimilé par les plantes. Dans les régions tempérées (une partie de la surface terrestre où les températures ne sont pas extrêmes, c'est-à-dire ni torrides, ni glaciales, correspondant aux climats océanique, méditerranéen et subtropical humide), les sols peuvent présenter des teneurs en azote de l'ordre du gramme par kilo de terre au niveau des horizons superficiels. Cependant, cet élément est essentiellement sous forme organique (principalement sous forme d'humus). L'azote minéral (ammonium, nitrate et nitrite (NO₂)) qui représente moins de 2% de l'azote total présent dans le sol est issu et donc dépendant de la dégradation de la matière organique (humification et minéralisation de l'humus). En conséquence, les concentrations en nitrate sont extrêmement variables (de 10 µM dans les terrains les plus pauvres à 100 mM dans les plus riches).

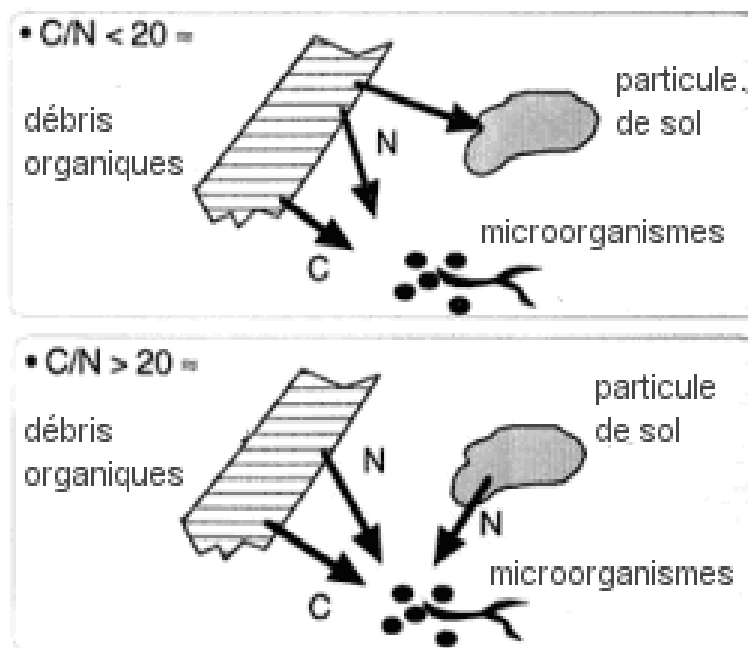
Les besoins en azote des plantes varient en fonction de l'espèce et du stade de développement. La concentration en azote nécessaire pour une croissance optimale varie entre 2% et 5% de la biomasse sèche (**Cailliau, 2005 ; Jana, 2009 ; Cheniti-Abed, 2016, ¹**).

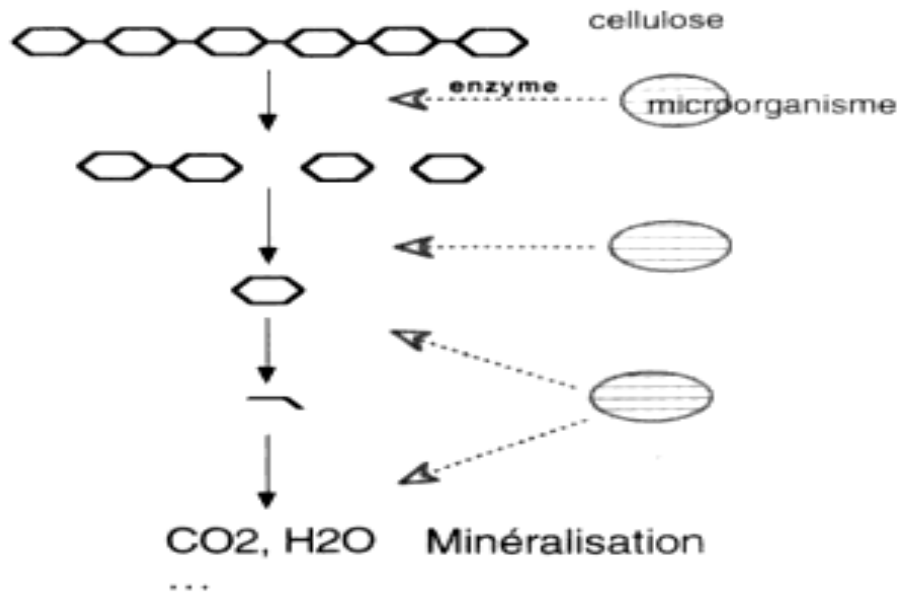
La vitesse de dégradation dépend de la nature des matières organiques enfouies, mais également de la disponibilité en azote. Les microorganismes ont en effet besoin

d'azote pour dégrader le carbone : lorsque les résidus à décomposer présentent un rapport C/N (rapport entre la quantité de carbone total et la quantité d'azote total) faible, les microorganismes ne prélèvent pas d'azote dans le milieu. Par contre, lorsqu'une quantité importante de résidus à C/N élevé est enfouie, ils prélèvent de l'azote dans le sol pour leur propre métabolisme, pouvant, dans certaines conditions, devenir concurrents du peuplement végétal cultivé pour l'azote (« faim d'azote »).

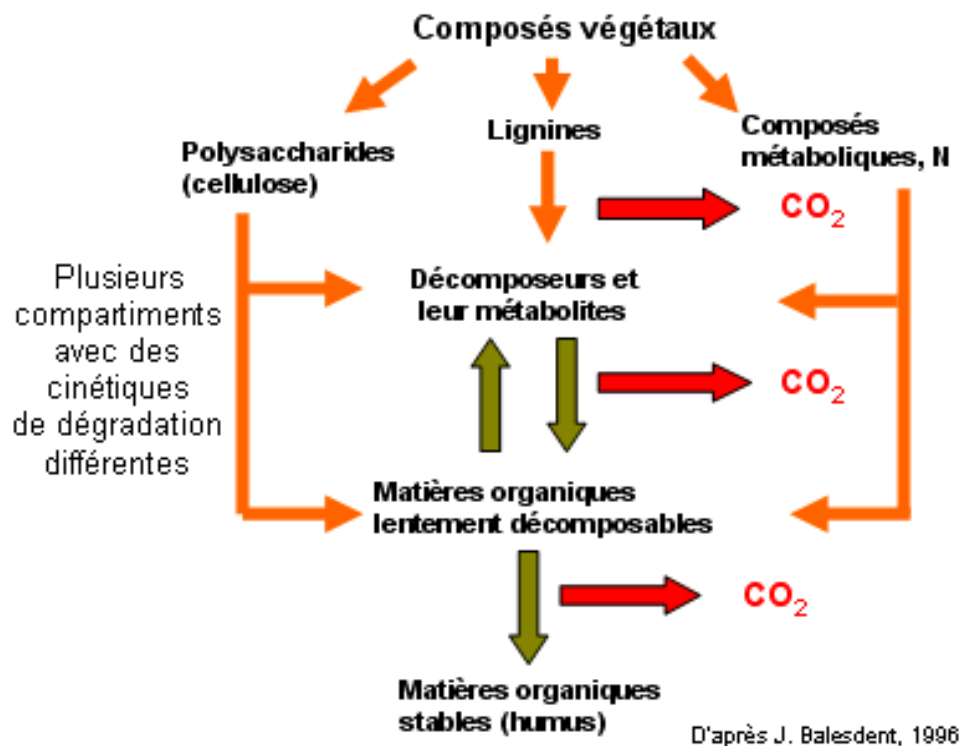
Le rapport C/N (rapport massique carbone sur azote): Indicateur permet de juger également du degré d'évolution de la matière organique dans le sol, c'est-à-dire de son aptitude à se décomposer plus ou moins rapidement dans le sol).

La décomposition de la matière organique est le fruit d'une série de réactions chimiques qui aboutit à la transformation des composés organiques complexes en composés minéraux simples. La minéralisation de la matière organique est un processus fondamental car il aboutit à sa transformation en éléments simples, les seuls qui soient assimilables par les plantes.





Les microorganismes du sol tirent leur énergie et leur matière de la dégradation des composés organiques. C'est une série de réactions chimiques qui aboutit à la transformation des composés organiques en composés minéraux simples.



1.1 Rôle de l'azote

Chez le végétal L'azote est le quatrième élément le plus abondant dans un végétal (Tableau I) et le principal facteur limitant sa croissance, notamment en raison de sa

présence dans de très nombreuses macromolécules essentielles à la vie cellulaire, telles que les acides nucléiques, les acides aminés, les protéines, la chlorophylle et certaines hormones (**Harper, 1994 in Jana, 2009**). Les besoins en azote des plantes varient en fonction de l'espèce et du stade de développement. La concentration en azote nécessaire pour une croissance optimale varie entre 2% et 5% de la biomasse sèche (**Marschner, 1988 in Jana, 2009**).

1.2 Effet d'une carence en azote dans la plante

Une faible diminution de la biodisponibilité de l'azote dans le milieu entraîne une modification de la répartition de la biomasse entre les parties aérienne et racinaire de la plante : le carbone est préférentiellement alloué aux racines (**Hirose et al., 1984 in Jana, 2009**). Ceci entraîne une forte diminution du rapport entre la matière sèche totale et racinaire (**Brouwer, 1962 in Jana, 2009**). En effet, la plante favorise la croissance du compartiment impliqué dans l'acquisition de l'élément déficient (**Gastal et Lemaire, 2002 in Jana, 2009**). De ce fait, la déficience en azote s'associe souvent à une diminution de la taille des feuilles et des ramifications (**William et Pearce 1984 in Jana, 2009**). Afin d'assurer sa croissance, une plante en carence azotée peut recycler une partie de l'azote qu'elle contient, dans ses feuilles sénescentes (qui se caractérise par leur jaunissement puis leur chute en automne) et dans certains tissus matures, afin d'assurer le développement des tissus jeunes. Cette remobilisation entraîne une diminution de la teneur en azote dans tout le végétal en raison d'une dilution de cet élément. Si la carence persiste, les pools d'azote des feuilles matures (acides aminés et protéines, tout particulièrement la Rubisco : ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase, est l'enzyme-clé de la photosynthèse, permettant la fixation du dioxyde de carbone CO₂ dans la biomasse végétale en initiant le cycle de Calvin)) vont être affectés et les synthèses protéiques diminuent (**Lawlor, 2002 in Jana, 2009**). Ces phénomènes ont pour conséquence de diminuer la capacité photosynthétique car cette dernière est corrélée à la concentration en azote dans les limbes (**Evans 1983, Field et Monney, 1986 in Jana, 2009**). La sensibilité à la contrainte photooxydante (oxydation par le rayonnement lumineux : dégradation de composés de masse) augmente également. Les feuilles prennent une teinte violacée, symptomatique de l'accumulation d'anthocyanes (hétérosides, pigments naturels des feuilles, **Cobbina et Miller 1987; Nielsen et al., 1998 in Jana, 2009**). L'équipe de Sakamoto (**Sakamoto et al., 1994 in Jana, 2009**) a montré que l'addition d'azote dans un milieu contenant des cellules en suspension permettait de réduire cette accumulation. Du fait du rôle essentiel de l'azote dans les processus anaboliques des végétaux, ceux-ci ont dû développer des stratégies pour limiter les carences en cet élément. La présence de transporteurs à basse et haute affinité ainsi qu'une grande plasticité du système racinaire sont autant de moyens que la plante a à sa disposition pour optimiser son absorption de l'azote minéral.

Cours 6

Nutrition soufrée

Cours6**Nutrition soufrée****1. Nutrition soufrée**

Les plantes absorbent le soufre du substrat sous forme d'ions sulfate (SO_4^{2-}).

Le soufre se classe quantitativement juste après les trois éléments majeurs que sont l'azote, phosphore et le potassium

L'attention s'est portée sur le soufre car les carences en cet élément sont assez fréquemment constatées dans les sols ferrugineux des pays tropicaux, en début de la mise en culture. D'autre part, l'utilisation des engrais concentrés d'urée et de phosphate d'ammoniaque peut entraîner l'aggravation des déficiences en cet élément.

1.1 Rôle du soufre

Le sulfate est soluble et risque d'être éliminé par la lixiviation.

Le métabolisme des plantes transforme le sulfate et le dioxyde de soufre pour la construction des molécules organiques.

Le soufre est une partie vitale de toutes les protéines végétales et de certaines hormones végétales.

Il est aussi utilisé dans la formation de certaines huiles et composés volatils chez l'oignon et l'ail.

Le soufre est nécessaire à la plante à la synthèse d'acides aminés comme la cystéine et la méthionine ; 70 % du soufre se trouve dans les chloroplastes. Le soufre est présent dans certaines vitamines comme la thiamine (ou vitamine B1 ; coenzyme essentielle à certaines décarboxylases) et la biotine (Vitamine B8 ou H. La vitamine B8 ou biotine participe au métabolisme des protéines, des lipides et des glucides). En plus, c'est un élément de transfert d'énergie, par exemple l'adénosine phosphosulfate APS. Les plantes ne demandent qu'une vingtaine de kilogramme d'engrais sulfaté par hectare, mais les crucifères (Le chou-fleur, navet) peuvent consommer jusqu'à une centaine de kilogramme par hectare.

1.2 Effet d'une carence en soufre dans la plante

Généralement, les symptômes d'une carence en soufre sont comparables à ceux d'une déficience en azote.

- Ils se traduisent par un jaunissement des feuilles ;
- Un raccourcissement des entrenœuds ;
- Et un moindre développement du système racinaire ;
- Les légumineuses forment difficilement leurs nodosités.

Les carences en soufre sont assez fréquemment constatées dans les sols ferrugineux (qui contiennent du fer (le plus souvent à l'état d'oxyde)) des pays tropicaux, en début de la mise en culture. D'autre part, l'utilisation des engrais concentrés d'urée et de phosphate d'ammoniaque peut entraîner l'aggravation des déficiences en cet élément.

Cours 7

Assimilation de l'azote et du soufre

Cours7**Assimilation de l'azote et du soufre****1. Mécanismes d'absorption de l'azote**

Les plantes prélèvent l'azote du sol principalement sous la forme de nitrate (NO_3^-) et plus rarement sous forme d'ammonium (NH_4^+). Les espèces appartenant à la famille des légumineuses peuvent également utiliser l'azote atmosphérique (N_2) par l'intermédiaire des bactéries symbiotiques de type *Rhizobium* (**Trinchant et al. 1997 in Jana, 2009**).

L'ammonium absorbé par les racines est aussitôt incorporé dans des composés organiques du fait de sa toxicité pour les cellules lorsqu'il est à l'état libre. En revanche, le nitrate est stocké dans les vacuoles des cellules racinaires et des organes de stockage et dans les parties aériennes. L'absorption du nitrate et de l'ammonium est effectuée par des transporteurs localisés sur la membrane plasmique des cellules épidermales, corticales et endodermes des racines. Des études physiologiques ont montré qu'il existait trois systèmes de transport actif pour les ions nitrates :

a - Un système à haute affinité constitutif (cHATS pour « constitutive High Affinity Transport System ») qui permet d'absorber le nitrate lorsque celui-ci est présent en faible concentration dans la rhizosphère (entre $1\mu\text{M}$ et 1mM , **Behl et al., 1988 in Jana, 2009**)

b- Un système à haute affinité inductible (iHATS pour « inductible High Affinity Transport System ») qui est mis en place pour des concentrations en azote identiques à celles citées précédemment (**Aslam et al., 1992 in Jana, 2009**)

c- Un système à basse affinité (LATS pour « Low Affinity Transport System ») qui se met en place pour des concentrations supérieures à 1mM (**Glass et al., 1992 in Jana, 2009**) et dont l'activité est proportionnelle à la concentration en nitrate dans la solution du sol.

Ces systèmes de transport actif sont codés par deux familles de gènes : Nrt1 (Nitrate Root Transporter 1) et Nrt2 (Nitrate Root Transporter 2, **Crawford et Glass, 1998 in Jana, 2009**).

Le séquençage de l'ensemble du génome d'*Arabidopsis* (*génomme relativement petit* : 157 millions de paires de base réparties sur cinq paires de chromosomes) a permis d'identifier 52 membres de la famille Nrt1 et 7 membres de la famille Nrt2.

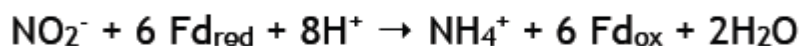
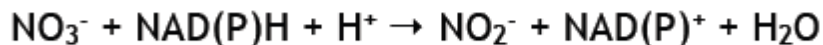
Les protéines de type NRT1 appartiennent à la famille des transporteurs de peptides (PTR pour Peptide Transporter) et celles de types NRT2 à la famille des Nitrates-Nitrites Transporteurs (NNP pour Nitrate-Nitrite **Porter, Forde, 2000 in Jana, 2009**). Jusqu'en 1999, les chercheurs (**Forde et Clarkson, 1999 in Jana, 2009**) pensaient que les transporteurs de type NRT1 et de type NRT2 étaient respectivement impliqués dans les systèmes de transport à basse affinité (LATS) et les systèmes de transport à haute affinité (HATS). Des études plus récentes ont invalidé cette hypothèse en

montrant que le transporteur AtNRT1.1 pouvait également fonctionner comme un transporteur de haute affinité lorsqu'il était phosphorylé (Liu et al., 1999 ; Liu et Tsay, 2003 in Jana, 2009). Les transporteurs de type NRT1 (famille des PTR) • AtNrt1.1 fut le premier gène identifié, au début des années 70 (OostindierBraaksma, 1973 in Jana, 2009), lors de recherches de mutants résistants aux chlorates, qui est un analogue toxique du nitrate. Il s'est avéré que l'un d'eux, le mutant *chl1* (déficient pour le gène *Chl1*), présentait également une défaillance dans l'absorption des nitrates. Des analyses complémentaires sur un mutant d'*Arabidopsis thaliana* n'exprimant pas le gène *Nrt1.1* ont montré que la plante ne répondait pas à l'apport localisé de nitrate contrairement au sauvage (Remans et al., 2006 in Jana, 2009). Les auteurs ont alors proposé que ce gène, exprimé de façon constitutive dans les racines et plus particulièrement dans les poils absorbants et l'épiderme (Huang et al., 1999 in Jana, 2009), puisse agir comme un détecteur des nitrates ou alors faciliter l'accès de cet élément au senseur qui serait localisé dans le cortex racinaire. Une seconde expérience avec ce même mutant a montré que l'absence d'expression de *Nrt1.1* induisait une altération de la régulation du gène *Nrt2.1* (Munos et al., 2004 in Jana, 2009). Les gènes *AtPtr2A* et *AtPtr2B* appartiennent également à la famille des PTR. Ce sont des transporteurs d'oligopeptides. En revanche, ils ne présentent qu'une faible identité avec *Nrt1.1* : 25 et 39% respectivement (Song et al., 1996 in Jana, 2009). Les transporteurs de type NRT2 (famille des NNP). Ces gènes sont essentiellement exprimés dans les tissus racinaires. Le premier gène identifié comme codant un transporteur de nitrate appartenant à la famille des NNP est le gène CrNrt2.1. Il a été identifié chez l'algue *Chlamydomonas reinhardtii* par complémentation d'un mutant (Quesada et al., 1994 in Jana, 2009). Une souche mutante du champignon *Aspergillus nidulans*, la souche *crna*, a été identifiée pour sa résistance au chlorate. En parallèle, cette souche présente une défaillance dans l'absorption des nitrates à certaines étapes de son développement. La comparaison des séquences en acides aminés déduites du gène CrNrt2.1 et du gène muté de la souche *crna* a mis en évidence des régions hautement conservées. Celles-ci ont été utilisées pour la conception d'oligonucléotides dégénérés qui ont permis d'isoler la plupart des gènes Nrt2 chez l'orge, le tabac, le soja et la tomate (Orsel et al., 2002 in Jana, 2009). Chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*, le premier gène Nrt2 a été identifié par la technique d'expression différentielle entre deux modes de nutrition : glutamine et nitrate (Filleur et DanielVedele, 1999 in Jana, 2009). Les nitrates absorbés par les transporteurs de type NRT2 peuvent être stockés dans les vacuoles des cellules des racines ou des organes aériens ou encore être réduits (Crawford et Glass, 1998 in Jana, 2009). La réduction des nitrates fait intervenir deux enzymes clés : la nitrate réductase (NR) et la nitrite réductase (NiR). Elles catalysent respectivement la réduction du nitrate en nitrite et celle du nitrite en ammonium. Les ions NH_4^+ sont incorporés en glutamine par la glutamine synthase (GS) puis en glutamate par la glutamate synthase (GOGAT). Le glutamate est le précurseur de tous les acides aminés exceptée la proline. De nombreuses études rapportent une importante plasticité du système racinaire en fonction des concentrations en azote dans le sol. Chez *Arabidopsis thaliana*, un apport d'azote déclenche quatre effets principaux :

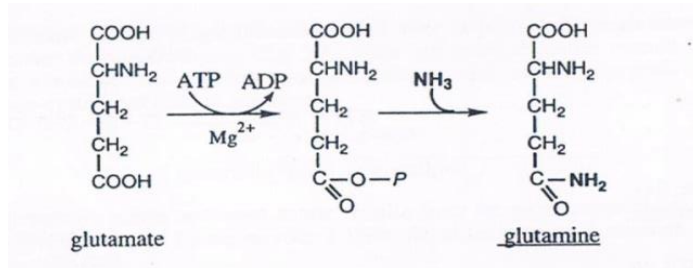
- **Zhang et Forde (1998 in Jana, 2009)** ont noté que la présence d'une zone riche en nitrate stimulait l'élongation des racines latérales à ce niveau.
- L'équipe de Remans (**Remans et al., 2006 in Jana, 2009**) a observé un effet inhibiteur systémique de la croissance racinaire lorsque la plante présente des concentrations en azote élevées dans l'ensemble de ses tissus.
- De même, un rapport C : N élevé dans les tissus aériens supprime l'initiation des racines latérales (**Malamy et Ryan, 2001 in Jana, 2009**).
- Enfin, un apport externe de L-Glutamate entraîne une inhibition de l'élongation de la racine primaire et stimule la prolifération des racines latérales (**Watch Liu et al., 2006 in Jana, 2009**).

Les gènes NRT1 (plus de 50 gènes apparentés à NRT1) codent principalement des transporteurs fonctionnant à des concentrations en NO₃⁻ supérieures à 1 mM. Les gènes NRT2 (sept gènes NRT2 chez *A. thaliana*) codent des transporteurs fonctionnant pour des concentrations en NO₃⁻ inférieures à environ 500 μM (**Orsel et al., 2002 in Jana, 2009**).

Le nitrate est réduit ensuite en nitrite NO₂⁻ par la nitrate réductase (NR) et le nitrite formé est réduit à son tour en ammonium NH₄⁺ par la nitrite réductase (NiR), selon les réactions suivantes (**Meyer et Stitt, 2001**), le NAD(P)H et la ferrédoxine réduite Fd_{red} (protéine à base de soufre et de fer impliquée dans les mécanismes d'oxydo-réduction) étant les molécules réductrices :

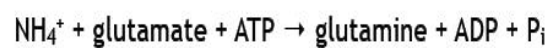
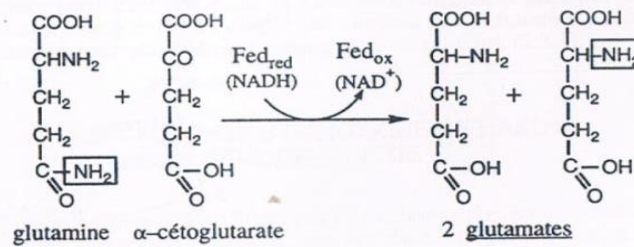


L'intégration de l'ion ammonium à une molécule carbonée fait intervenir deux enzymes, la glutamine synthétase (GS) et la glutamate synthase (GOGAT pour glutamate oxoglutarate amino transférase, **Hirel et Lea, 2001**). Ces enzymes interviennent séquentiellement pour catalyser les deux réactions suivantes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



(Guignard, 1996)

• La **glutamate synthase** (ou GOGAT pour Glutamine Oxo¹ Glutarate AminoTransferase) transfère le NH₂ du groupe amide de la glutamine sur l'α-cétoglutarate pour former deux molécules de glutamate :



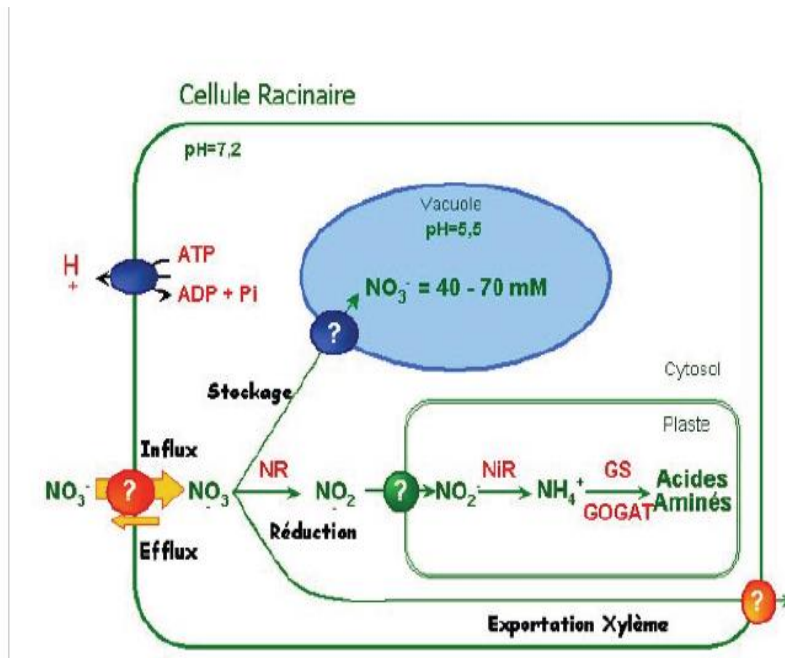


Fig. 16 Voie s'assimilation de l'azote au niveau racinaire. NR : nitrate réductase ; NiR : nitrite réductase ; GS : glutamine synthétase ; GOGAT : glutamate synthase (Morot-Gaudry et al., 2007).

La figure 16 résume les réactions en jeu. La glutamine synthétase (GS), en présence d'ion ammonium et d'ATP, convertit une molécule de glutamate (contenant un groupement amine NH_2) en glutamine (Gln), molécule qui contient deux atomes d'azote N, impliqués dans une fonction amine et une fonction amide. La glutamine sert alors de donneur de groupement $-\text{NH}_2$ à la réaction d'amination réductrice de l' α -cétooglutarate catalysée par la glutamate synthase (GOGAT), qui nécessite pour son fonctionnement de la ferrédoxine réduite Fdred (dans le cas des feuilles) ou du NADPH (dans les racines). Deux molécules de glutamate sont ainsi formées, l'une est utilisée comme substrat de la glutamine synthétase (GS) pour la formation à nouveau de glutamine, l'autre est source d'azote pour les réactions de transamination et la synthèse nette de composés azotés, acides aminés notamment (Morot-Gaudry et al., 2001).

Les premières tentatives d'amélioration de l'efficacité d'absorption du nitrate par les racines ont reposé sur la surexpression de gènes par transgénèse, en ciblant tout d'abord ceux codant les transporteurs de NO_3^- et les enzymes impliquées dans sa réduction. Cette stratégie s'est malheureusement révélée décevante dans son ensemble (Krouk et Gojon, 2012). Étonnamment, les résultats les plus intéressants ont été obtenus pour des enzymes plus en aval dans la voie d'assimilation du nitrate, la glutamine synthétase (Martin et al., 2006), la glutamate synthase NADPH dépendante et l'alanine aminotransférase (Good et al., 2007). La surexpression de gènes responsables de la synthèse d'acides aminés comme l'alanine et la glutamine rend ainsi possible la sélection de plantes qui assimileraient plus efficacement l'azote du sol en le stockant sous forme de molécules organiques azotées utilisées ultérieurement par les plantes pour survenir à leur développement.

De très nombreuses études ont montré que l'inhibition du développement des racines latérales pour une concentration élevée en nitrate était influencée par des bactéries du sol. En effet, l'effet inhibiteur peut être levé en inoculant certaines rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (Plant Growth Promoting Rhizobacterium, PGPR) comme la souche STM196 de *Phyllobacterium*.

En plus de levée l'inhibition de croissance racinaire, l'ajout de cette rhizobactérie altère également l'expression de plusieurs transporteurs d'azote : l'expression des transporteurs AtNrt1.1 et AtNrt2.1 décroît huit jours après l'inoculation de la souche bactérienne et les transporteurs AtNrt2.5 et AtNrt2.6. La plasticité du système racinaire est également un facteur clé pour l'absorption de l'azote mais également pour le phosphate et le fer dont les mécanismes d'absorption sont détaillés dans les prochains paragraphes.

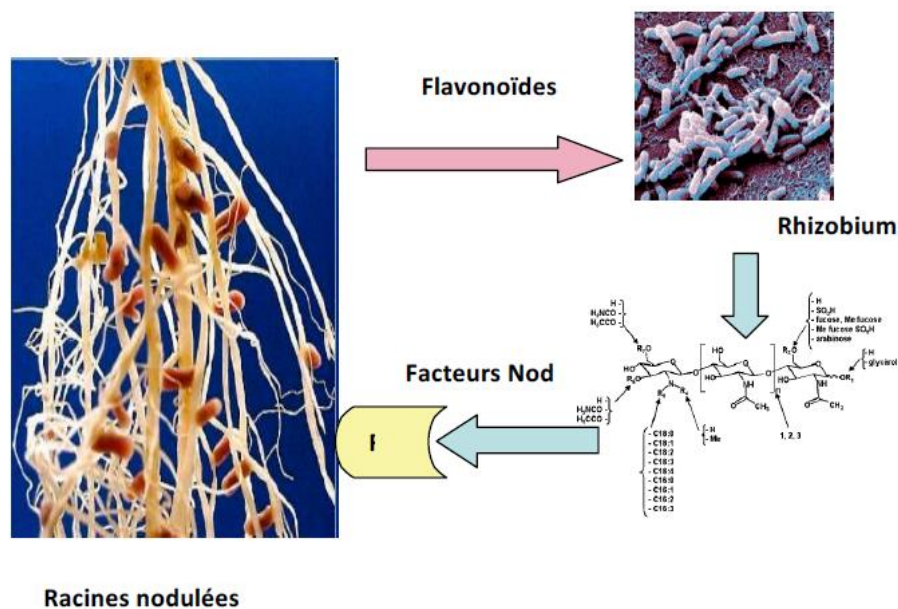


Fig.17 Modalités de fixation symbiotique de l'azote moléculaire N_2 par les bactéries du genre *Rhizobium*. I représente le récepteur des facteurs Nod sur les racines de la plante hôte.

Le dialogue moléculaire entre une plante de la famille des Légumineuses ou Fabacées (haricot, luzerne, pois, etc.) et les bactéries symbiotiques implique des échanges de signaux métaboliques (flavonoïdes, facteurs Nod, etc., **fig.17**).

Une fois les contraintes physiques et les transports d'hormones comme l'auxine permet de rendre compte des différents modes de ramification racinaire rencontrés dans la nature et de la longueur des poils absorbants qui augmentent, l'un et l'autre, considérablement les capacités d'absorption du chevelu racinaire (**Bishopp et al., 2011**). A titre d'exemple, citons les travaux de **Krouk et al. (2010)**, à l'INRA de Montpellier, qui ont montré que le transporteur de nitrate NRT1 était également impliqué dans le mécanisme de perception du nitrate par la racine et favorisait ainsi la colonisation racinaire dans les zones riches en cet ion. Il est observé que NRT1

transporterait non seulement le nitrate mais également l'auxine. Ils suggèrent que lorsque le milieu est pauvre en nitrate, NRT1 oriente les flux d'auxine des racines latérales vers la racine principale ; ce qui a pour conséquence d'arrêter la croissance des racines latérales. En revanche, en milieu riche en nitrate, NRT1 bloque la circulation de l'auxine qui s'accumule dans les racines latérales, favorisant leur croissance. Ainsi, ils obtiennent un début d'explication au développement des racines latérales en relation avec la teneur en nitrate du milieu.

Des chercheurs de l'Inra Versailles-Grignon et de l'ENS-Paris ont mis en évidence le rôle majeur d'un facteur de transcription (**Fig.18**), le facteur NLP7, dans la réponse précoce des plantes au nitrate *via* un mécanisme de rétention nucléaire. En fonction de la quantité de nitrate disponible, le facteur de transcription NLP7 n'est pas toujours localisé dans le même compartiment de la cellule végétale (noyau, cytoplasme), ce qui influe sur son activité. Lorsque le nitrate est suffisamment disponible pour la plante, NLP7 est présent dans le noyau des cellules mais il est exporté dans le cytoplasme lorsque le nitrate fait défaut. Ceci a d'autant plus d'importance que NLP7 se lie à plus de 800 gènes dont un grand nombre sont impliqués dans la voie de signalisation et d'assimilation du nitrate. Plus précisément, les chercheurs ont montré que la rétention de NLP7 dans le noyau survient très tôt, en l'espace de quelques minutes après apport de nitrate, ce qui suggère un rôle de régulation très rapide en amont dans la réponse des plantes aux nitrates. NLP7 peut ainsi entraîner la mise en place d'un programme d'expression génique permettant à la plante de transformer le nitrate en azote organique (acides aminés, etc.), nécessaire à la synthèse des protéines ou des acides nucléiques, mais aussi d'activer la croissance et le développement de nouveaux organes (**Morot-Gaudry, 2013**).

A.thaliana :



*Paralogie : En biologie de l'évolution, c'est un lien évolutif entre deux gènes issus d'un événement de duplication. Pour que deux gènes soient considérés comme *paralogues*, ils doivent être d'abord homologues, c'est-à-dire qu'ils descendent d'un même gène ancestral ; à la suite d'une duplication, les deux copies du gène divergent jusqu'à devenir deux gènes paralogues, dans une même espèce, ou dans deux espèces différentes (si la duplication est suivie par une spéciation : nouvelles espèces vivantes se forment à partir d'ancêtres communs). Si au contraire les gènes ont divergé après un phénomène de spéciation, ils sont dits orthologues.

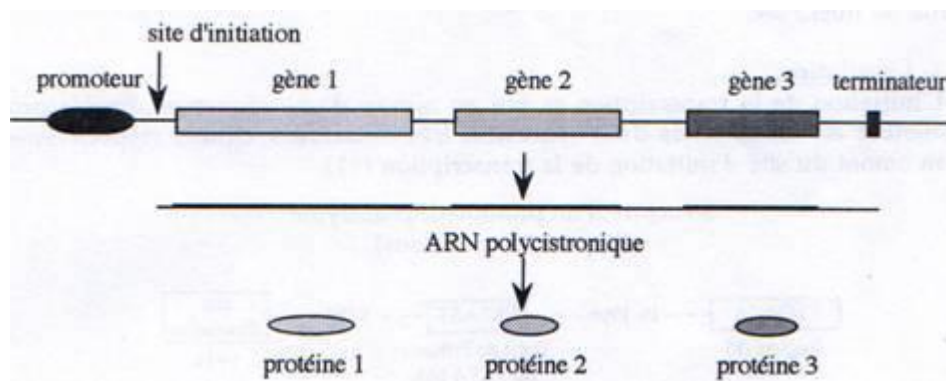
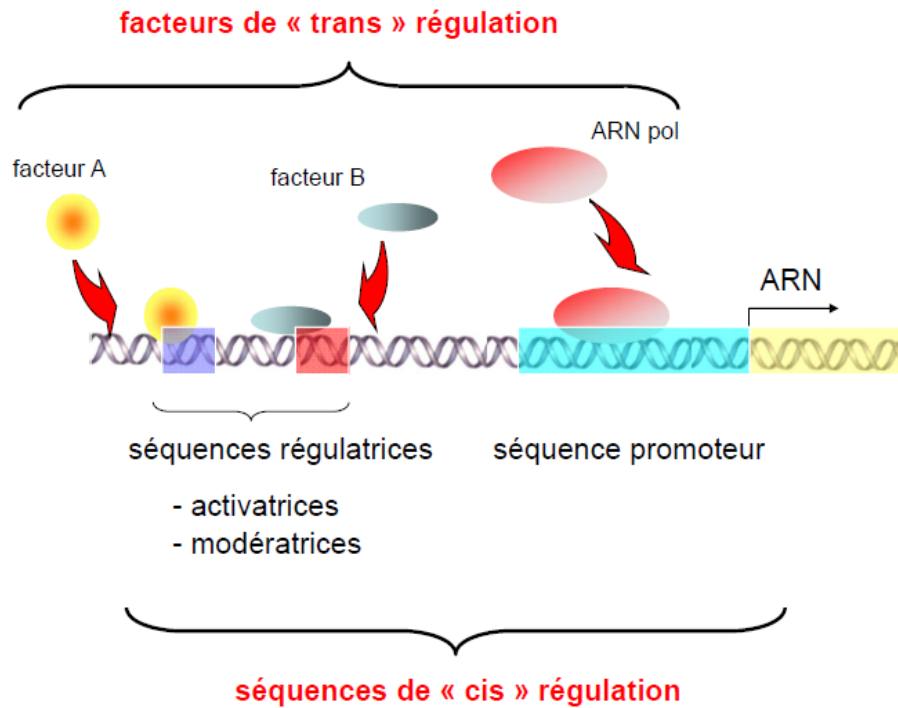


Fig.18 Régulation transcriptionnelle. Un facteur de transcription (FT) est une séquence qui contrôle le flux (la vitesse) de la transcription d'un gène. Les FT régulent la transcription seul ou sous forme de complexe avec d'autres protéines : ils activent ou inhibent le recrutement de l'ARN polymérase sur des gènes spécifiques. Du point de vue structural, les FT possèdent un ou plusieurs domaine(s) de fixation à l'ADN qui se fixent à une séquence spécifique régulatrice de l'ADN [amplificateur ("*enhancer*") ou promoteur ("*promoter*")] adjacente aux gènes que les FT régulent. Les FT régulent la transcription *via* différents mécanismes : la stabilisation ou l'empêchement de la fixation de l'ARN polymérase sur l'ADN. Les FT agissent en *trans* et en *cis* : Eléments agissant en "*cis*" (action d'une molécule sur elle-même) : séquences consensus de l'ADN (séquences de ADN), située en amont des sites d'initiation de la transcription. Eléments agissant en "*trans*" (action d'une molécule sur une autre) : ce sont les protéines ; les facteurs de transcription (protéines) qui se fixent sur ces séquences d'ADN (éléments agissant en "*cis*")

2. Cycle de l'azote (Fig.19)

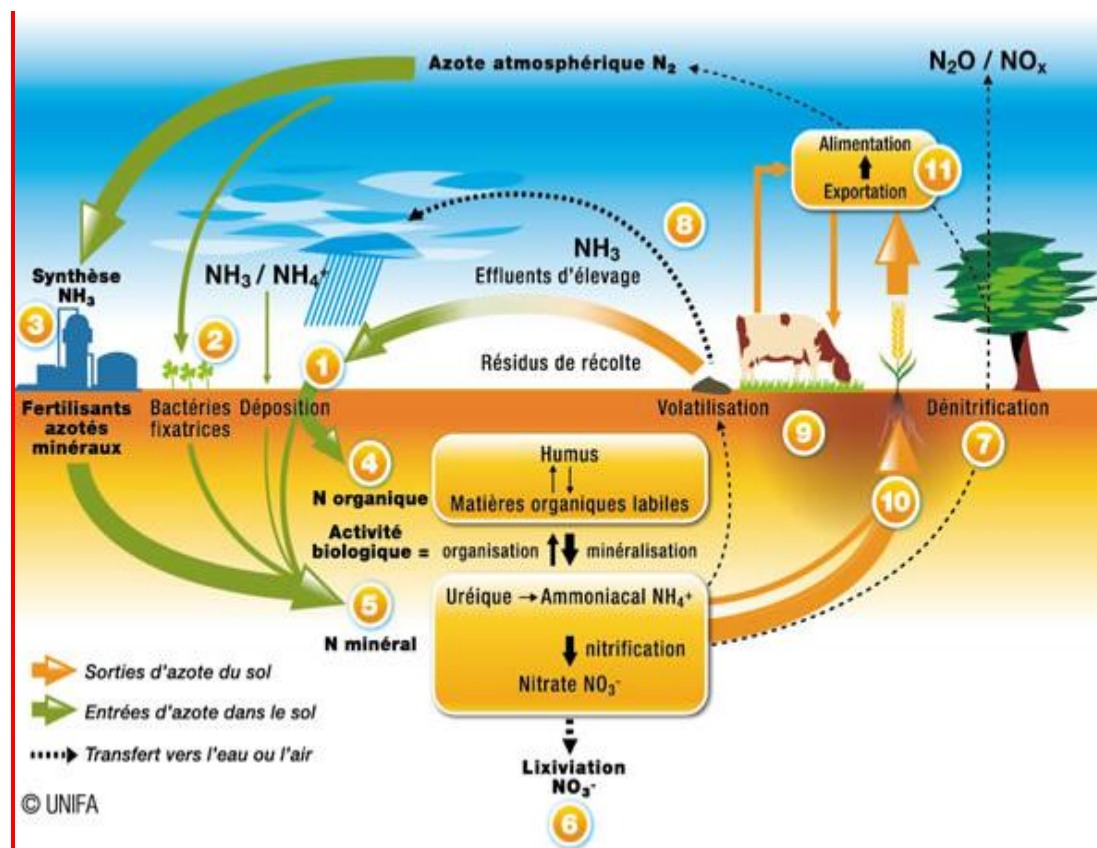


Fig.19 Cycle de l'azote

1. Le recyclage d'éléments nutritifs contenus dans les matières organiques de toute nature : effluents d'élevage, résidus de culture et autres sous-produits organiques issus des activités humaines, constitue une ressource importante pour la fertilisation.
2. Seuls des organismes appartenant au groupe des procaryotes peuvent réduire l'azote en une forme recombinaée assimilable. Les rhizobias appartiennent à ce groupe. Les systèmes fixateurs les plus efficaces sont des symbioses, qui réalisent un couplage entre la fixation de l'azote et la photosynthèse. La symbiose rhizobium-légumineuse **Définition:** Famille de plantes dicotylédones dont le fruit est une gousse (pois, haricots, luzerne, trèfle, soja...).... est la plus importante. La quantité d'azote fixé par cette symbiose est très significative. Au niveau mondial, la culture du soja et de l'ensemble des légumineuses entraîne la fixation d'une quantité d'azote équivalente à 25% de l'azote des engrais.
3. La synthèse de l'ammoniac utilise le gaz naturel et l'eau pour produire du dihydrogène (H_2) et le combiner au diazote (N_2) présent dans l'atmosphère pour former l'ammoniac (NH_3), matière première des grands engrais azotés. L'engrais azoté peut contenir de l'azote sous forme uréique, ammoniacale, nitrique ou un mélange de ces formes. Il est proposé sous forme liquide (solution azotée) ou granulée (urée).

4. L'organisation microbienne transforme l'azote minéral en matière organique. L'activité des bactéries du sol est principalement stimulée par l'ammonium. L'azote organique n'est pas directement assimilable par les plantes ; il doit d'abord être minéralisé. La minéralisation **Définition:** Transformation de la matière organique qui conduit à la formation de sels minéraux où les éléments fertilisants deviennent solubles et accessibles aux plantes.... de la matière organique du sol (et des effluents) produit de l'ammonium.
5. La nitrification par les bactéries du sol transforme l'ammonium en nitrate dans un délai pouvant aller de quelques jours à quelques semaines. Des pertes sous formes de protoxyde d'azote ou d'oxyde d'azote peuvent survenir durant ce processus.
6. La lixiviation **Définition:** Processus au cours duquel l'eau de ruissellement passe au travers des pores du sol (percolation) en entraînant par dissolution certains sels, ions ou substances solubles.... du nitrate (le terme de lessivage est impropre) est un entraînement en profondeur par l'eau du sol. Cela se produit principalement en hiver lorsque l'excès d'eau fait migrer le nitrate hors de portée des racines. Une fertilisation ajustée contribue à prévenir le risque de lixiviation pendant la période d'interculture.
7. La dénitrification a lieu lorsque les micro-organismes manquent d'oxygène (stagnation de l'eau et compactage du sol). Lors de ce processus, les bactéries du sol transforment le nitrate (et les nitrites) en diazote gazeux (N_2) et plus marginalement en protoxyde d'azote (N_2O) et oxydes d'azote (NO_x) qui rejoignent l'atmosphère.
8. L'hydrolyse de l'urée par les enzymes du sol convertit l'urée en ammonium et en CO_2 . En fonction de la température, l'hydrolyse est plus ou moins rapide (d'une journée à une semaine). Le pH **Définition:** Notation qui rend compte de la concentration en ions H^+ du milieu et désigne ainsi le caractère très acide (pH 4 à 5,5), acide (5,5 à 6,8), neutre (6,8 à 7,2) ou alcalin (supérieur à 7,2) d'un sol... du sol autour des granulés d'urée augmente de manière significative durant le processus, favorisant ainsi la volatilisation **Définition:** Perte d'azote, à partir du sol ou d'une matière fertilisante, par dégagement direct dans l'atmosphère de N_2 , d'oxyde d'azote ou d'ammoniac.... de l'ammoniac produit au cours de la réaction. Un niveau de pH du sol élevé favorise cette transformation. Si cela se produit à la surface du sol, les pertes sont plus importantes. Ces deux conditions sont remplies lorsque l'urée est épandue en plein mais n'est pas immédiatement
9. L'assimilation de l'ammonium par les racines est plus lente que celle du nitrate. L'ammonium de charge positive (NH_4^+) est adsorbé sur la capacité d'échange cationique (CEC) du sol, et les racines doivent l'atteindre. La majeure partie de l'ammonium est transformée en nitrate avant absorption par les plantes.
10. L'assimilation du nitrate est rapide en raison de sa forte mobilité en solution dans l'eau du sol. La majorité des cultures annuelles utilisent préférentiellement le nitrate à l'ammonium.

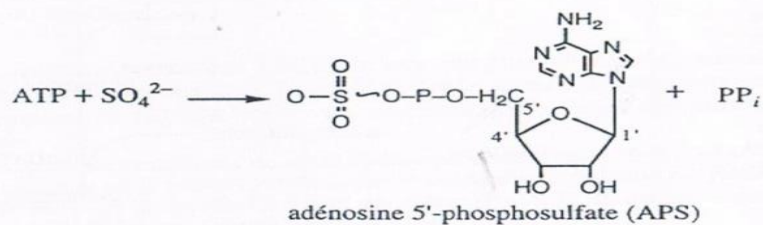
11. La récolte est transformée en nourriture (humaine ou animale), ce qui est l'objectif fondamental de l'agriculture.

3. Fixation des sulfates et synthèse de la cystéine

Le soufre entre dans des molécules clés du métabolisme primaire comme l'acétylcoenzyme A et l'ACP; la fonction carboxyle n'est réactive que préalablement activée par l'acétyl-COA (**Fig.38, Guignard, 1996**).

L'ion sulfate, puisé dans le sol (1.1) et présent dans la sève brute, se fixe, grâce à une *ATP sulfurylase* sur l'ATP avec formation d'APS (Adénosine 5'-PhosphoSulfate).

Cela revient à remplacer un groupement phosphoryle de l'ADP par un groupement *sulfuryle*¹ de structure homologue :



L'équilibre de la réaction est défavorable à la formation d'APS ($\Delta G = -11$ kcal) et celui-ci doit être immédiatement métabolisé pour déplacer l'équilibre de la réaction vers la droite.

Cette métabolisation est réalisée :

– soit par **formation de PAPS** ou 3'-phosphoadénosine 5'-phosphosulfate grâce à une *APS kinase* ; une seconde molécule d'ATP assure la *phosphorylation du ribose en 3'*.

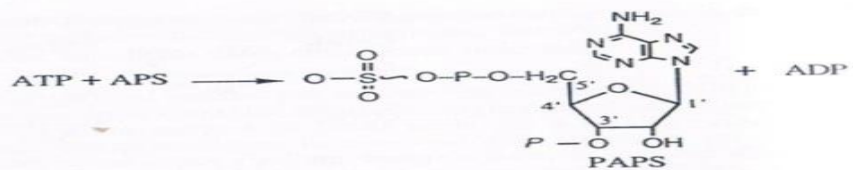
Cette phosphorylation exergonique, jointe à l'hydrolyse du pyrophosphate assure la formation de PAPS à partir des sulfates.

Il se forme du « sulfate actif » (la liaison thioéther libère par hydrolyse 8 kcal/mol) capable de transférer un reste *sulfuryle* – SO_3^- sur un substrat : formation des sulfolipides (fig. 1.5) de la membrane des thylacoïdes par exemple.

1. Les ions sulfate SO_4^{2-} et sulfite SO_3^{2-} ont le même niveau énergétique puisque l'on passe de l'un à l'autre sans perte d'électron :



Incorporation du soufre dans la cystéine. 1, APS sulfotransférase; 2.thiosulfonate réductase;3.cystéinesynthase



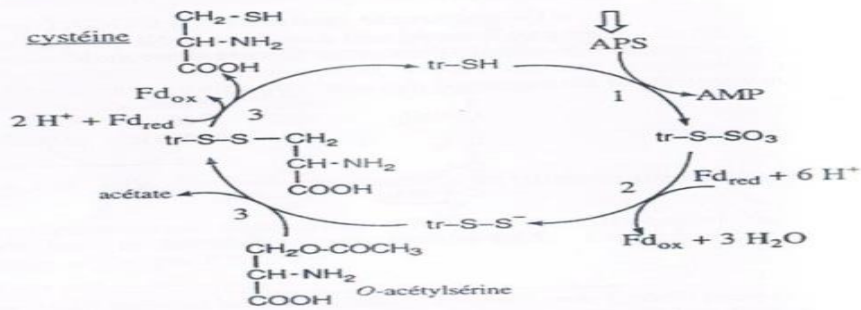
– soit (fig. 4.2) par **réduction en S₂** du groupe sulfuryle *préalablement transféré sur le groupe thiol* d'un transporteur, tr (vraisemblablement le glutathion).

Cette réduction est assurée chez les plantes vertes par la ferrédoxine (en présence d'une *APS sulfotransférase*).

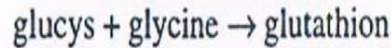
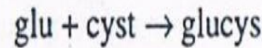
Le soufre réduit en sulfure S⁻ est fixé, grâce à une *cystéine synthase*, sur l'hydroxyle de la sérine, laquelle a été préalablement activée par l'acétyl-CoA :



La sérine provient elle-même de la transamination de l'hydroxypyruvate ou de la condensation de deux glycines lors des processus de la photorespiration (voir ci-dessus).

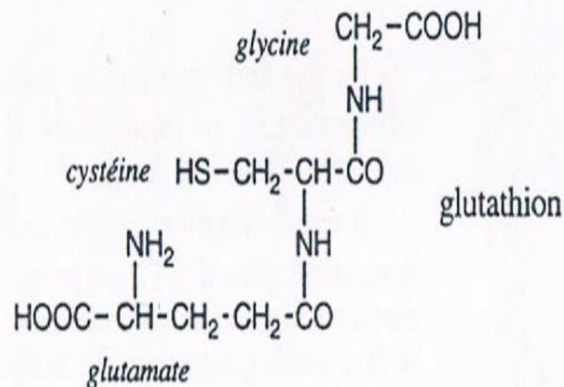


La **cystéine** formée réagit immédiatement avec la phosphohomosérine pour donner de la **méthionine** (fig. 5.5), autre aminoacide sulfuré entrant dans la synthèse des protéines, ou est transformée en un *tripeptide* glutamate-cystéine-sérine, le **glutathion** :



Le glutathion existe soit sous forme réduite avec un groupement thiol libre (GSH) soit sous forme oxydée à l'état de dimère grâce à un pont disulfure (GS-SG).

Le glutathion constitue un mode de *stockage* du soufre.



Il intervient dans la *détoxication du peroxyde d'hydrogène* formé lors de la **photooxydation**.

Le glutathion intervient également lors de **stress** (par le froid, la chaleur, la sécheresse...) ; avec les métaux lourds, comme le cadmium, il forme des polymères de γ -glutamyl cystéine, les *phytochélatines*.

Cours 8

Nutrition en potassium et sodium

Cours8**Nutrition en potassium et sodium****Transport du potassium et du sodium**

Le potassium K^+ est, avec l'azote et le phosphore, l'un des trois macro-nutriments des plantes. K^+ est un cation abondant, très mobile, dissous dans le milieu intracellulaire, notamment dans la vacuole où il s'accumule à des concentrations jusqu'à cent fois supérieures à celle du milieu. Il joue un rôle majeur dans l'équilibre acido-basique cellulaire, la neutralisation électrostatique des charges anioniques (accompagnateur de l'anion nitrate NO_3^-), la polarisation électrique des membranes, le potentiel osmotique et la turgescence cellulaire.

Chez les plantes, le potassium est impliqué dans l'élongation cellulaire, la croissance, les tropismes et les mouvements des cellules de garde qui régulent la perte d'eau par transpiration.

Le prélèvement de K^+ à partir du sol, sa distribution dans la plante et sa compartimentation, impliquent de nombreux systèmes de transport membranaire. Les approches de génomique moléculaire ont montré qu'au moins 35 gènes, appartenant à cinq familles différentes, codent des systèmes de transport membranaire de K^+ chez *A. thaliana*.

L'analyse du génome de cette plante modèle a révélé en particulier que neuf gènes codent des canaux de type Shaker, types de canaux très sélectifs de K^+ , communs aux plantes et aux animaux (gènes impliqués dans le transport synaptique). Les analyses phylogénétiques indiquent que cette famille est très conservée chez les plantes, à la fois en terme de structure et de propriétés fonctionnelles. L'utilisation de lignées mutantes d'*A. thaliana* invalidées dans l'expression des gènes de canaux Shaker a permis de préciser la fonction de ces différents canaux. Les canaux Shaker sont impliqués par exemple dans le prélèvement de K^+ à partir du sol (canal AKT1), dans son chargement dans la sève xylémienne (canal SKOR), la circulation de K^+ par le phloème et dans les mouvements stomatiques (canal AKT2, **Fig.20, Very et al., 2003**). Les chercheurs australiens (**Munns et al., 2012**) ont isolé, dans une variété ancienne de blé, un gène impliqué dans le transport spécifique du sodium (uniport), le gène racinaire *TmHKT1;5-A*, qui, introduit par des techniques classiques de génétique dans une lignée commerciale moderne de blé, entrave le chargement en sodium dans le xylème et son transport vers les feuilles, réduisant ainsi l'accumulation de Na^+ dans celles-ci, ce qui permet d'améliorer de 25% le rendement de cette variété comparée aux variétés classiques cultivées sur des sols salés (**Morot-Gaudry, 2013**).

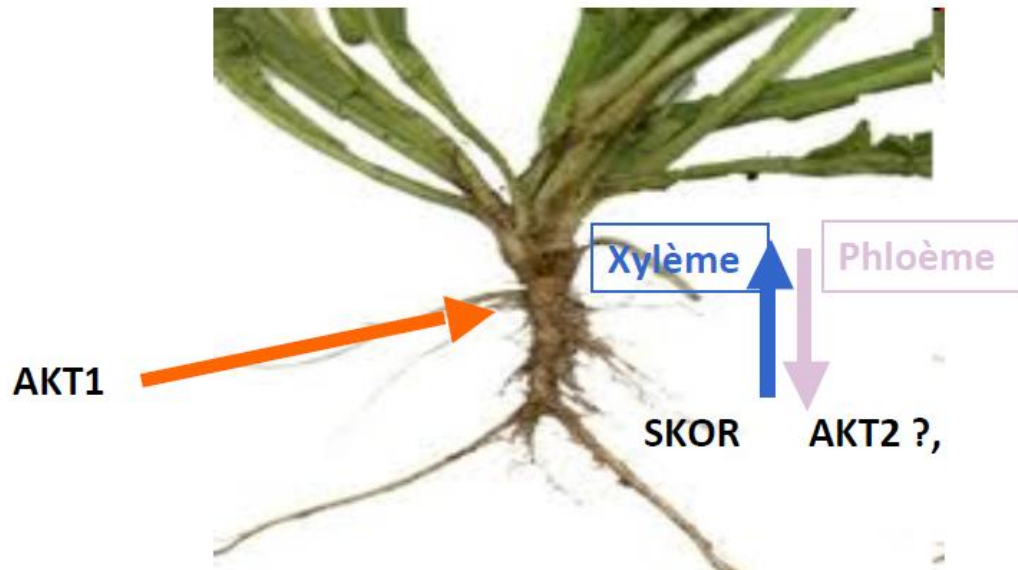


Fig. 20 Canaux Shaker impliqués dans le transport de K^+ dans la racine d'*Arabidopsis thaliana*. Canal AKT1 impliqués par exemple dans le prélèvement de K^+ à partir du sol, canal SKOR dans son chargement dans la sève xylémienne, canal AKT2 dans a circulation de K^+ par le phloème. D'autres expérimentations ont montré que l'altération de gènes codant des transporteurs racinaires et plus exactement des antiports (gènes Na^+/H^+ , NHX5 et NHX6) ou des phosphatases (gène AVP1 qui code une H^+ pyrophosphatase) se traduit par des perturbations du trafic vacuolaire des ions Na^+ et K^+ et, en conséquence, du gradient électrochimique de protons, du potentiel hydrique, de la régulation du pH et du volume cellulaires et donc des mécanismes impliqués dans l'expansion cellulaire, c'est-à-dire la croissance et la résistance à la contrainte saline. Des chercheurs américains ont obtenu ainsi des variétés de coton plus productives aux champs produisant des fibres de meilleure qualité (Bassil et al., 2011, Pasapula et al., 2011).

Cours 9

Nutrition phosphatée

Cours 9

Nutrition phosphatée

1. Le phosphore

Le phosphore constitue entre 0,02 et 0,15% des éléments présents dans la croûte terrestre. Dans les sols, il se trouve presque exclusivement sous forme organique (20 à 80% du phosphore total) et est en revanche considéré comme l'ion majeur le moins disponible en raison des interactions électrostatiques qu'il forme avec les particules du sol (**Raghothama, 1999 in Jana, 2009**). De ce fait, sa disponibilité dans les sols ne dépasse guère 10 μ M (Abel et al. 2002), ce qui est bien inférieur aux concentrations trouvées dans les tissus végétaux (5 à 20 mM). Du fait de sa faible disponibilité dans les sols, les plantes entrent en concurrence directe avec les micro-organismes. Le phosphore est, après l'azote, le deuxième macro-élément limitant la croissance des végétaux (**Abel et al., 2001 ; Barrow 1963 in Jana, 2009**).

1.1 Importance du phosphore

Le phosphore est un macro-élément essentiel pour la plante. Sa concentration moyenne pour une croissance optimale est de l'ordre de 60 μ mol/g de matière sèche, ce qui correspond à moins de 0,2 % de la biomasse sèche totale. En tant qu'élément structural, il est à la fois impliqué dans des macromolécules telles que les acides nucléiques et les phospholipides membranaires. Fonctionnellement, il est essentiel dans les transferts d'énergie via les liaisons anhydres phosphoriques à haute énergie. Le phosphate inorganique (Pi) est également un substrat ou un produit final essentiel à de nombreuses réactions enzymatiques : il intervient dans la voie de la glycolyse (Plaxton 1996), dans la régulation des ARNases (**Green, 1994 in Jana, 2009**) et au niveau des phosphatases (**Duff et al., 1994 in Jana, 2009**). Enfin, au niveau des chloroplastes et des mitochondries, il est utilisé en tant que cofacteur dans le transport des sucres (**Schott et al., 1995 in Jana, 2009**).

1.2 Effet d'une carence en phosphate

Tout comme pour l'azote, l'acquisition du phosphate est souvent associée avec des modifications du système racinaire. En réponse à une carence en phosphate, la croissance et l'architecture des racines sont modifiées (**Lynch, 1995 in Jana, 2009**). La biomasse racinaire augmente, entraînant de ce fait un accroissement des surfaces d'absorption. Chez *Arabidopsis thaliana*, la carence en phosphate inhibe l'élongation de la racine primaire, stimule celle des racines secondaires ainsi que la formation de poils absorbants (**Raghothama et Karthikeyan, 2005 in Jana, 2009**), qui sont également retrouvés dans des zones où ils ne sont habituellement pas présents (**Lynch et Beebe, 1995 in Jana, 2009**). En cela, la plupart des réponses à une carence en phosphate sont similaires à celles causées par l'auxine et l'éthylène. En effet, une application d'auxine exogène sur une plante de lupin non carencée en phosphore entraîne des modifications du système racinaire identiques à celles observées en réponse à une carence en phosphate (**Gilbert et al., 2000 in Jana, 2009**). L'application d'inhibiteurs du transport de l'auxine annule ces réponses. L'éthylène

semble également être impliqué dans les réponses à une carence en phosphate (**Borch et al., 1999 in Jana, 2009**).

Jusqu'à présent, les molécules responsables de la perception de la carence en phosphate n'ont pas été identifiées. En revanche, un certain nombre de gènes induits par une telle carence ont été mis en évidence, notamment ceux appartenant à la famille des transporteurs à haute affinité dont les fonctions seront détaillées dans le chapitre suivant. **Baldwin (2001 in Jana, 2009)** a mis en évidence que l'expression de ribonucléases et de phosphatases acides (enzymes hydrolysant les phosphates organiques et libérant les phosphates minéraux insolubles) est induite par une carence en Pi dans des cellules de tomates. La quantité d'ARNm codant pour ces ribonucléases augmente très fortement seulement deux heures après le transfert des cellules dans un milieu exempt de Pi. Le transfert des cellules carencées d'un milieu pauvre à un milieu riche en Pi a pour effet de faire décliner rapidement la quantité de ces mêmes ARNm (en deux à quatre heures) suggérant que ces transcrits ont une durée de vie très courte. Ainsi, l'induction des gènes répondant à la carence en phosphate apparaît être une réponse primaire dynamique qui nécessite la présence d'un mécanisme senseur au niveau intracellulaire. Dans une plante entière, le délai de réponse à une carence est beaucoup plus long et celles-ci ne sont observées qu'après plusieurs jours de carence. Ceci peut s'expliquer par le fait que la plante a initialement un état en Pi suffisant, lui permettant de « tenir » plusieurs jours avant la perception du manque et donc l'induction des gènes présentés précédemment (**Abel et al., 2001 in Jana, 2009**). Une fois induits, ces mêmes gènes peuvent être réprimés par une application locale de Pi sur les racines (**Burleigh et Harisson, 1999 in Jana, 2009**). Cependant, selon ces auteurs, le Pi ne serait pas le signal systémique car les gènes sont réprimés avant que les concentrations internes en phosphate n'augmentent. Plusieurs molécules, principalement des hormones, ont été proposées comme signal.

1.3 Mécanismes d'absorption du phosphore

Le phosphore est absorbé par les racines essentiellement sous forme de phosphate ionique $H_2PO_4^-$ et HPO_4^{2-} .

Les ions phosphates sont rapidement métabolisés par la plante, seule une petite fraction s'accumule en réserve dans les vacuoles.

Le phosphate absorbé est incorporé ensuite aux composés phosphorylés comme les sucres phosphates, les phospholipides et les nucléotides.

Au contraire de l'azote qui est intégré dans les molécules sous forme réduite, le phosphore est dans la cellule essentiellement sous la forme oxydée (groupes phosphates, **Morot-Gaudry, 2013**).

Les concentrations en phosphore dans les cellules racinaires et le xylème peuvent être 100 à 1000 fois plus élevées que dans le milieu extérieur (**Furihata et al., 1992 in Jana, 2009**). Ceci montre qu'il est absorbé à l'encontre de son gradient de concentration par des systèmes de transport actif (**fig.21, Bialeski et Ferguson, 1983**

in Jana, 2009). Chez les plantes, les **transporteurs de phosphate sont de deux catégories** et présentent des cinétiques distinctes selon que cet élément est en faible (de l'ordre du μM) ou en forte concentration (de l'ordre du mM) dans le milieu extérieur, comme il l'a précédemment été décrit dans le cas de l'azote.

- **Les transporteurs de phosphate à haute affinité** : sont des protéines membranaires qui assurent le transfert du phosphate vers le cytoplasme des cellules racinaires lorsque celui-ci est en faible concentration dans le milieu extérieur. Tous appartiennent à la sous-famille 9 de la Super Famille des Facilitateurs Majeurs (MFS pour « Major Facilitator Super Family ») (Pao et al., 1998 in Jana, 2009). Ces transporteurs sont des symports, couplés à une pompe H^+ + ATP dépendante (Ullrich-Eberius et al., 1984 in Jana, 2009).

Chez *Arabidopsis thaliana*, neuf transporteurs à haute affinité, constituant une famille génique, ont été identifiés par bioinformatique (Okumara et al., 1998 in Jana, 2009). *Pht1* (= *Apt2* = *AtPt1*), *Pht2* (= *Apt1*), *Pht3* (= *AtPt4*), *Pht4* (= *AtPt2*), *Pht5* et *Pht6*. Les gènes *Pht1*, 2, 3 et 5 sont regroupés dans une région de 25kb du chromosome V (Okumara et al., 1998 in Jana, 2009) et les gènes *Pht4* et 6 sont localisés sur le chromosome II. Tous ces transporteurs présentent douze régions transmembranaires (fig.22) séparées en deux groupes de six par une large région hydrophile qui est une caractéristique commune à de nombreuses protéines impliquées dans le transport des ions, des sucres et des acides aminés (Raghothama, 1999 in Jana, 2009).

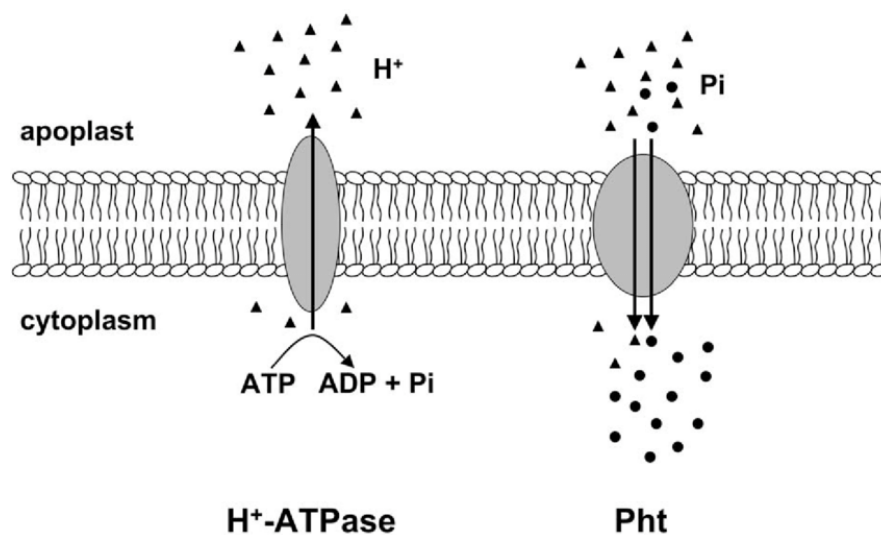


Fig.21 Transport actif du phosphore

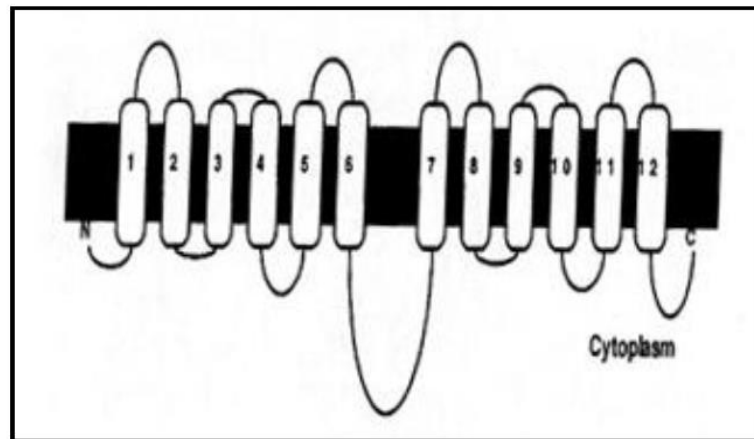


Fig.22 Modèle d'un transporteur de phosphate contenant douze domaines transmembranaires et une large région hydrophile (d'après Raghothama, 1999). *Le **domaine extracellulaire** correspond à la partie externe à la cellule du récepteur transmembranaire. Ce domaine possède les fonctions de liaison avec la protéine à internaliser au sein de la cellule. L'ensemble des protéines extracellulaires liées à la membrane plasmique par le biais de ce domaine extracellulaire est nommé le *Glycocalix*. Ce domaine contient un site de fixation pour des molécules messagers ou ligands. Lorsque ces dernières se fixent sur un récepteur, il se dimérise avec un récepteur voisin et le message est transmis au domaine intra-cellulaire via le segment transmembranaire. Ce processus permet d'activer la fonction d'enzyme de la partie intracellulaire. Le **domaine transmembranaire** est la partie « intramembranaire » c'est-à-dire la partie intrinsèque de la membrane plasmique permettant de faire le lien entre domaine intra et extracellulaire. Ce domaine particulier possède de manière générale une structure secondaire en hélice alpha de 16 à 30 acides aminés. Le **domaine intracellulaire** est responsable de la transmission du signal. Le changement de conformation du récepteur permet la modification de la structure des protéines entraînant la modification des interactions avec les protéines sous membranaire entraînant l'activation d'une cascade de signalisation. *Un **récepteur** est une protéine de la membrane cellulaire ou du cytoplasme ou du noyau cellulaire qui se lie spécifiquement à un facteur spécifique (un ligand, tels une hormone, une toxine, un ion calcium, ou une protéine spécifique de la membrane d'un virus...), induisant une réponse cellulaire à ce ligand.

Les transcrits des transporteurs de phosphate à haute affinité semblent préférentiellement exprimés dans les racines et pour la plupart en réponse à une carence en phosphate (**Daram et al., 1998 in Jana, 2009**). Leur accumulation est stimulée dans les cellules de l'épiderme racinaire et certaines cellules corticales. Des études effectuées sur des mutants d'*Arabidopsis thaliana* (une mutation est une modification rare, accidentelle ou provoquée, de l'information génétique dans le génome. Selon la partie du génome touchée, les conséquences d'une mutation peuvent varier) ayant intégré des gènes rapporteurs couplés aux promoteurs (séquence promotrice, est une région de l'ADN située à proximité d'un **gène** et est indispensable à la transcription de l'ADN en ARN) de différents membres de la famille génique *Pht1* ont permis d'identifier précisément les organes dans lesquels ces gènes s'expriment (**Raghothama et Karthikeyan, 2005 in Jana, 2009**). Les gènes *Pht1.1*, *1.2*, *1.3* et *1.4* sont fortement exprimés dans les poils absorbants. *Pht1.4* a également été détecté à la base des siliques et dans les bourgeons axillaires (**Mudge et al., 2002**

in Jana, 2009). Enfin, Pht1.5 s'exprime principalement dans les tissus conducteurs (xylème et phloème) et également dans les cotylédons des jeunes plantes et dans les feuilles sénescentes.

Le rôle présumé de Pht2;1 est dans le transport de Pi dans les cellules de la pousse.

• **Les transporteurs de phosphate à basse affinité** : Contrairement aux transporteurs à haute affinité qui sont inductibles, les transporteurs de phosphate à basse affinité sont constitutifs (**Marschner, 1995 in Jana, 2009**). Ce sont des transporteurs membranaires souvent impliqués dans le transport intracellulaire de Pi (phosphate inorganique) que ce soit vers les vacuoles, les mitochondries ou encore les chloroplastes (**Raghothama et Karthikeyan, 2005 in Jana, 2009**). Le premier de ces transporteurs à avoir été identifié, *Pht2.1*, a été cloné chez *Arabidopsis thaliana*. Ce gène code pour une protéine de 64 kDa dont la structure quaternaire est très similaire à celle des transporteurs à haute affinité. En revanche, cette protéine est principalement exprimée dans les tissus chlorophylliens (**Daram et al., 1999 in Jana, 2009**). De plus, elle comprend une séquence similaire aux peptides de transit chloroplastiques laissant supposer qu'elle pourrait être localisée dans la membrane chloroplastique (**Versaw et Harrison, 2002 in Jana, 2009**). Des analyses ultérieures par couplage à la « green fluorescent protein » (GFP) ont confirmé cette hypothèse. De plus, il semblerait que cette protéine PHT2.1 fonctionne en association avec les transporteurs triose: phosphate (élément entrant dans la composition de la membrane du chloroplaste. Le transporteur de phosphate/triose phosphate (TPT) est impliqué dans le transport du carbone fixé au cours de la photosynthèse. Les trioses phosphate exportés sont utilisés pour la synthèse de saccharose et d'acides aminés, **Fig.23**) dans le but de mobiliser les Pi le long de la membrane chloroplastique (**Raghothama et Karthikeyan, 2005 in Jana, 2009**). Après pénétration dans les cellules racinaires grâce aux transporteurs de type PHT1 (**Rausch et Bucher, 2002 in Jana, 2009**), les ions phosphates intègrent quatre voies distinctes :

- La majorité intègre le pool métabolique, c'est-à-dire qu'elle reste dans le cytoplasme des cellules ou dans les organites qu'elles contiennent. Dans ce cas, ils serviront à la formation de ponts anhydres pour générer l'ATP (**Bialeski et Ferguson, 1983 in Jana, 2009**).

- Une faible proportion des ions phosphate intègre la voie de biosynthèse des phospholipides et des acides nucléiques (**Bialeski et Ferguson, 1983 in Jana, 2009**).

- Une autre est transférée vers les vacuoles afin de réguler l'homéostasie du Pi dans la cellule (**Mimura, 1995 in Jana, 2009**).

- Enfin, une partie des ions phosphate est transportée de façon symplasmique jusqu'aux cellules du parenchyme xylemien qui assurent le chargement dans le xylème et donc l'alimentation des organes aériens (**Jeschke et al., 1997 in Jana, 2009**).

Cependant, des études ont montré que PHO1 ne contrôle pas directement le chargement et le déchargement du phosphate dans le xylème mais qu'il agirait plutôt de façon indirecte en régulant l'activité d'un transporteur PHT1 via une chaîne de transduction du signal (**Hamburger et al., 2002 in Jana, 2009**). Une fois dans les cellules des parties aériennes, le phosphate intègre les mêmes voies que celles décrites dans le cas des cellules racinaires. Un transporteur de type PHT1 permet l'entrée du phosphate dans la cellule. Celui-ci peut être pris en charge par les transporteurs de type PHT2 et PHT3 pour le transfert du phosphate vers les chloroplastes et les mitochondries.

Le mutant *Arabidopsis pho1* est déficient dans le transfert de Pi des cellules épidermiques et corticales des racines vers le xylème. La moitié N-terminale de PHO1 est principalement hydrophile, alors que la moitié C-terminale a six domaines potentiels transmembranaires.

Dans le futur, il reste à caractériser les modes de régulation de ces transporteurs, en identifiant notamment les voies de signalisations locales et systémiques qui répondent aux concentrations en phosphate du végétal (**Jana, 2009**).

Le phosphate est présent dans le cytosol à concentration généralement stable et contrôlée, proche de 10 mmol.L⁻¹. Cette stabilité ou "homéostasie" traduit le rôle essentiel du phosphate dans le métabolisme énergétique, la synthèse et l'hydrolyse des liaisons riches en énergie (par exemple l'ATP). Le phosphate participe également au pouvoir tampon du cytosol, dont le pH est stabilisé à une valeur proche de 7,4, le pKa de la seconde fonction acide de l'acide phosphorique étant très proche de cette valeur. S. Heuer, de l'Institut international de recherche sur le riz, basé aux Philippines, a isolé un gène codant une protéine kinase (enzymes capables de phosphoryler d'autres protéines pour en changer les propriétés. C'est un moyen très efficace et répandu pour transmettre une information à d'autres acteurs de la signalisation ou pour réguler des protéines impliquées dans la spécificité de réponse. Le génome des plantes code généralement pour au moins un millier de protéines kinases ce qui souligne bien l'importance de ce type de signalisation chez les plantes. Ces nombreuses kinases ont des caractéristiques variées dont la « Signalisation du stress ») impliquée dans l'homéostasie du phosphate (**Keke et al., 2011, Gamuyao et al., 2012**). La protéine PSTOL1 (*Phosphorus starvation Tolerance* permet la construction de plantes résistantes à des carences en phosphore. Les riz transgéniques qui surexpriment cette protéine kinase, cultivés sur des sols très pauvres en phosphates, développant un réseau racinaire plus étendu que celui des plantes contrôles. Des essais en plein champ de plantes non transgéniques, chez lesquelles tout le locus (position fixe d'un gène ou d'un marqueur génétique (gène ou une séquence polymorphe d'ADN aisément détectable grâce à un emplacement connu sur un chromosome. On peut l'utiliser en cartographie génétique pour « baliser » le génome et identifier des individus ou des espèces) sur un chromosome) contenant PSTOL1 a été inséré par hybridation interspécifique (En génétique, un hybride est un organisme issu du croisement de deux individus de deux variétés, sous-espèces (croisement intraspécifique), espèces (croisement interspécifique) ou genres (croisement intergénérique) différents.), ont permis d'améliorer les rendements (de 10 à 20%) sur sols pauvres en phosphates comparés aux plantes témoins (**Chin et al., 2011**). Ces nouvelles variétés de riz (riz Kasalath) sont très intéressantes pour l'Asie.

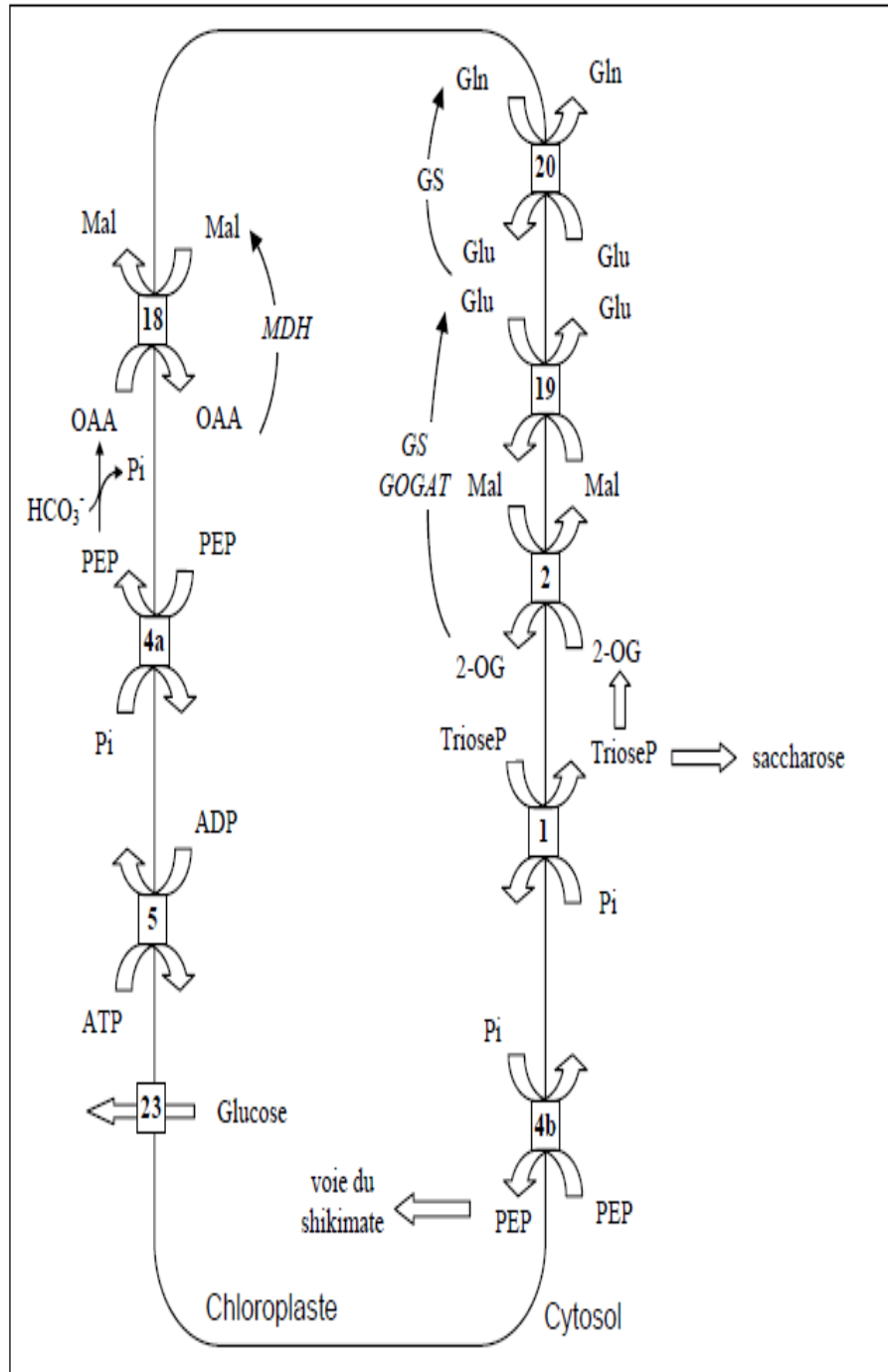



Fig.23 Transporteurs de la membrane interne des chloroplastes. D'après Flügge (1998). 1 : Transporteur de phosphate/triose phosphate (IE30) (Flügge *et al.*, 1989). 2: Transporteur de 2- oxoglutarate/malate (DiT1) (IE45) (Menzlaff & Flügge, 1993 ; Weber *et al.*, 1995). 4a : Transporteur de phosphate/phosphoénolpyruvate des cellules du mésophylle de plantes C4 (Heldt *et al.*, 1991 ; Fischer *et al.*, 1994). 4b : Transporteur de phosphoénolpyruvate (Fischer *et al.*, 1997). 5 : Transporteur d'ATP/ADP (Heldt, 1969). 18 : Transporteur de malate/oxaloacétate (Hatch *et al.*, 1984). 19: Transporteur de glutamate/malate (DiT2) (Woo *et al.*, 1987). 20 : Transporteur de glutamine/glutamate (Yu & Woo, 1988). 23 : Transporteur de glucose (Schäfer *et al.*, 1977). Mal : malate. Glu : glutamate. OAA : oxaloacétate. Gln : glutamine. **TrioseP : triose phosphate**. MDH : malate déshydrogénase. GS : glutamine synthase. PEP : phosphoénolpyruvate. 2-OG : 2-oxoglutarate. **Pi : phosphate inorganique**. GOGAT : glutamate synthase.

Cours 10

Nutrition en fer

Cours 10**Nutrition en fer****1. Le fer**

Le fer est le quatrième élément le plus important de la lithosphère (croûte terrestre et partie superficielle du manteau supérieur) Il représente 5% (en masse) des éléments composants la croûte terrestre et est le plus souvent combiné avec l'oxygène pour

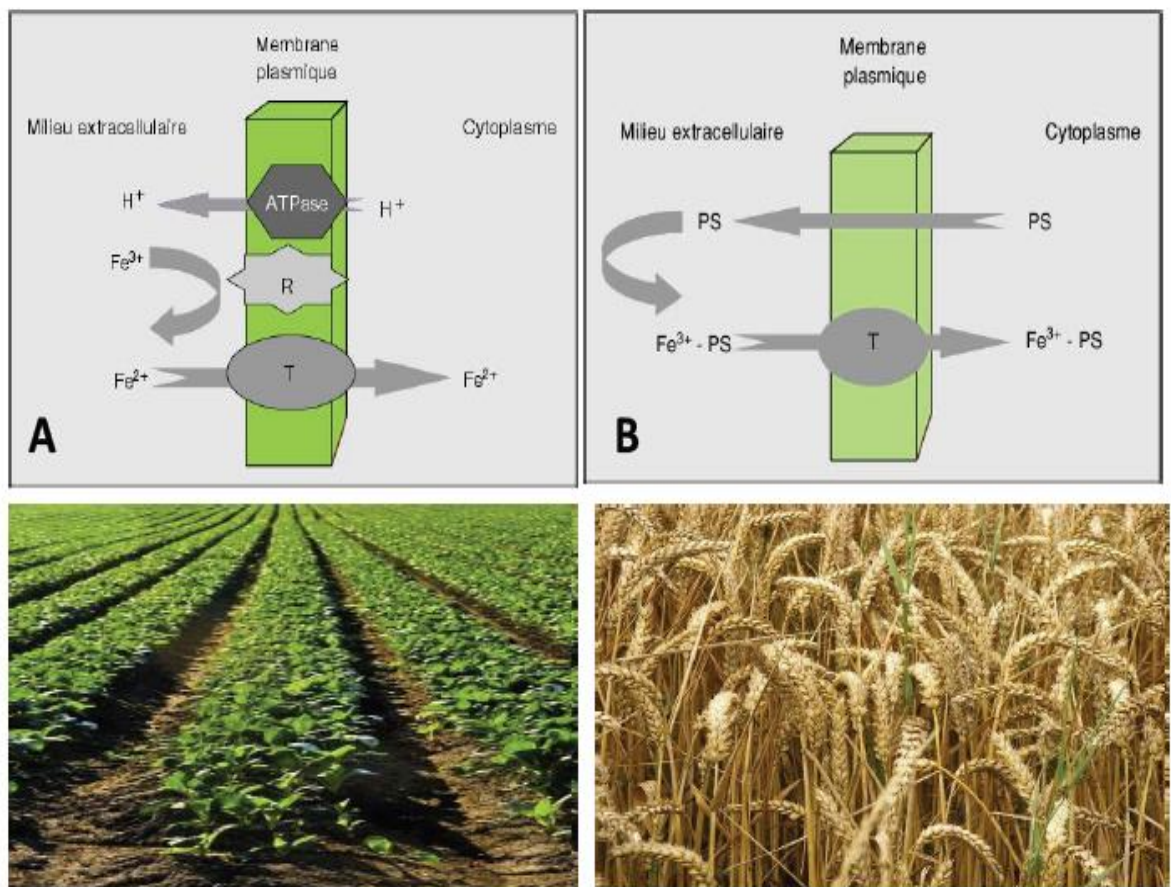
former principalement de l'hématite (Fe_2O_3) , de la magnétite (Fe_3O_4) et de la limonite ($\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$). Malgré sa concentration souvent importante dans les sols, sa biodisponibilité (c'est-à-dire la portion de fer soluble et donc assimilable par les microorganismes du sol et les plantes) est très réduite dans les milieux aérobie ou à pH neutre. Dans ces conditions, le fer se retrouve le plus souvent sous la forme ferrique (Fe^{3+}) ou complexé avec les ions OH pour former des précipités d'hydroxydes ferriques $\text{Fe}(\text{OH})_3$, très peu solubles. Aussi, les quantités de fer biodisponibles sont souvent insuffisantes pour satisfaire les besoins des végétaux. En effet, la concentration optimale pour une bonne croissance de la plante est de 10^{-9}M (Guerinot et Yi, 1994 in Jana, 2009).

1.1 Importance du fer chez les végétaux

Tout comme l'azote et le phosphore, le fer est un élément essentiel pour la croissance et le développement des plantes. Il se situe à la limite supérieure des micronutriments puisque sa concentration dans les végétaux est en moyenne de $2 \mu\text{mol g}^{-1}$. En plus d'être un élément crustal majeur, le fer présente des propriétés chimiques tout à fait particulières. Comme tout métal de transition, il présente la possibilité d'exister sous deux formes : l'une oxydée (Fe^{3+}), dénommée ferrique et l'autre réduite (Fe^{2+}), le fer ferreux. Cet élément a donc la possibilité de céder ou de capter un électron ce qui en fait un cofacteur de choix dans les réactions d'oxydoréduction. De plus, grâce à ses six orbitales atomiques, il peut former jusqu'à six liaisons de coordination et peut donc se combiner à d'autres éléments électronégatifs tels que l'azote, l'oxygène ou encore le soufre, ainsi qu'à certaines molécules organiques telles que des protéines. Ces dernières sont différenciées en trois classes selon la façon dont l'ion métallique leur est rattaché : les protéines à centre fer-soufre, les protéines à hème et une troisième grande classe qui regroupe toutes les protéines fixant le fer directement sur leur squelette. Ainsi, le fer, que ce soit en tant que cofacteur (composé chimique non protéique mais qui est nécessaire à l'activité biologique d'une protéine, le plus souvent une enzyme) ou élément structurel des molécules organiques, intervient dans un grand nombre de voies métaboliques essentielles à la vie cellulaire et a fortiori à celle du végétal, telles que la photosynthèse, la respiration, le métabolisme de l'azote ou encore les processus de détoxification.

1.2. Mécanismes d'absorption du fer par les végétaux

Dans les sols, le fer existe principalement sous sa forme oxydée ferrique Fe^{3+} . Cependant, une partie de cet élément est maintenue en solution (c'est-à-dire sous une forme disponible pour les végétaux) grâce à des chélateurs (qui a la propriété de former avec un ion positif métallique un composé (un *chélate*) soluble et non toxique) naturels du sol tels que la silice et les acides fulviques. Deux stratégies ont été mises en évidence pour l'acquisition du fer, en fonction de l'origine phyllogénétique de la plante : ces mécanismes ont été nommés stratégie 1, encore appelée stratégie réductrice et stratégie 2 ou stratégie chélatrice (**fig. 24**).



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

B- Stratégies d'acquisition du fer chez les monocotylédones graminées. Les plantes développant des réponses à la carence en fer transportent les ions Fe^{3+} du sol sous formes de chélates avec les phytosidérophores. PS : phytosidérophores ; T : transporteur (**Briat, 2004**). PS : sont des molécules de type ligand (ou chélateurs : molécule qui se lie de manière réversible à une macromolécule ciblée) sécrétées dans la rhizosphère par certaines espèces de plantes de la famille des *Poaceae* (graminées) en situation de carence en fer, et dont la fonction est de permettre l'assimilation du fer sous forme de complexes fer-phytosidérophore ou ferrisidérophores

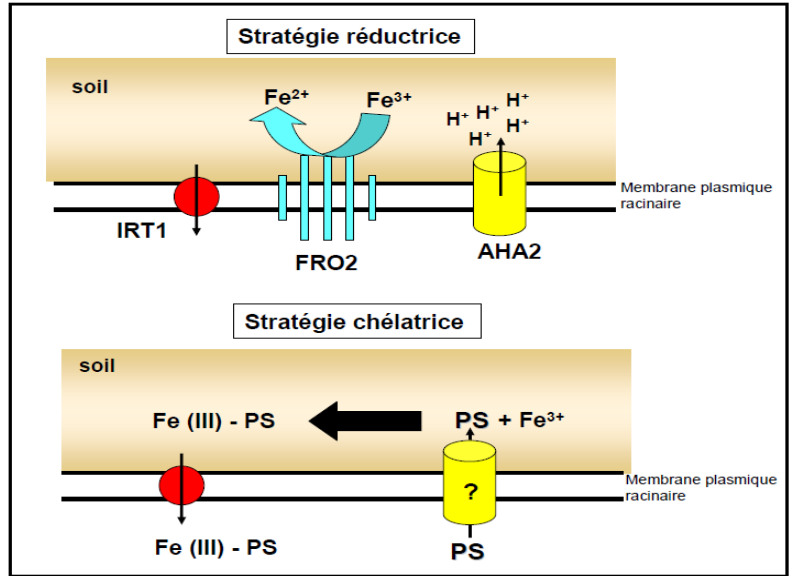


Figure 4 : Réponses à une carence en fer (Guerinot 2007). En haut la réponse caractéristique d'*Arabidopsis thaliana*. En bas, la réponse caractéristique d'une Poacées : le maïs

Fig. 24 Mécanismes d'absorption du fer par les végétaux

Les Poacées, famille botanique à laquelle appartiennent par exemple le riz, le maïs et l'orge, chélatent le fer ferrique au moyen de phytosidérophores (PS) excrétés dans la rhizosphère (stratégie II, **Fig.24, Römheld et Marschner, 1986**). Le Fe (III) chélaté est pris en charge par un transporteur spécifique des complexes phytosidérophore – Fe(III) : YS1 (Yellow Strip 1, **Curie et al., 2001**) isolé chez le maïs en 2001. La séparation du complexe et la réduction du fer se déroulent dans le cytoplasme de la cellule.

Chez le reste des plantes supérieures, c'est-à-dire l'ensemble des espèces Eudicotylédones (ou dicotylédones vraies) et monocotylédones n'appartenant pas à la famille des Poacées, réduisent le fer avant de l'absorber : c'est la stratégie I (**Fig.24**). Cette stratégie comprend trois étapes :

a-Une pompe à protons (AHA2), mise en évidence par **Römheld en 1984 (in Jana, 2009)** chez le tournesol, et en 2000 chez *Arabidopsis*, lors du séquençage de l'intégralité du génome, acidifie la rhizosphère. Ce processus semble limité à la partie apicale de la racine (**Marschner et al., 1986 in Jana, 2009**).

b-Une réductase ferrique intervient ensuite pour catalyser la réduction de la forme ferrique Fe^{3+} en forme ferreuse Fe^{2+} . C'est la protéine FRO2 (**Fig.24**).

L'expression du gène *Fro2* est induite en réponse à une carence en fer dans les racines (**Robinson et al., 1999 in Jana, 2009**). Sa fonction a été démontrée par complémentation du mutant *frd1* d'*Arabidopsis thaliana*, déficient pour l'activité de réduction du fer (**Robinson et al., 1999 in Jana, 2009**). La réduction du fer par FRO2

qui se produit au niveau des cellules épidermiques de la zone subapicale (**Connolly et al., 2003 in Jana, 2009**) est la principale étape limitant l'acquisition de cet élément.

Le fer réduit est transporté dans le cytosol des cellules par la protéine IRT1 qui appartient à la famille des transporteurs ZIP (ZRT IRT-like Protein, **Mäser et al., 2001 in Jana, 2009**). Elle est composée de 339 acides aminés et possède huit segments transmembranaires putatifs. Elle est localisée dans les cellules de l'épiderme et dans le cortex de la racine.

Dans la plante, d'autres transporteurs de fer ont été identifiés : ce sont les protéines NRAMP (Natural resistance-associated Macrophage Protein). Ces transporteurs sont largement répandus chez les êtres vivants puisqu'ils existent chez les bactéries et les animaux. Le gène Nramp1 a été identifié chez la souris : une mutation dans la séquence nucléotidique entraîne une sensibilité accrue aux bactéries pathogènes (**Cellier et al., 1994 in Jana, 2009**). Chez *Arabidopsis thaliana* (*At*), six gènes ont été identifiés par analyse bioinformatique du génome. Ils sont regroupés en deux familles géniques. La première comprend AtNramp1 et AtNramp6 et la seconde, les gènes *AtNramp2-5*. Des études ont montré que la protéine NRAMP3 est localisée dans le tonoplaste (**Thomine et al., 2003 in Jana, 2009**) et pourrait être impliquée dans la remobilisation du fer stocké dans la vacuole vers le cytoplasme lors d'une carence en fer.

1.3 Effet d'une carence en fer

Les premiers symptômes visuels d'une carence en fer incluent l'apparition de chloroses (décoloration plus ou moins prononcée des feuilles, due à un manque de chlorophylle) intercostales, principalement chez les feuilles jeunes. Ces lésions ont été corrélées à des modifications au niveau de l'ultra-structure des chloroplastes (**Spiller et Terry, 1980 in Jana, 2009**) ainsi qu'à une diminution de l'expression des gènes codant la petite et la grande sous unité de la RUBISCO (de son nom complet ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase, est l'enzyme-clé de la photosynthèse. C'est elle qui permet la fixation du dioxyde de carbone CO₂ dans la biomasse végétale en initiant le cycle de Calvin, grâce à l'énergie solaire captée par la chlorophylle) et des protéines liées aux chlorophylles a et b (**Spiller et al., 1987, Winder et Nishio, 1995 in Jana, 2009**). La carence entraîne la surexpression de gènes impliqués dans l'absorption du fer principalement dans les racines (**Hell et Stephan, 2003 in Jana, 2009**) mais également dans d'autres tissus afin de maintenir l'homéostasie (stabilité) de cet élément (**Vert et al., 2003 in Jana, 2009**). La morphologie du système racinaire évolue afin d'augmenter la surface d'absorption : le nombre et la longueur des poils absorbants augmentent et des cellules de transfert se différencient sur le rhizoderme (**Schmidt, 1999 in Jana, 2009**). Plusieurs hormones telles que l'éthylène et l'auxine sont impliquées dans la réponse à la carence en fer : plusieurs études ont rapporté une augmentation de leur synthèse chez les plantes de stratégie I et celles de stratégie II (**Morgan et Hall, 1962 ; Römheld et Marschner, 1986 ; Romera et al., 1999 in Jana, 2009**). L'application d'auxine, d'éthylène et d'ABA (acide abscissique)

peut mimer l'ensemble des réponses morphologiques correspondant à une carence en fer (**Schmidt et Bartels, 1996 in Jana, 2009**).

Chapitre IV

Photosynthèse et assimilation du
CO₂ (Nutrition carbonée)

Cours11

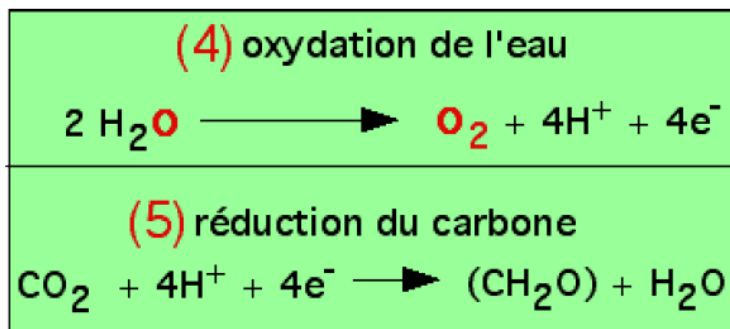
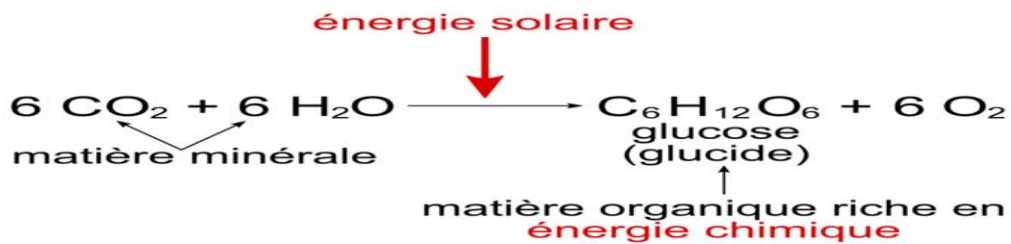
Photosynthèse et assimilation du CO₂

Cours11

Photosynthèse et assimilation du CO₂

1-Généralités

La photosynthèse est une propriété fondamentale du règne végétal. Elle lui confère l'indépendance vis-à-vis des autres formes de vie. Son mécanisme consiste à utiliser l'énergie solaire pour briser la molécule d'eau en ses deux éléments constitutifs; l'oxygène inutile est rejeté, l'hydrogène va constituer une « force motrice » destinée à transformer le gaz carbonique atmosphérique en sucres (glucoses, amidon. **Fig.25**).

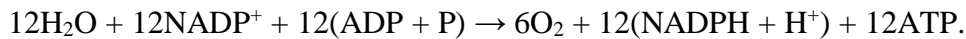


Une oxydation : est une réaction au cours de laquelle un atome **cède** (perd) un ou des électron(s).

Une réduction : est une réaction au cours de laquelle un atome **capture** (prend) un ou des électron(s).

Fig.25 Décomposition de la réaction photosynthétique en deux groupes de réactions Redox (les réactions oxydo-réduction : un couple oxydant/réducteur ou couple rédox).

Ainsi, la première réaction de la photosynthèse, qui se produit le long du photosystème II fournit à la seconde des électrons et des ions hydrogène (H^+), ou protons, grâce à la **scission de la molécule d'eau**, avec production d'oxygène. Le transport des électrons le long de la chaîne va permettre la fixation des protons sur une molécule, le NADP, pour donner du NADPH + H^+ . Les réactions lumineuses engendrent aussi la synthèse d'ATP, une molécule hautement énergétique, à partir d'ADP et de phosphate (P). L'enzyme responsable de cette réaction est l'ATP-synthétase (elle est activée par le passage de protons de l'intérieur du chloroplaste vers le cytoplasme de la cellule). L'équation qui caractérise la phase lumineuse est la suivante :



La photosynthèse est le processus responsable de la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique au niveau de la plante, autrement dit : processus permettant de synthétiser de la matière organique (sucres) à partir de la lumière du soleil. Elle se réalise au niveau des chloroplastes qui sont des organites cellulaires spécialisées, et permet une consommation de dioxyde de carbone et d'eau afin de produire du dioxygène et des molécules organiques telles que le glucose. La photosynthèse se réalise en deux grandes phases, la phase claire et la phase sombre. La **phase claire** est un ensemble de réactions photochimiques, qui dépendent de la lumière, et au cours desquels les électrons sont transportés à travers les deux photosystèmes (PSI et PSII, voir détail en dessous) **afin de produire de l'ATP (molécule riche en énergie) et du NADPH + H^+ (potentiel réducteur)**. La phase claire permet donc directement la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique. La **phase sombre** correspond au cycle de Calvin, entièrement enzymatique et indépendante de la lumière, au cours **duquel l'ATP et le NADPH + H^+ sont utilisés pour la conversion du dioxyde de carbone et de l'eau en glucides**. Cette seconde partie permet l'assimilation du gaz carbonique (Guignard, 1996).

2. Réactions métaboliques

***Localisation :** La photosynthèse se réalise principalement au niveau des feuilles, au niveau des tissus palissadiques qui se trouvent sous l'épiderme supérieur et qui récupèrent les photons lumineux. Les caractéristiques des cellules responsables de la photosynthèse leurs sont données par les chloroplastes, qu'elles possèdent et qui renferment des pigments photorécepteurs : la chlorophylle et les pigments associés.

2.1. Phase claire (Fig.26, 27, 28, 29)

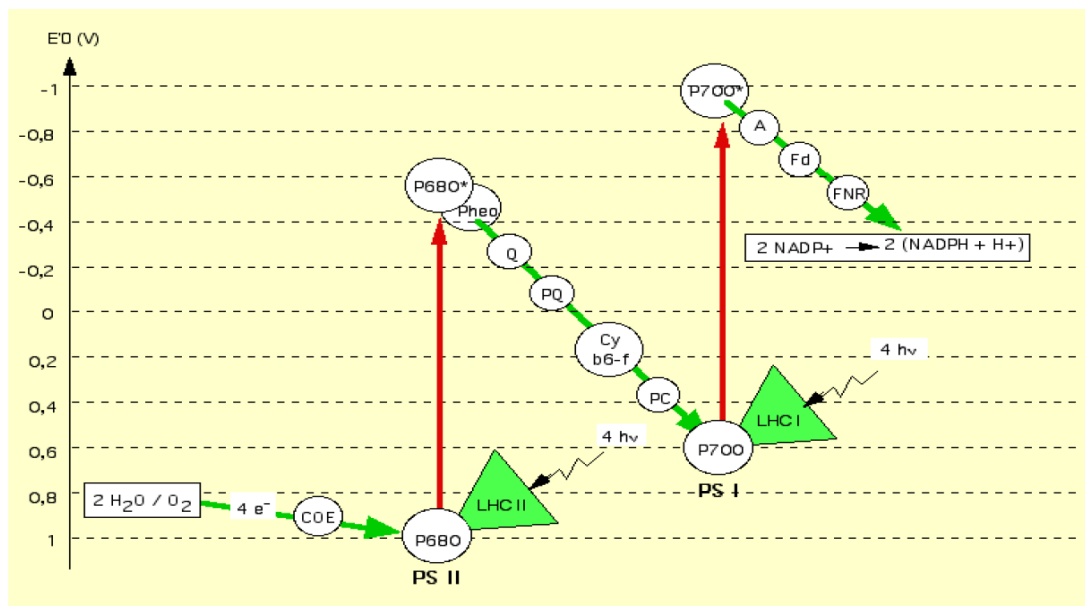
a- La photolyse de l'eau et le transport non cyclique des électrons

Au niveau du PSII va s'opérer une étape majeure de la photosynthèse : la photolyse de l'eau. À chaque fois que PSII est photo-oxydé, l'eau lui fournit un électron pour compenser la perte qu'il vient de subir et permettre sa régénération. L'eau est donc le donneur d'électrons primaire de la photosynthèse. La molécule d'eau doit ainsi subir

une réaction d'oxydation sous l'action de la lumière. Cette réaction sera à l'origine de la libération d'électrons de protons et d'oxygène.

Les électrons seront capturés par le PSII, les protons produits iront s'accumuler dans l'espace intra-thylakoïdien (**fig.27**) pour participer au gradient de proton, et l'oxygène sera libéré dans l'atmosphère. L'oxygène est donc un déchet de la photosynthèse.

L'électron au cours de ces différents transferts perd un peu d'énergie. Cette énergie est utilisée par certains transporteurs pour amener des protons H^+ du stroma (espace extra-thylakoïdien) vers l'espace intra-thylakoïdien (**Guignard, 1996; Farineau et Morot-Gaudry, 2018**).



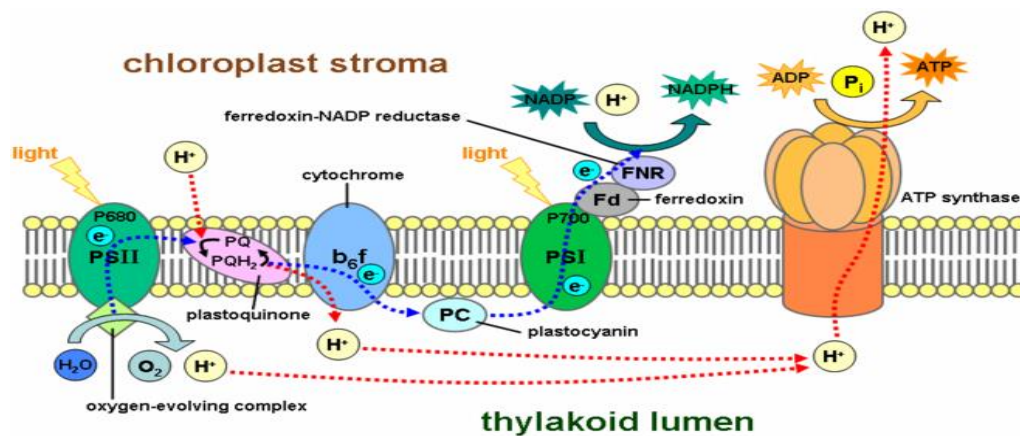
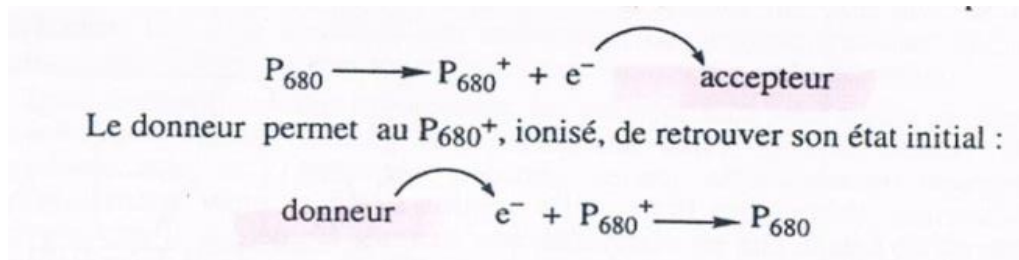


Fig.26 Schéma "en Z", transfert acyclique des électrons. Par le jeu intégré des deux photosystèmes, le transfert des électrons se réalise de l'eau à l'accepteur final, le NADP+. A: accepteur du PSI, Cy b6-f: complexe protéique cytochromes, FD: ferredoxine (protéine fer-soufre réalisant des transferts d'électrons dans un grand nombre de réactions d'oxydoréduction), FNR: Ferredoxine NADP Réductase, LHCI: Light Harvesting ComplexI (antenne du PSI), LHCII: Light Harvesting ComplexII (antenne majeure du PSII), OEC: Oxygen Evolving Complex, P680: complexe moléculaire du PSII,

P700: complexe moléculaire du PSI, PC: plastocyanine, Pheo: pheophytine, PSI: Photosystème I, PSII: photosystème II, PQ: Plastoquinones, Q: Quinones. P : photosystème

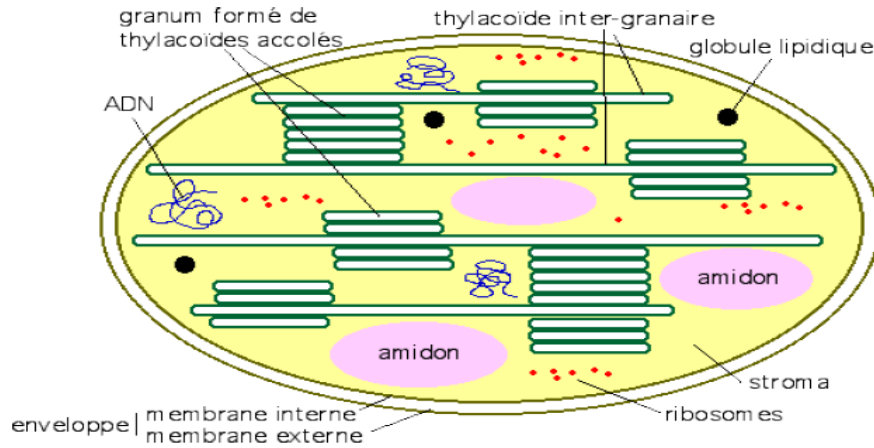


Fig.27 Schéma d'un chloroplaste. La membrane interne est la plus intéressante pour la photosynthèse et délimite la partie interne du chloroplaste, le stroma. La membrane présente des acides gras insaturés qui assurent la fluidité membranaire, et des pigments (chlorophylle et caroténoïde) souvent associés à des protéines. Des structures transmembranaires permettent la formation de complexes protéiques associés à la chlorophylle que l'on appelle des photosystèmes (PSI et PSII).

*Structure des photosystèmes

Les **photosystèmes** sont les centres photorécepteurs de la membrane des thylakoïdes contenus dans les chloroplastes. Ils sont constitués d'une **antenne collectrice** et d'un **centre réactionnel** situé au centre de l'antenne. L'antenne collectrice permet de capter l'énergie lumineuse grâce à des pigments de plusieurs types : chlorophylle a, b et caroténoïde. L'énergie captée est transmise au centre réactionnel qui est un emplacement spécialisé constitué d'amas de pigments. L'accepteur primaire du photosystème I (PSI) est la **chlorophylle A0** (chlorophylle « a » modifiée) et du photosystème II (PSII) est la **phéophytine** (chlorophylle dépourvue de son cation central de magnésium Mg^{2+}). La chaîne d'accepteurs d'électrons permet le transport des électrons de molécule en molécule **dans le sens de l'augmentation du potentiel**.

La grande différence qui distingue le photosystème I (PSI) du photosystème II (PSII) : C'est la longueur d'onde d'absorption, pourtant les centres réactionnels des deux photosystèmes présentent tous les deux une paire de chlorophylle « a ». Ceci est expliqué par le fait que les protéines associées à la chlorophylle jouent un grand rôle dans ses propriétés physiques. De cette manière le PSII présente un complexe moléculaire appelé **P680** (la paire spéciale de molécules de chlorophylle a est appelée P680 car il s'agit d'un pigment absorbant à 680 nm) et le PSI présente un complexe moléculaire appelé **P700**. Au cours de la phase claire, les électrons sont tout

d'abord fournis par l'eau au PSII, puis par la suite ils sont transmis au PSI. En effet c'est bien le photosystème II qui démarre la photosynthèse.

L'énergie lumineuse est tout d'abord absorbée par l'antenne collectrice qui transmet ensuite son énergie au complexe P680. La chlorophylle « a » présente dans le complexe P680 libère alors les électrons qui seront captés par l'accepteur primaire (chlorophylle A0) et transportés par la chaîne d'accepteurs d'électrons. Ces électrons passent ensuite par le **complexe de cytochromes** (coenzymes intermédiaires de la chaîne respiratoire. Ils ont comme caractéristique commune d'être constitués d'une porphyrine (molécules à structures cycliques impliquées dans le transport du dioxygène) complexée avec un atome de fer ou de cuivre) où ils induisent le passage de protons du stroma vers l'espace intra-thylakoïdien. Les protons ainsi accumulés forment ce que l'on appelle le **gradient de protons**, qui permettra à l'**ATP synthétase** de produire de l'ATP. La chlorophylle « a » du P680 (du PSII) a donc perdu des électrons qu'elle doit récupérer pour continuer à fonctionner ; ils lui sont fournis via la photolyse de l'eau. En quittant le complexe de cytochromes, les électrons sont transmis au PSI.

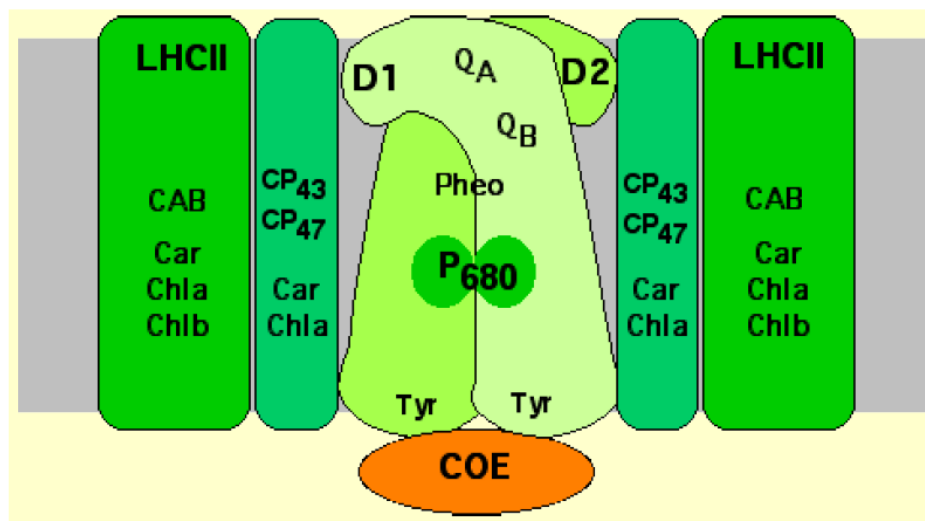


Fig.28 Représentation schématique du photosystème II dans la membrane du thylacoïde. CAB: protéines de l'antenne périphérique (ou majeure), Car: carotène, Chla: chlorophylle a, Chlb: chlorophylle b, CP: protéines de l'antenne proximale, D1-D2 (dimère formé des protéines-pigments): sous unités du centre réactionnel, LHCII: Light Harvesting (récolte) Complex II (antenne majeure), OEC: Oxygen Evolving (En évolution) Complex, P680: dimère de chlorophylle a (molécule piège du centre réactionnel), Pheo: phéophytine (intervient dans la photosynthèse comme **premier transporteur d'électrons** intermédiaires dans la chaîne de transferts d'électrons du PSII chez les plantes, QA-QB: Plastoquinones (coenzyme de la famille des quinones : transporteurs d'électrons), Tyr: tyrosine (caractérisée par son groupe phénol, dont l'hydroxyle est acide. Il a une action sur la force de résistance de la plante face aux maladies, aux stress,... Est à l'origine des acides phénoliques, des flavonoïdes, des gluconisates, des alcaloïdes, des subérines et des lignines qui jouent un rôle essentiel dans les mécanismes de défense et de constitution des parois et des fibres.). Coenzyme : Partie non protéique d'une enzyme, liée à la partie protéique (apoenzyme) de certaines enzymes.

Au cœur du complexe est logée la paire spéciale de molécules de chlorophylle *a* est appelée P680 car il s'agit d'un pigment absorbant à 680 nm.

Le PSI : La poursuite de la photosynthèse nécessite encore de l'énergie lumineuse qui sera absorbée par l'antenne collectrice et qui sera transmise au complexe P700. Le rôle du complexe P700 sera de charger en énergie les électrons transmis par le complexe des cytochromes. Ces électrons seront captés par l'accepteur primaire (phéophytine) et seront transportés par la chaîne d'accepteurs d'électrons jusqu'à la ferrédoxine (Fe_2S_2). Elle-même les transportera jusqu'à la NADP (nicotinamide adénine dinucléotide phosphate) réductase qui réduira le NADP^+ en $\text{NADPH} + \text{H}^+$. La chlorophylle « *a* » du P700 (associations de molécules de chlorophylle *a* absorbant à 700 nm) a donc perdu deux électrons qu'elle doit récupérer pour que le système fonctionne; ces électrons lui sont fournis par le PSII.

Différence entre chlorophylle *a* et *b

-La chlorophylle *a* présente chez tous les végétaux aquatiques et terrestres. La chlorophylle *a* est un donneur d'électron initial dans une chaîne de transport d'électrons constituée d'une suite de réactions d'oxydoréduction (photophosphorylation).

La chlorophylle *a* se présente en aiguilles cristallines bleu sombre, sa formule brute est $\text{C}_{55}\text{H}_{72}\text{O}_5\text{N}_4\text{Mg}$. La chlorophylle *b* est vert foncé. Les molécules des chlorophylles ont une masse moléculaire voisine de 900. Elles sont toutes formées de quatre noyaux pyrrole I, II, III, IV liés entre eux. Un cycle cyclopentanone (V) est accroché au noyau pyrrole III. Toutes les molécules contiennent encore un groupe dérivé du méthanol et un groupe dérivé d'un alcool à vingt atomes de carbone, le phytol.

-La chlorophylle *b* se trouve chez les cormophytes (végétaux supérieurs) et les chlorophycées (algues vertes) à des teneurs moindres. Elle absorbe essentiellement la lumière bleue et qui est davantage soluble en milieu aqueux que la chlorophylle *a* en raison de la présence d'un groupement carbonyle dans sa structure. La chlorophylle *b* n'est pas un donneur d'électrons initial dans la chaîne respiratoire mais accroît le rendement énergétique de la photosynthèse en augmentant la quantité d'énergie lumineuse absorbée par les plantes et autres organismes photosynthétiques.

b- Le transport cyclique des électrons

Les électrons peuvent suivre un trajet cyclique qui n'implique que le photosystème I. La ferrédoxine, au lieu de fournir les électrons à la NADP réductase, va les transmettre à la plastoquinone (PQ) par l'intermédiaire d'un cytochrome. Les électrons suivent alors la première chaîne de transporteurs qui les fait revenir au photosystème I, où ils vont combler les vides qu'ils avaient laissés.

Ce trajet cyclique (**Fig.29**) permet d'accumuler des protons supplémentaires dans l'espace intra-thylakoïdien sans réduire de NADP^+ mais en favorisant la production

d'ATP (relargué (libéré) au niveau du stroma, **Guignard, 1996; Farineau et Morot-Gaudry, 2018**).

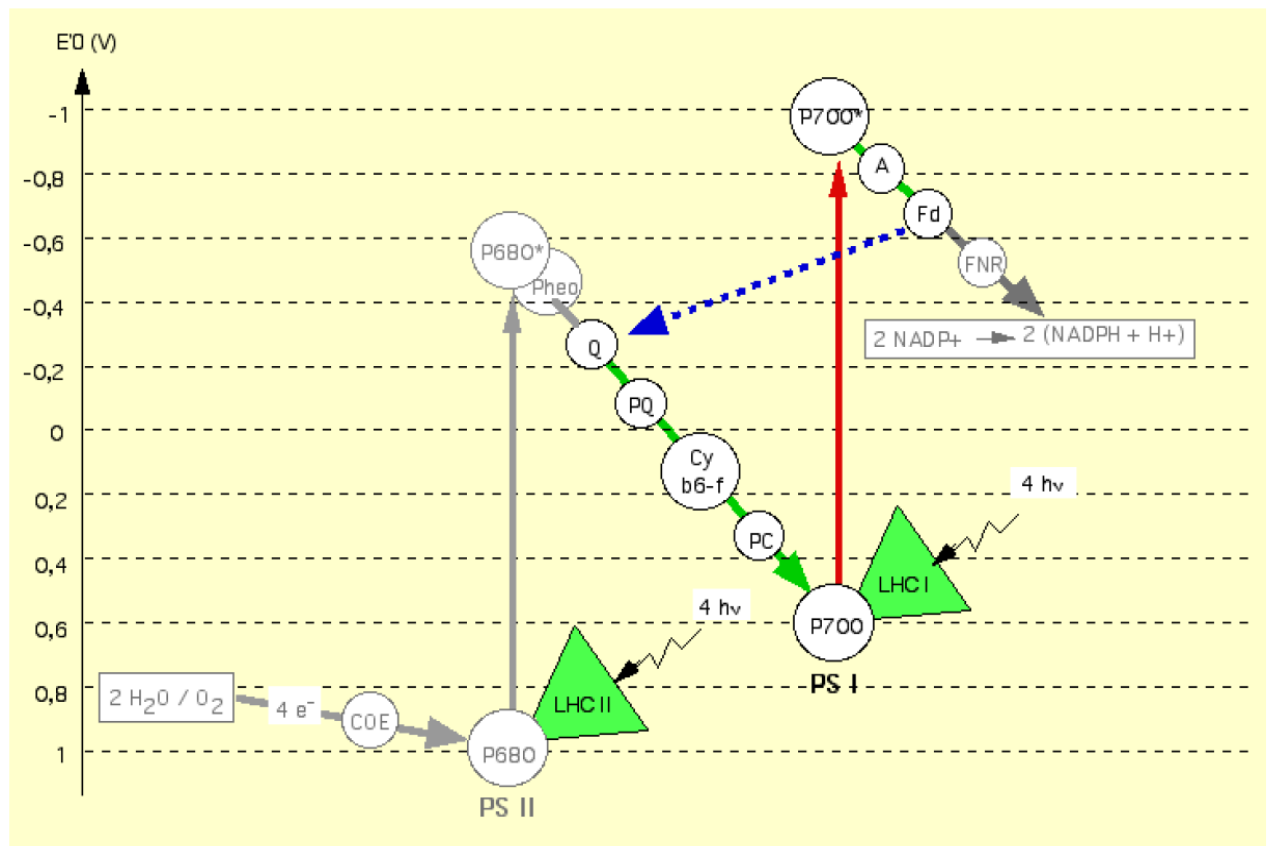


Fig.29 Transfert cyclique d'électrons autour du PSI. Le transfert des électrons ne fait pas intervenir le photosystème II. Il n'y a donc pas d'oxydation de l'eau ni de réduction du NADP+.

2.2. Phase sombre

La phase sombre correspond à la phase d'assimilation du CO₂ qui utilise les molécules énergétiques produites lors de la phase claire et qui est réalisée de manière cyclique. Ce **cycle de Calvin (fig.30)** se déroule dans le stroma du chloroplaste. L'assimilation du CO₂ se fait en quatre étapes principales dont les trois premières se déroulent au sein du cycle de Calvin :

- * Fixation du CO₂ (carboxylation).
- * Réduction du carbone fixé.
- * Régénération de l'accepteur de CO₂.
- * Synthèse des sucres (Précurseur: G3P : Glycéraldéhyde 3 –phosphate, **Guignard, 1996**).

2.2.1. Cycle de Calvin

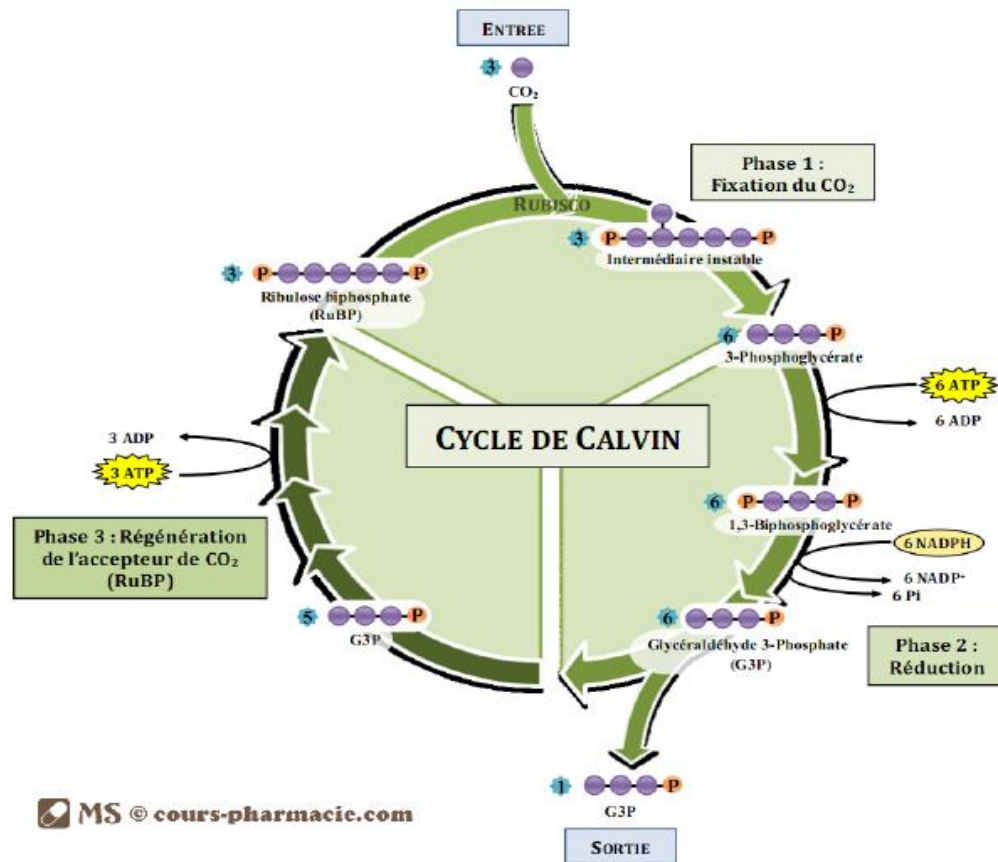


Fig.30 Cycle de Calvin. Rubisco : *Ribulose Biphosphate Carboxylase Oxygénase*.

***Fixation du CO₂** : La première molécule du cycle de Calvin est le **ribulose-biphosphate (RuBP)** possédant 5 carbones. La fixation du CO₂ sur cette molécule nécessitera l'utilisation d'une enzyme appelée la **Rubisco** (*Ribulose Biphosphate Carboxylase Oxygénase*). Cette enzyme permettra la formation d'une molécule instable à 6 carbones qui donnera rapidement deux molécules de **3-phosphoglycérate** à 3 carbones.

Mode d'action de la Rubisco: Comme son nom l'indique, la Rubisco possède deux activités catalytiques:

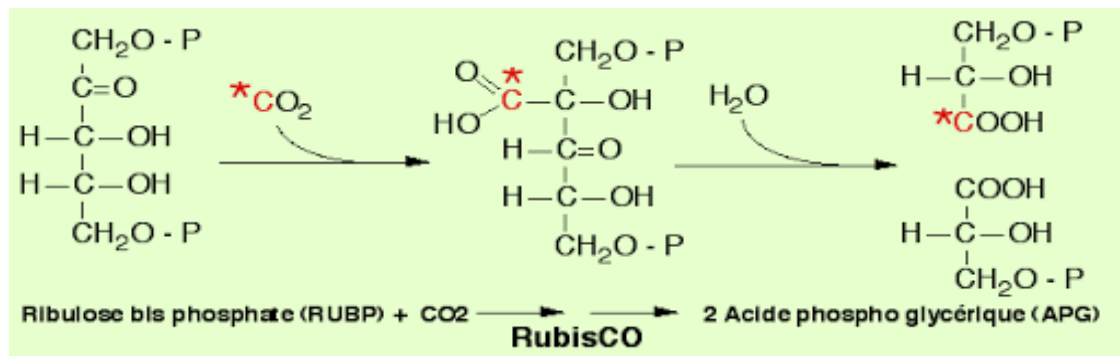
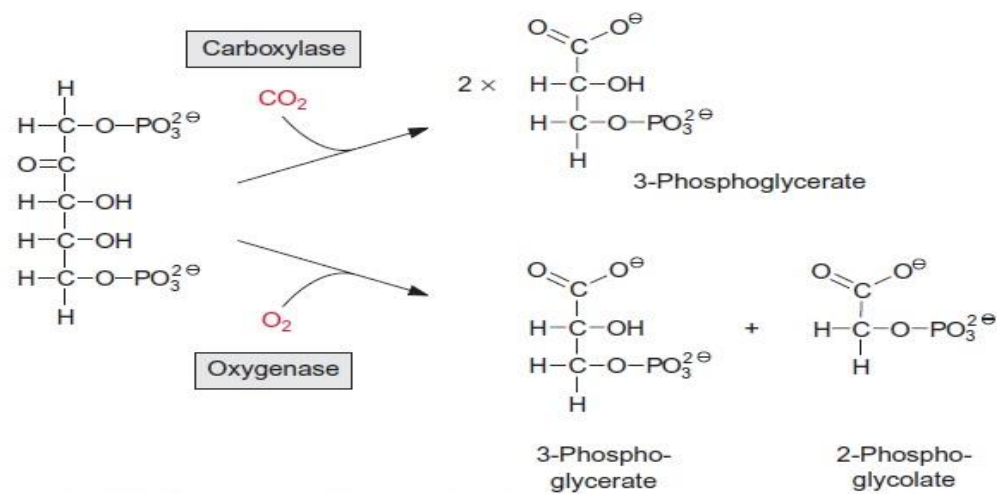
- La première correspond à son activité **carboxylase** (+CO₂) qui permet, à partir du RuBP, la formation de deux molécules d'**acide phosphoglycérique** ou **3-phosphoglycerate (PGA)**.

- La deuxième correspond à son activité **oxygénase** (photorespiration) qui permet, à partir du RuBP, la formation d'une molécule d'acide phospho-glycolique (ou 2-phosphoglycolate) et d'une molécule d'**acide phosphoglycérique** (PGA).

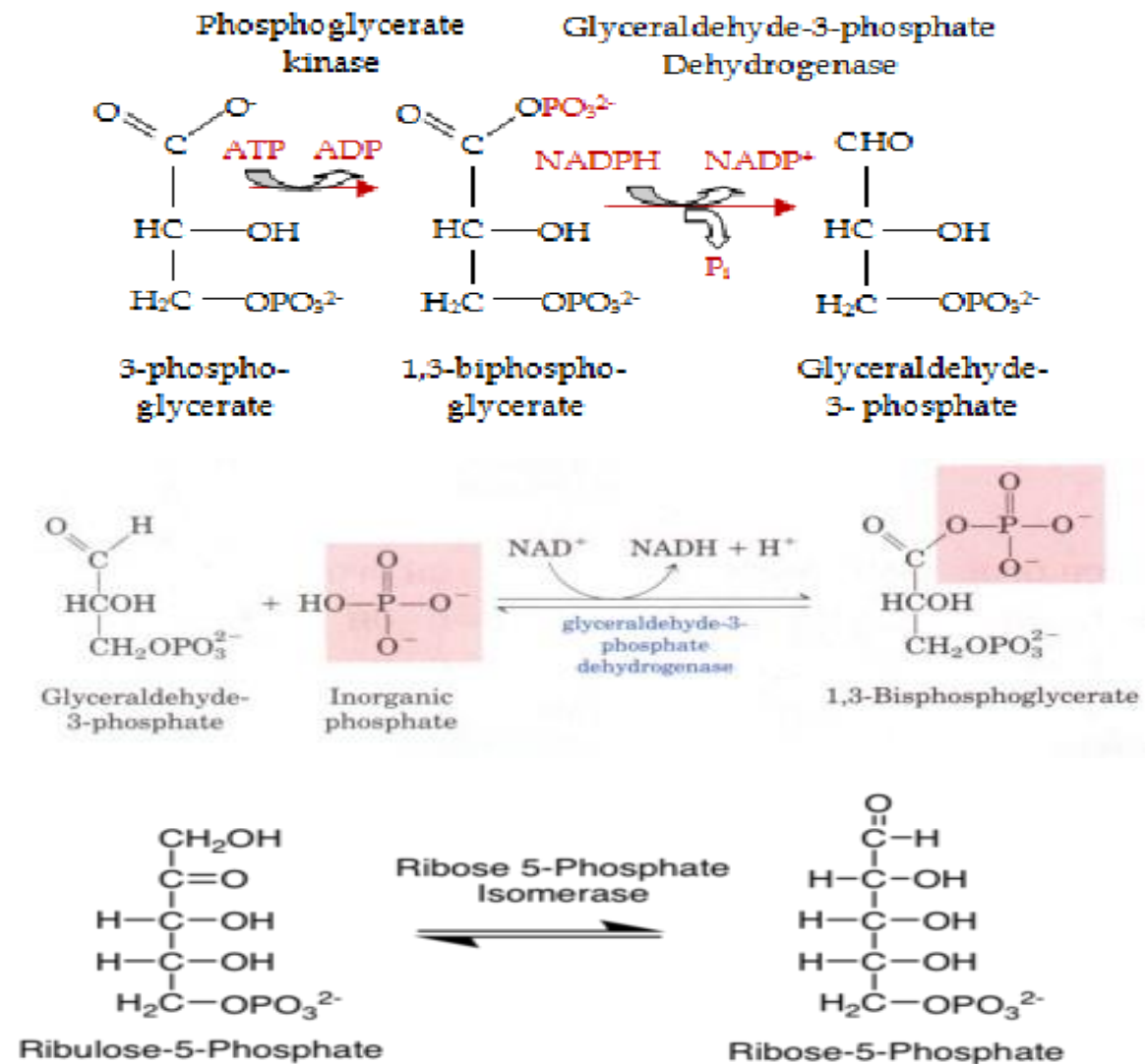
La photorespiration : est l'ensemble des réactions mises en œuvre par les organismes photosynthétiques à la suite de l'activité oxygénase de la Rubisco. En effet, cette enzyme intervient le plus souvent à travers son activité carboxylase, par laquelle une molécule de dioxyde de carbone CO₂ est fixée sur du ribulose-1,5-bisphosphate pour donner deux molécules de 3-phosphoglycérate qui sont métabolisées par le cycle de Calvin. Cependant, la Rubisco peut également oxyder le ribulose-1,5-

bisphosphate par une molécule d'oxygène O₂, ce qui donne une molécule de 3-phosphoglycérate et une molécule de 2-phosphoglycolate. Ce dernier ne peut être directement métabolisé par le cycle de Calvin et passe par une série de réactions qui, chez les plantes, font intervenir les chloroplastes, les peroxyosomes et les mitochondries des feuilles, où ces organites sont proches les uns des autres.

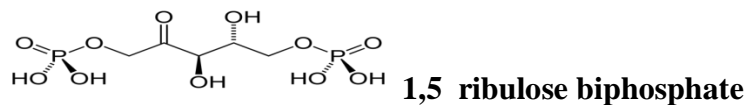
Cette seconde activité freine donc la photosynthèse, ne permettant pas la poursuite du cycle de Calvin. Il est important de préciser que l'activité de la Rubisco varie face à des variations de température. En vertu d'une propriété intrinsèque de cette enzyme et aussi à cause de l'effet différentiel de la température sur la solubilité du CO₂ et de l'O₂, le rapport de l'activité oxygénase sur l'activité carboxylase de la Rubisco varie dans le même sens que la température. Autrement dit la fixation du CO₂ par cette enzyme est favorisée à de faible température (**Guignard, 1996; Farineau et Morot-Gaudry, 2018**).



-La deuxième phase du cycle de Calvin correspondra à la réduction du 3-phosphoglycérate. Celui-ci sera tout d'abord phosphorylé par de l'ATP pour donner l'acide biphospho-glycérique, qui sera lui-même réduit par le NADPH pour former le 3-phosphoglyceraldéhyde (G3P) qui est un sucre.



ribulose-5-phosphate + ATP = ribulose-1,5-bisphosphate + ADP



-La 3^e phase Régénération de l'accepteur de CO₂. Le G3P formé peut avoir différentes destinées: un sixième de celui-ci sera utilisé par la cellule comme composant glucidique et les restants seront utilisés pour poursuivre le cycle de Calvin. La reformation du RuBP, qui sera réutilisée pour fixer le CO₂, se fera en plusieurs étapes et nécessitera l'utilisation d'ATP.

2.2.2. Synthèse des sucres

Comme vu précédemment, un 2e du 3-phosphoglyceraldéhyde (G3P) produit dans le cycle de Calvin va entrer dans les réactions métaboliques de la plante, dans lesquelles ils seront principalement transformés en glucides (anabolisme glucidique. L'anabolisme est l'ensemble des réactions chimiques de synthèse moléculaire de l'organisme considéré. Il est le contraire du catabolisme, ensemble des réactions de dégradation. Le catabolisme et l'anabolisme sont les deux composantes du métabolisme):

* Soit sous forme de saccharose (α -Glu-Fruct) qui est la forme de transporté dans la sève élaborée.

* Soit sous forme d'amidon qui est la forme de mise en réserve (α -1,4-Glu). Bilan • il faut 6 tours de cycle pour fabriquer 1 hexose (**Fig.31**).

Il faut donner 12 ATP pour phosphoryler 12 molécules de 3-P glycérate en 1,3 bisphosphoglycérate • 12 NADPH utilisés pour réduire 12 molécules de 1,3 bisphosphoglycérate en glyceraldéhyde 3-P.

Pour la formation de ces composés, il faut donc 6 molécules de CO₂ fixées, avec 6 tours de cycle et la consommation de 18 ATP et 12 NADPH. Le rendement est donc très faible (**Guignard, 1996; Farineau et Morot-Gaudry, 2018**).

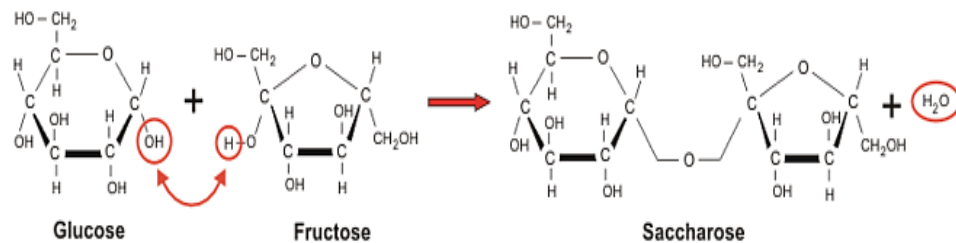
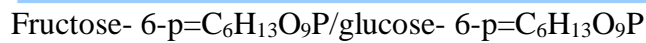
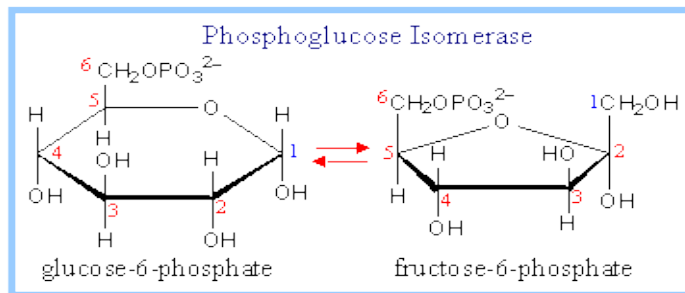
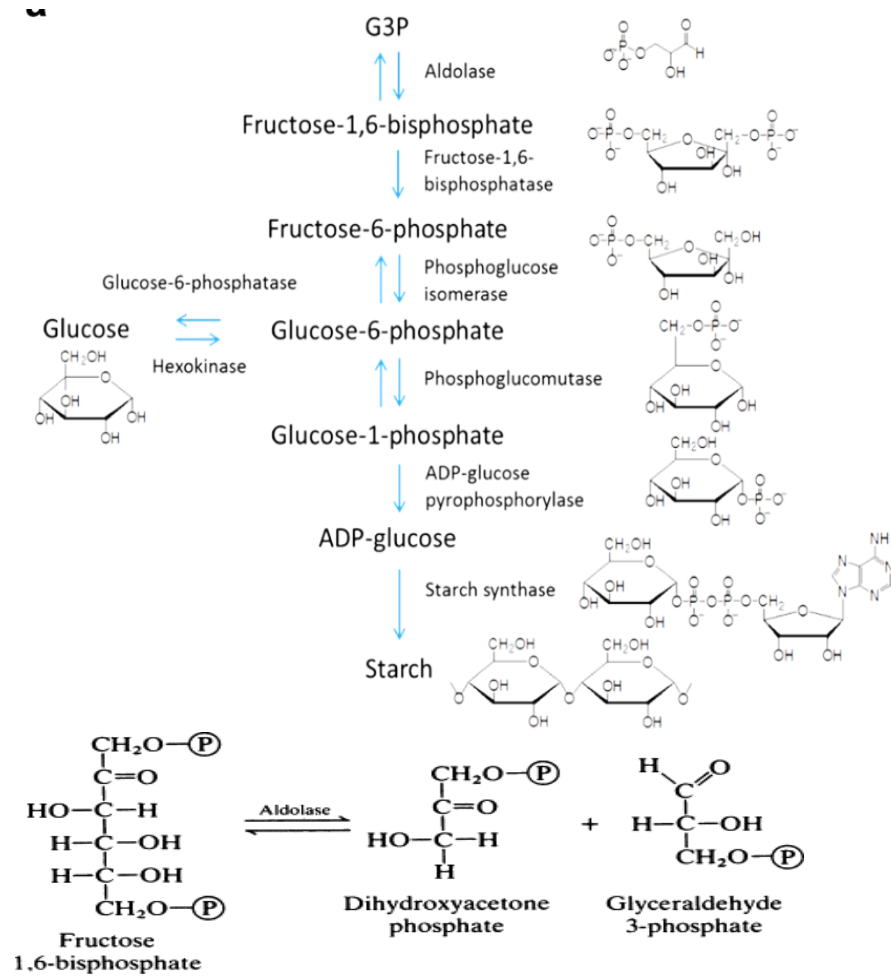


Fig.31 Synthèse des sucres. **Aldolase** : Enzyme, de la famille des lyases (catalyse la rupture de différentes liaisons chimiques par des moyens autres que l'hydrolyse ou l'oxydation,), catalysant la scission du fructose-1,6-bisphosphate en glycéraldéhyde-3-phosphate et dihydroxyacétone phosphate. La réaction est réversible. L'enzyme se nomme plus exactement : fructose-1,6-bisphosphate aldolase (il existe plusieurs autres aldolases).

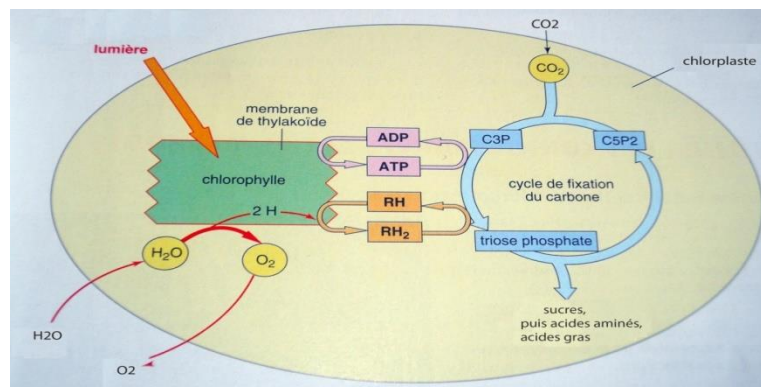
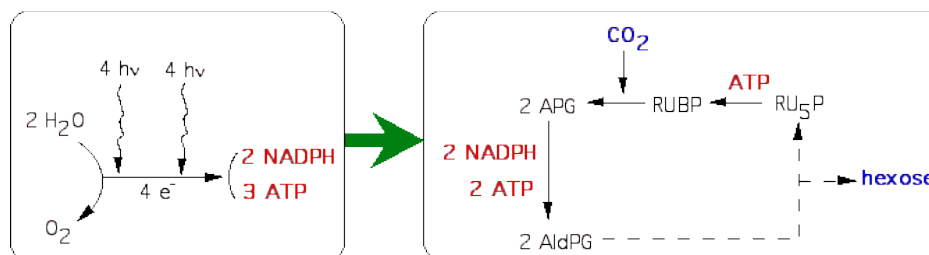
2.2.3 Rendement de la photosynthèse

- 1) Pour réduire le CO₂ en hexose = + 114 kcal /mole
- 2) Par tour de cycle de Calvin il faut 3 ATP et 2 NADPH or réduction NADP⁺ en NADPH : 2 e⁻
2 NADP⁺ : 4 e⁻

- Il faut donc:
- **6 molécules de CO₂ fixées, avec 6 tours de cycle et la consommation de 18 ATP et 12 NADPH.** Le rendement est donc très faible.

* Captage de 4 photons par PS II, puis 4 photons par PS I (soit 8 photons) 1 mole de photons a un contenu énergétique de 47,6 kcal (*kilocalorie*)

* $8 \times 47,6 = 381$ kcal. Efficacité de la photosynthèse : $114 \times 100 / 381 = 29,92\%$.



3. Mesure de l'activité photosynthétique

La photosynthèse nette est alors mesurée soit par le dégagement d'oxygène soit par la consommation de gaz carbonique (**mesure des échanges gazeux**).

L'intensité de la photosynthétique se définit par la quantité d'oxygène dégagé (ou de gaz carbonique absorbé) par l'unité de poids sec végétal (g.) pendant l'unité de temps (h). Elle est de 10 à 20 fois plus grande que l'intensité des échanges respiratoires qui se font en sens inverse :

*Analyse de l'air: La composition de l'air circulant est analysée à l'entrée puis à la sortie de la chambre expérimentale; la différence correspond à la quantité d'O₂ dégagé ou du CO₂ absorbé.

Les dosages de gaz peuvent se faire à l'aide de substances chimiques qui absorbent le CO₂ (ex potasse ou baryte) ou O₂ (ex pyrogallate de potasse ou phosphore) soit à l'aide de dispositifs magnétiques sensibles (analyseur à infrarouge pour CO₂, analyseur paramagnétique pour O₂, **Fig.32**) ou par méthodes manométriques (appareil de Warburg).



Fig.32 Analyseur de gaz extractif pour mesure d'O₂ paramagnétique

*Numération des bulles dégagées par un fragment de plante verte aquatique pendant un temps donné. On considère que toutes les bulles ont les mêmes dimensions, la bulle est considérée comme l'unité de volume de gaz dégagée.

Quelle que soit la méthode employée, il est indispensable de faire une mesure de la respiration : dégagement de CO₂ et absorption de O₂, en plaçant la plante à l'obscurité (par exemple) ou en utilisant des inhibiteurs de la photosynthèse (éther ou chloroforme, hydroxylamine NH₂OH). Ceci permet de corriger les résultats dus à la photosynthèse.

Cours 12

Photosynthèse et facteurs du milieu

Cours 12**Photosynthèse et facteurs du milieu**

Les variations de l'intensité de la photosynthèse peuvent être liées à des causes internes et surtout à l'action des facteurs externes.

1. Facteurs externes

Certains facteurs environnementaux ont un impact important sur l'efficacité de la photosynthèse :

- * La qualité et la quantité de la lumière (source d'énergie) ;
- * Teneur en CO₂ (source de carbone) ;
- * Et la température (qui affecte l'ensemble des réactions biochimiques (enzymes)).

Le spectre de la lumière visible est situé entre 400 nm (lumière bleue) et 700 nm (lumière rouge). Une feuille peut seulement utiliser la lumière visible pour faire la photosynthèse. En fonction de l'heure du jour, la qualité de la lumière va varier et par conséquent l'absorption de la lumière par la chlorophylle.

Les feuilles peuvent également être exposées à une quantité de lumière limitée (à l'ombre d'autres plantes), ou en excès (en plein soleil), ce qui va modifier le rendement photosynthétique. Certaines plantes vont s'adapter à leur environnement lumineux en modifiant l'orientation des feuilles en fonction de l'intensité et de la provenance de la source lumineuse, de manière à maximiser l'absorption de lumière. Les feuilles situées à l'ombre accumulent plus de chlorophylle de manière à capter plus de lumière.

En présence de quantité de lumière adéquate, la teneur en CO₂ est proportionnelle à l'efficacité de la photosynthèse. En effet, plus la concentration en CO₂ va augmenter, plus le taux de photosynthèse augmentera, et inversement.

Enfin, la température va influencer les étapes biochimiques de la photosynthèse. **Les plantes poussant dans un climat froid feront une meilleure photosynthèse à faible température, et inversement.**

1.1 Les différents types de photosynthèse: Plantes en C3, en C4 et CAM

Ces différences sont d'ordre métabolique, et constituent des adaptations des végétaux terrestres aux contraintes de leurs milieux. En particulier, certaines modalités du métabolisme végétal ne permettent pas la survie des plantes en milieu trop aride, c'est-à-dire que leur **capacité à fixer le carbone** (présent sous forme de CO₂CO₂), par l'équation bien connue de la photosynthèse:

$6 \text{ CO}_2 + 6 \text{ H}_2\text{O} \xrightarrow{h\nu} \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \text{ (glucose)} + 6 \text{ O}_2$
 6 CO₂+6 H₂O→hvC₆H₁₂O₆ (glucose) +6 O₂ est compromise du fait d'un manque d'eau.

a. Cas des plantes en C3

Les plantes en C3 convertissent le CO₂ en un composé à 3 carbones (l'acide phosphoglycérique ; PGA) avec la ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase / oxygénase (RuBisCO).

b. Cas des plantes en C4

Les plantes en C4 convertissent le CO₂ en un intermédiaire à 4 carbones (l'oxaloacetate - OAA).

Il existe 4 sous-types de plantes en C4, basés sur l'enzyme de décarboxylation de l'acide à 4 carbones : l'enzyme NADP-malique (NADP-ME) ou pyruvate phosphate dikinase (PPDK), l'enzyme phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) et la phosphoenolpyruvate carboxykinase (PCK).

Exemples de plantes en C4: Céréales à grains (Poacées, comme le maïs et la canne à sucre)

c. Cas des plantes en CAM

Les plantes CAM diffèrent des plantes en C4 car les plantes CAM fixent le CO₂ la nuit (Fig.33) pour le stocker en tant qu'intermédiaire à 4 carbones (l'acide malique, Mazliak, 1974).

Les plantes CAM ouvrent leurs stomates la nuit.

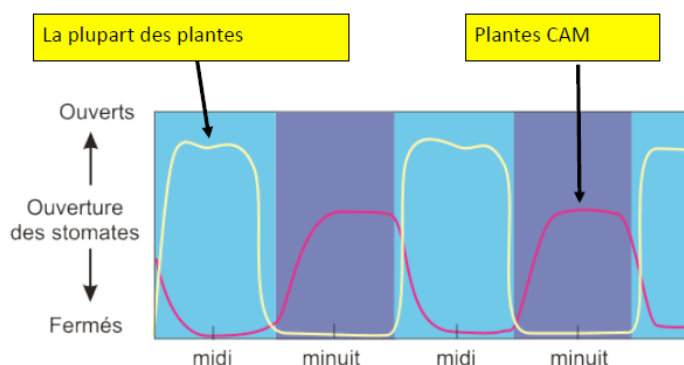


Fig.33 Les plantes CAM

CAM = **C**rassulacean **A**cid **M**etabolism

= métabolisme découvert chez des plantes appartenant à la famille des **Crassulaceae**

Ce type de métabolisme est présent dans de nbres autres familles de plantes (~ 20 familles).

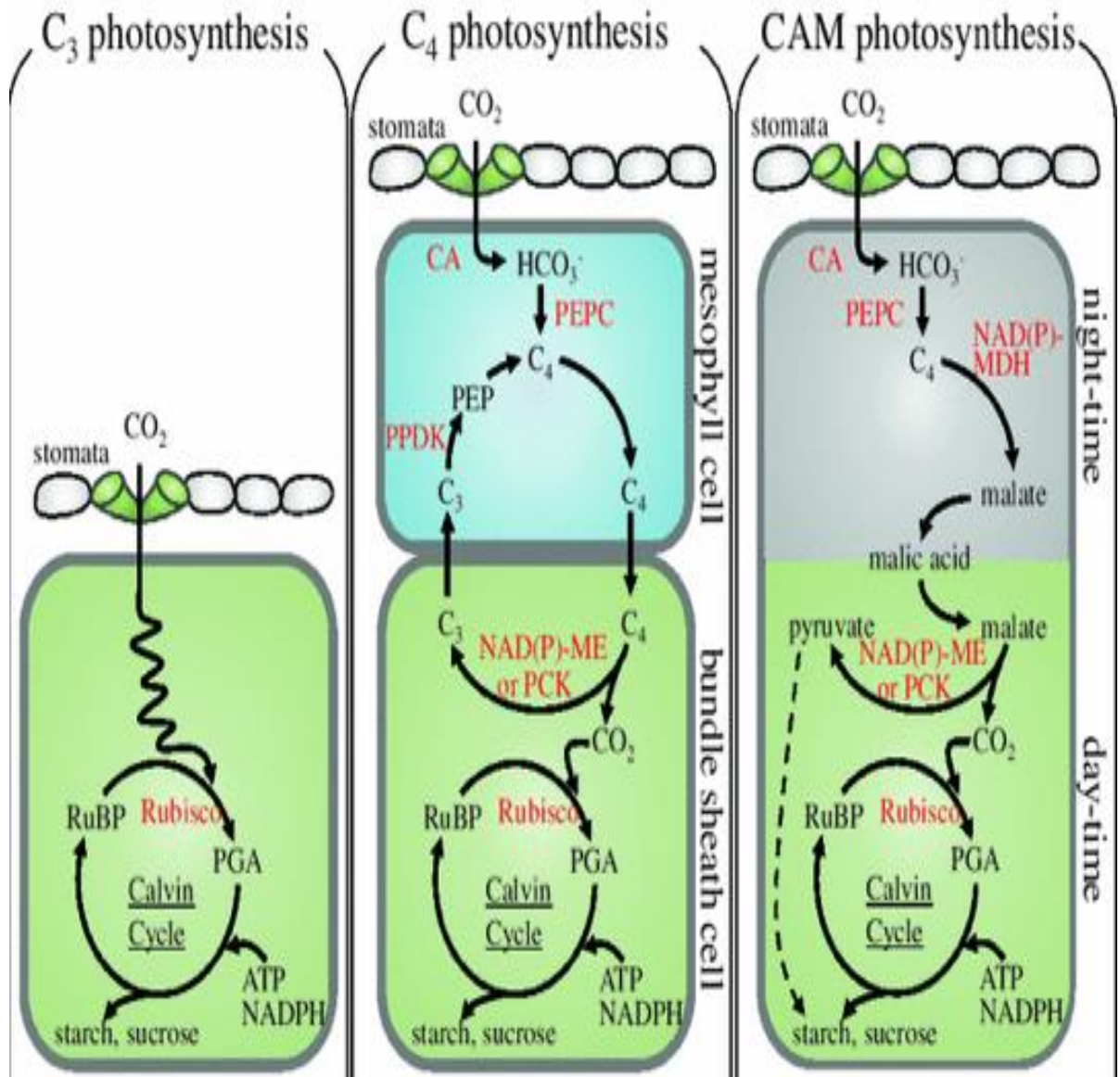
Il existe 3 sous-types de CAM, basés sur l'enzyme de décarboxylation de l'acide à 4 carbones : l'enzyme NAD(P) -ME ou PCK et PEPC.

- Exemples de plantes CAM : L'ananas et l'agave (plante grasse ou succulente : avec des feuilles charnues capables de stocker l'eau, sont vertes toute l'année, tolèrent bien les périodes de sécheresse, **Fig.34**).



Fig.34 Agave

1.2. Etude comparative de mécanisme de photosynthèse des plantes en c3, c4 et CAM



Les métabolismes C3 C4 ont des couts energetiques differents

~ 95% des 260,000 espèces connues de plantes = C₃

~ 5% = C₄

C₃ : Il faut 18 ATP pour produire un glucose (3 ATP par CO₂)
C₄ : Il faut 30 ATP pour produire un glucose (5 ATP par CO₂)

→ **Le métabolisme C4 est une adaptation à l'aridité.**

Même si le taux de photosynthèse est élevé (chaleur, température élevée, lumière abondante) la photorespiration est minimisée.

- les plantes en C4 fixent plus de CO₂ que les C3, donc, leur production de biomasse est plus importante
- La diminution de l'activité oxygénante de la Rubisco entraîne une faible photorespiration
- Les C4 utilisent la lumière forte → Permet d'importantes synthèses d'ATP et NADP
- Le système de fixation contribue à économiser l'eau

Efficiéce d'utilisation de l'eau

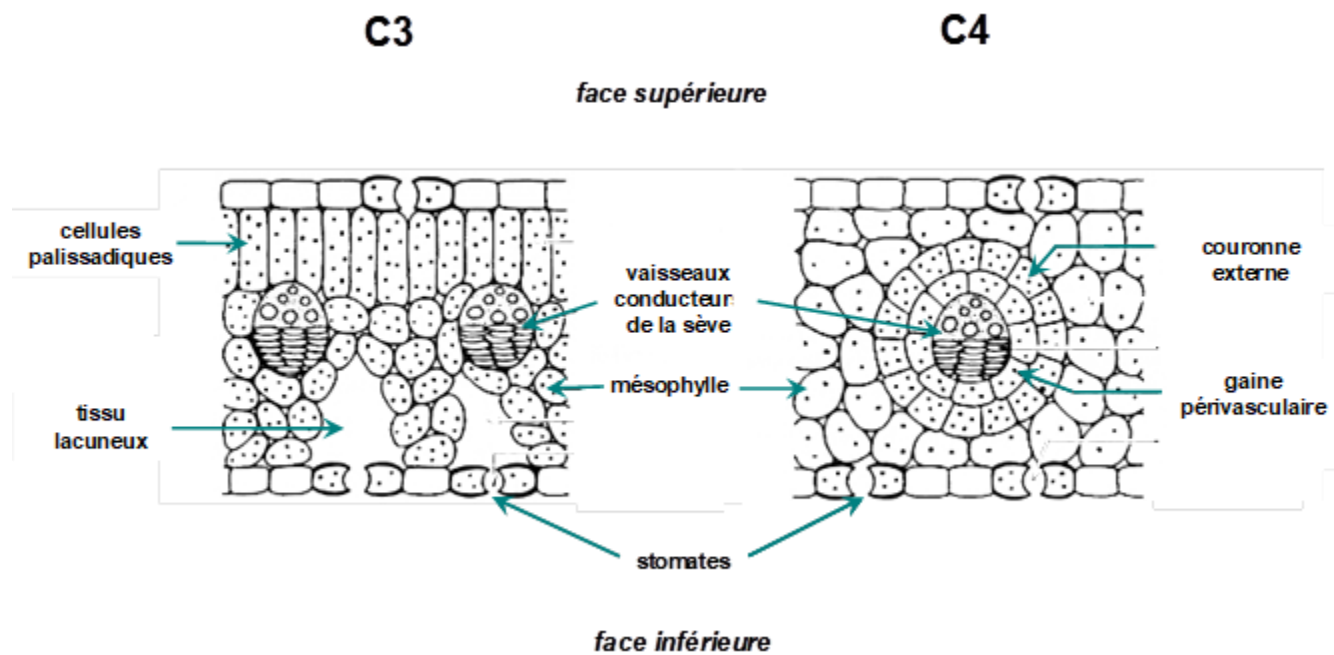
Plantes C4 utilisent moins d'eau que C3 → les stomates sont moins ouvertes

La perte de l'eau par gramme de CO₂ incorporé

- Les plantes C3 400-500 grammes
- Les plantes C4 250-300 grammes
- Les plantes CAM 50-100 grammes

→ Les plantes en CAM et C4 valorisent mieux l'eau.

1.3. Anatomie comparée (Fig.35)



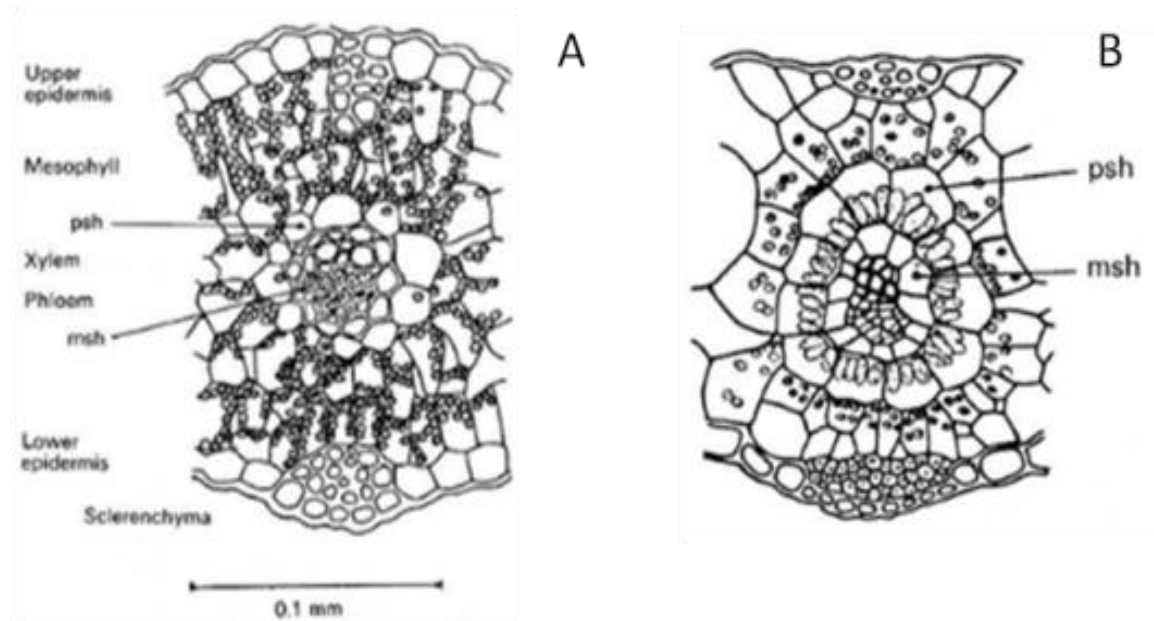


Fig.35 Anatomie comparée de feuilles de plantes en C3 et en C4 (coupes transversales²)

1.4 Tolérance au gel

Des variations dans les teneurs en hexoses (glucose et fructose) se sont avérées être corrélées à la tolérance au gel. Deux hypothèses ont été proposées par plusieurs chercheurs pour expliquer cette corrélation; plusieurs études *in vitro* ont montré que les deux hexoses, glucose et fructose confèrent une protection aux composants cellulaires pendant la congélation: par ex. **le glucose** stabilise les protéines tandis que **le fructose** préserve la structure de bicouches phospholipidiques. D'autre part, il a été montré que l'accumulation intracellulaire de sucre soluble réduit la température à laquelle l'eau cellulaire se cristallise lors d'un lent refroidissement (à des températures inférieures à zéro), ceci permet d'éviter la glace intracellulaire. La formation par dépression du point de congélation est une stratégie majeure utilisée par les plantes pour survivre à l'hiver. Concernant le saccharose aucune corrélation n'a été détectée (Amimi et al., 2020).

2. Facteurs internes :

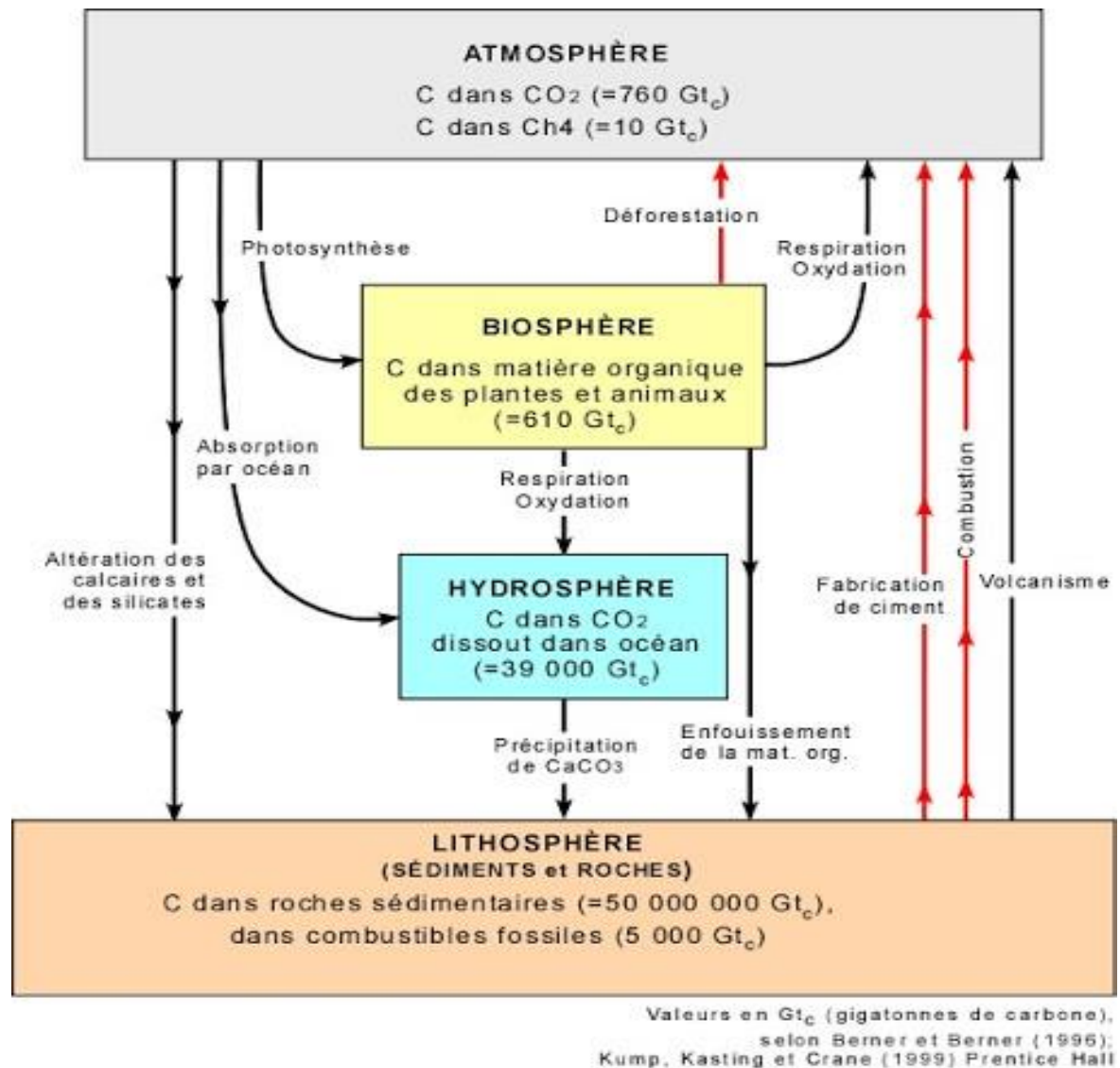
-Teneur en chlorophylle qui intervient seulement comme condition limitante. La chlorophylle absorbe très fortement dans les régions bleu et rouge de la lumière, c'est pourquoi la lumière réfléchissante est verte, donnant la couleur verte des feuilles.

-Ouverture des stomates et épaisseur de la cuticule qui agissent sur les échanges gazeux

-Etat physiologique des cellules et âge des feuilles

-Structure anatomique des feuilles.

3- Cycle de carbone



*Le carbone dans le sol

Le stock de carbone organique présent dans les sols naturels présente un équilibre dynamique entre les apports de débris végétaux et de déjections animales et la perte due à leur décomposition. Tous les sols ne stockent pas la même quantité de carbone selon leur nature et surtout leur utilisation. Ainsi, limiter le labour ou maintenir la forêt améliore le stockage du carbone dans le sol.

*Le carbone dans la plante

Les plantes absorbent le carbone du CO₂ de l'air par photosynthèse, lors de leur croissance. Le carbone est alors stocké dans les végétaux. En fin de cycle cultural ou

en fin de saison pour les cultures pérennes, les résidus retournent au sol. Après dégradation de ceux-ci, le carbone s'organise pour donner des molécules de plus en plus complexes et de plus en plus stables.

Dans le cycle court du carbone qui s'étale sur moins de un siècle et qui affecte l'équilibre du CO₂ dans l'atmosphère:

*La photosynthèse utilise l'énergie solaire pour synthétiser la matière organique et fixer le carbone dans les glucides (sucres) (CH₂O)_n

*La fermentation, en milieu aérobie (présence d'oxygène) produit du dioxyde de carbone et en milieu anaérobie (absence d'oxygène) du méthane (l'hydrocarbure le plus simple, avec une seule molécule de carbone³).

Chapitre V

Le catabolisme (Nutrition énergétique)

Cours13

Catabolisme respiratoire

Cours13**Catabolisme respiratoire****1-Définitions**

*Catabolisme : Phase du métabolisme qui comprend les processus de dégradation des composés organiques, avec dégagement d'énergie et élimination des déchets.

*La respiration cellulaire : absorption d'O₂ et dégagement de CO₂, elle se fait en présence de la lumière et à l'obscurité ; est une réaction chimique d'oxydo-réduction qui fournit l'énergie nécessaire à une cellule pour fonctionner. Une espèce chimique (atome, molécule, ion) qui capte un ou plusieurs électrons est un oxydant. Une espèce chimique qui donne un ou plusieurs électrons est un réducteur (quand un réducteur perd des électrons, il s'oxyde et quand un oxydant capte des électrons, il se réduit). Ces réactions sont appelées des réactions d'oxydoréduction. Puisqu'un donneur d'électrons nécessite un receveur d'électrons, l'oxydation et la réduction vont toujours ensembles.

La respiration cellulaire nécessite :

- * un carburant : il s'agit du glucose (molécule la plus importante), d'acides gras ou d'autres molécules organiques (ex acides aminés) ;
- * un comburant, le dioxygène.

Cette réaction produit :

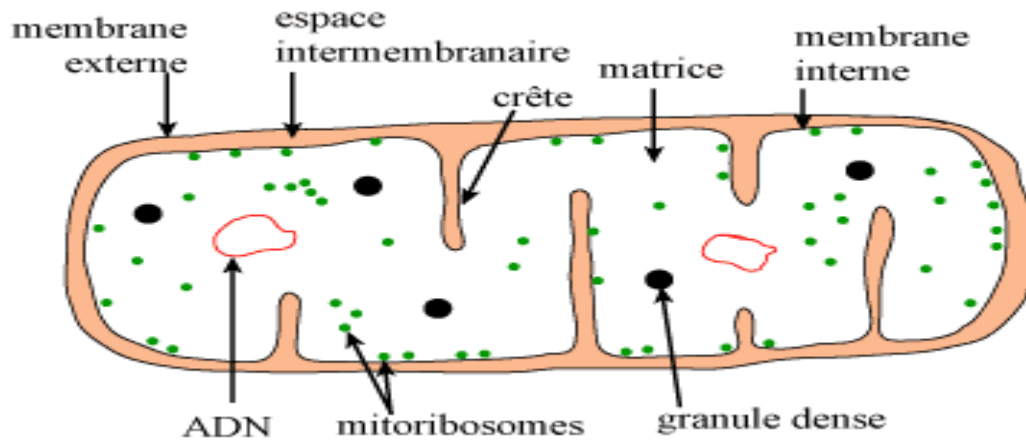
- * du dioxyde de carbone ;
- * de l'eau
- * de l'ATP (adénosine triphosphate)

2- Localisation

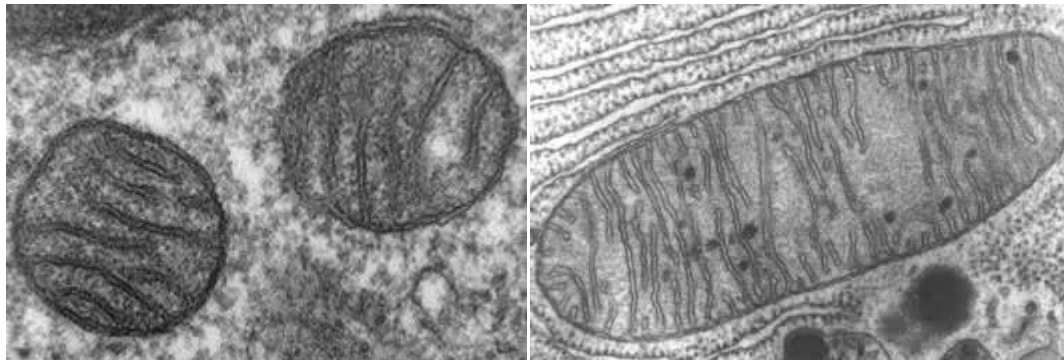
La mitochondrie (du grec "mitos" = "filament" et "khondros" = "grain"), est le siège de la respiration cellulaire. L'ensemble des mitochondries d'une cellule dont le nombre peut aller jusqu'à 300 à 800, forme le chondriome (ce qui constitue jusqu'à 25 % de la masse cellulaire).

Très nombreuses dans les cellules jeunes et/ou très actives, qui demandent beaucoup d'énergie les mitochondries sont des organites car elles constituent des unités fonctionnelles de la cellule; elles en sont les "usines énergétiques". Elles omniprésentes (qui est partout) dans toute cellule végétale ou animale.

La forme des mitochondries peut varier d'un type cellulaire à l'autre ou dans une même cellule en fonction de son activité: grains ou bâtonnets courts de 0,5 µm sur 1 µm ou plus, ou filament long et flexueux, parfois bifurqués (**Guignard, 1996, Fig.36**).



a



b

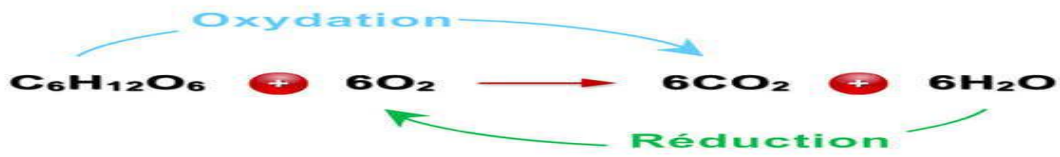
Fig.36 Présentation d'une mitochondrie mettant en évidence les chambres et protéines membranaires qui la composent. **a** : Schéma de la mitochondrie. **b** : Mitochondries observées aux microscope électronique à transmission.

3. Mécanisme de la respiration cellulaire

Le NADH (nicotinamide adénine dinucléotide) est seulement riche en énergie mais il ne la stocke pas. Il donnera au cours de la respiration cellulaire, son énergie à l'ATP. La respiration cellulaire se fait donc en trois étapes :

- * La glycolyse (Hyaloplasme ; Substance fondamentale du cytoplasme, gel riche en eau, en substances protéiques et en ions, dans lequel baignent les organites.) ;
- * Le cycle de Krebs (matrice mitochondriale) ;
- * La chaîne respiratoire (membrane interne de la mitochondrie, **Guignard, 1996**).

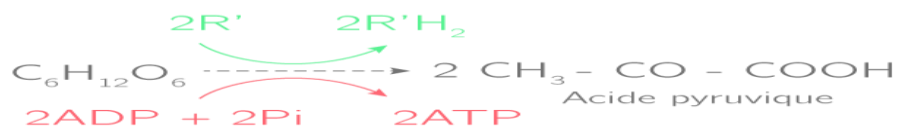
La réaction globale :

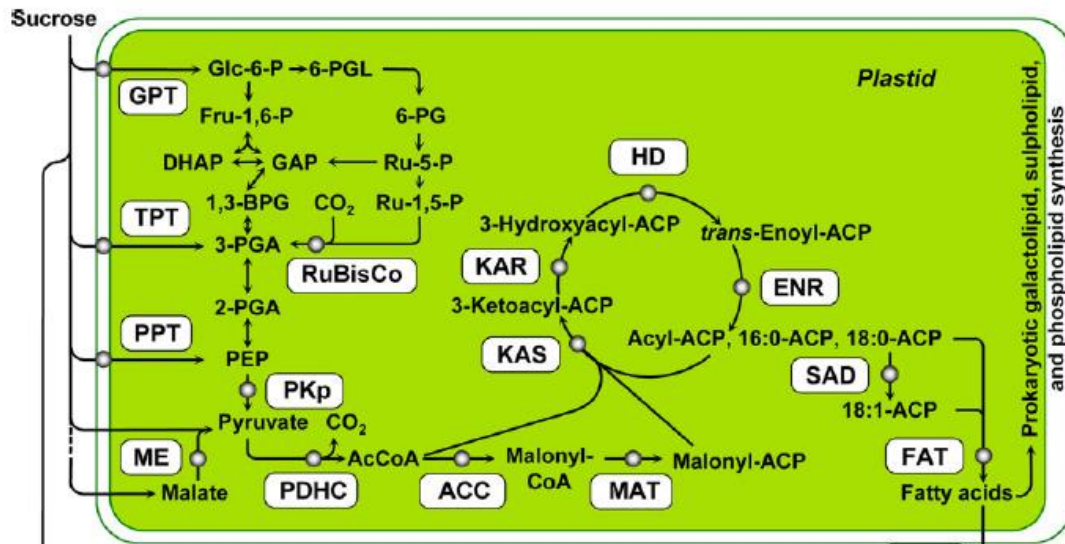


Chaque NADH formé pendant la respiration cellulaire représente une petite réserve d'énergie.

3.1. Première étape : la glycolyse (Bonjean, 1993 in Roche, 2005 ; Baud et Lepiniec, 2010; Marchive et al., 2014, Fig.37)

Le glucose est oxydé jusqu'à former du pyruvate (ou acide pyruvique, molécule à trois atomes de carbone) :



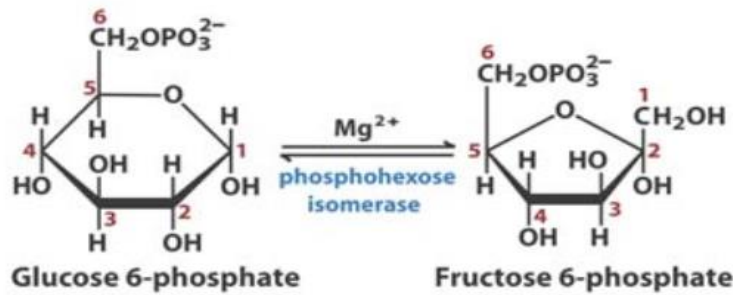


(Marchive et al., 2014)

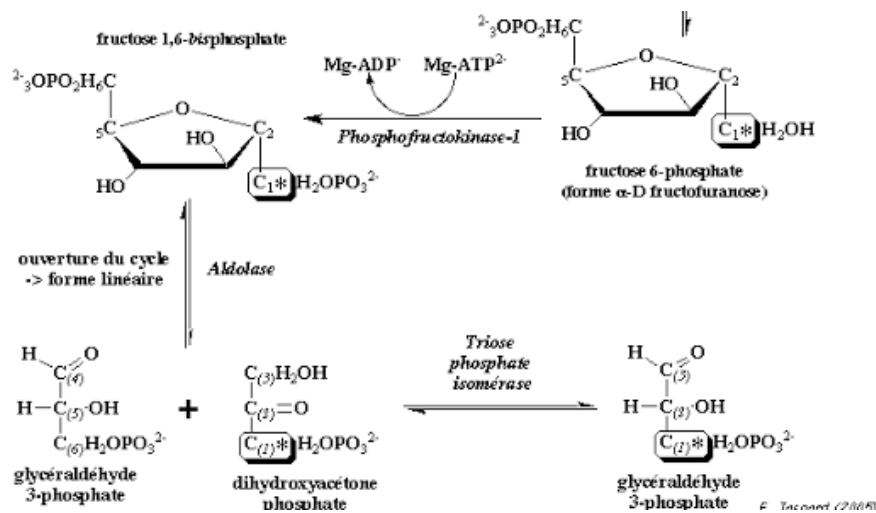
Fig.37 Glycolyse chez les plantes. The enzymes that catalyze the numbered reactions are as follows: 1, hexokinase; 2, phosphorylase; 3, phosphoglucomutase; 4, phosphoglucose isomerase; 5, PFK; 6, ALD; 7, triose phosphate isomerase; 8, NAD-dependent GAPDH (phosphorylating); 9, 3-PGA kinase; 10, phosphoglyceromutase; 11, enolase; 12, PK; 13, invertase; 14, sucrose synthase; 15, UDP-glucose pyrophosphorylase; 16, nucleoside diphosphate kinase; 17, a- and b-amylases; 18, PFP; 19, NADP-dependent GAPDH (nonphosphorylating); 20, PEPase; 21, PEPC; 22, MDH; 23, ME. Abbreviations are as in the text or as follows: Glu-1-P, glucose-1-phosphate; DHAP, dihydroxyacetone phosphate; G3P, glyceraldehyde-3-phosphate; 1,3-DPGA, 1,3-diphosphoglycerate; 2-PGA, 2-phosphoglycerate; OAA, oxaloacetate. ®, indicates physiologically irreversible reactions; 3 or « indicate physiologically reversible reactions. Note that the number of substrate and product molecules in all reactions from G3P to pyruvate should be doubled because two molecules of G3P are formed from one molecule of hexose; PEP, phosphoénolpyruvate.

a- Au cours de la glycolyse, le glucose est d'abord converti en **glucose 6-phosphate**. Grâce à l'hexokinase. C'est une kinase, enzyme catalysant les transferts d'un groupement phosphate d'une molécule à une autre. Cette réaction s'effectue par couplage de l'hydrolyse de l'ATP en ADP + Pi, car cette réaction demande de l'énergie: c'est une synthèse.

b- Le **glucose 6-P** est ensuite converti en **fructose 6-P** par une autre enzyme, la phosphohexose isomérase (capable de transformer une molécule en l'un de ses isomères (molécules ont la même formule brute mais des structures différentes)). Il s'agit d'une isomérisation (conversion de la molécule en l'un de ses isomères) réaction réversible catalysée par une isomérase.



c- Le **fructose 6-P** est ensuite converti en **fructose 1,6 diphosphate** par la phosphofruktokinase. Cette réaction s'effectue aussi grâce à l'hydrolyse d'une molécule d'ATP.

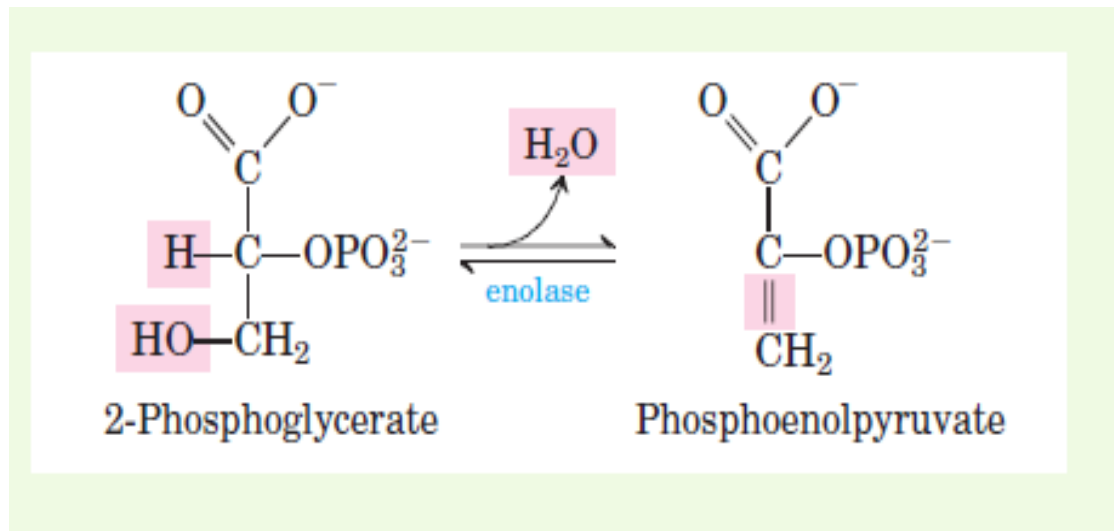


*Aldolase: Enzyme qui aide à transformer le glucose en énergie; groupe des lyases (cassent les liaisons covalentes, créant souvent de nouvelles doubles liaisons).

d- Le **fructose 1,6 diphosphate** est converti en **phosphoglyceraldéhyde (G3P)**.

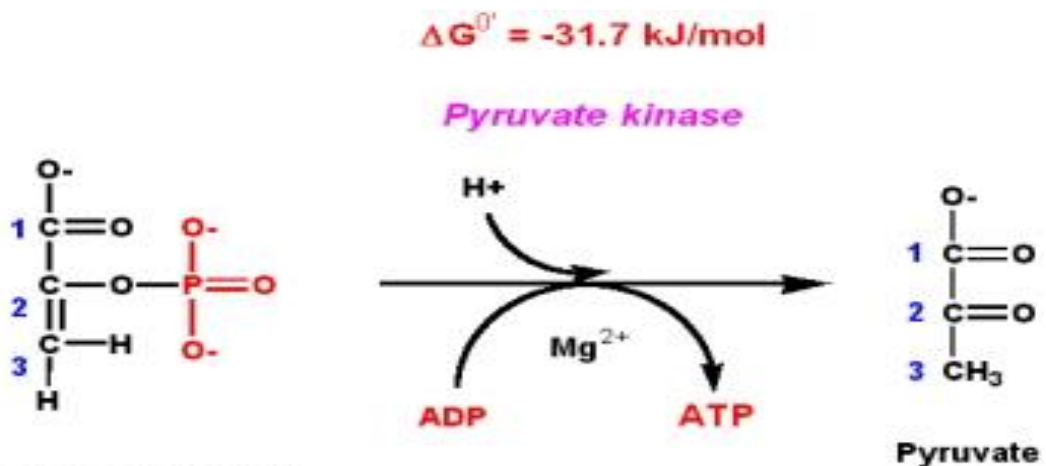
e- Le **phosphoglyceraldéhyde (G3P)** est oxydé en **1,3-diphosphoglycérate (PGA)**.

f- Et le PGA est converti en phosphoénolpyruvate (PEP).



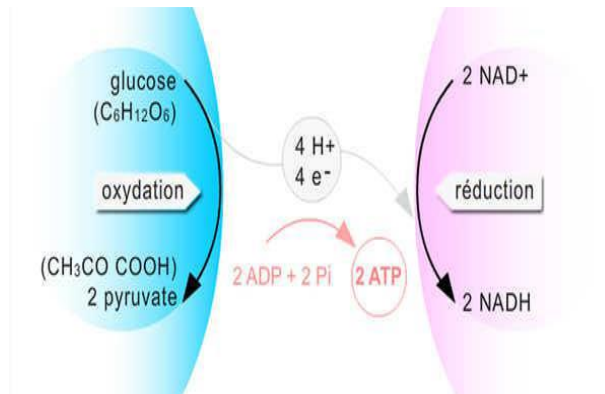
Enolase =métalloenzyme responsable de la catalyse qui convertit PGA en PEPE **2-phosphoglycérate (PGA) perd une molécule d'eau** en présence d'une **enzyme émolase** et d'**ions magnésium** et se transforme en **phosphoénolpyruvate (PEP)**. Ce dernier subit un réarrangement moléculaire qui transforme son groupe phosphate en une liaison phosphate de haute énergie. Puisqu'il s'agit d'une **perte de molécule d'eau**, il s'agit d'une réaction de **déshydratation**

g- Et ainsi de suite jusqu'à l'étape finale de la formation du pyruvate.



Phosphoenolpyruvate

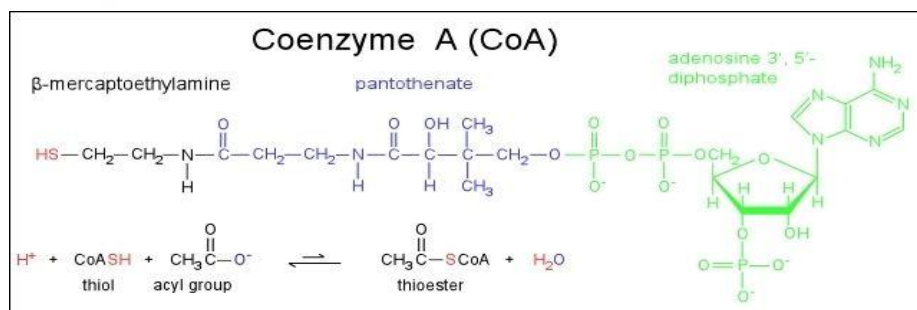
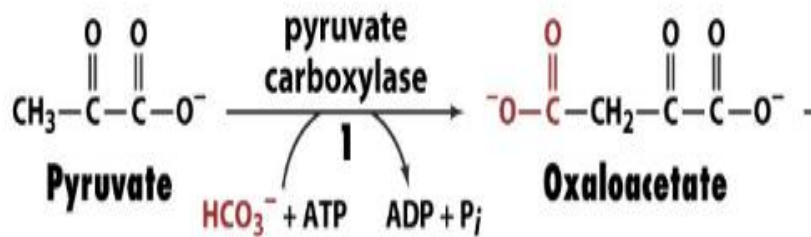
Bilan de la glycolyse : Au final **2 molécules d'ATP** ont été produites pour 1 molécule de glucose. Ce bilan est faible comparé aux autres étapes de la respiration cellulaire. Cette première étape produit du pyruvate qui sera par la suite consommé par le cycle de Krebs en aérobiose (présence d'oxygène), après passage dans une mitochondrie.



3.2. Deuxième étape: Cycle de Krebs (Fig.38)

Le cycle de Krebs ou cycle de l'acide citrique (citrate) est au centre du métabolisme cellulaire. Le cycle de Krebs se déroule donc dans la matrice de la mitochondrie en aérobose.

Il se produit une oxydation du pyruvate qui permet la formation de 10 composés réduits NADH. Le pyruvate subit aussi une décarboxylation (retrait des atomes de carbone) totale qui conduit à la libération de dioxyde de carbone (déchet de la respiration). Une fois dégradé par la glycolyse, le glucose en pyruvate est transformé en acétylcoenzyme A (acétyl CoA) et oxaloacétate. Ces deux composés sont le point de départ du cycle de Krebs.



a

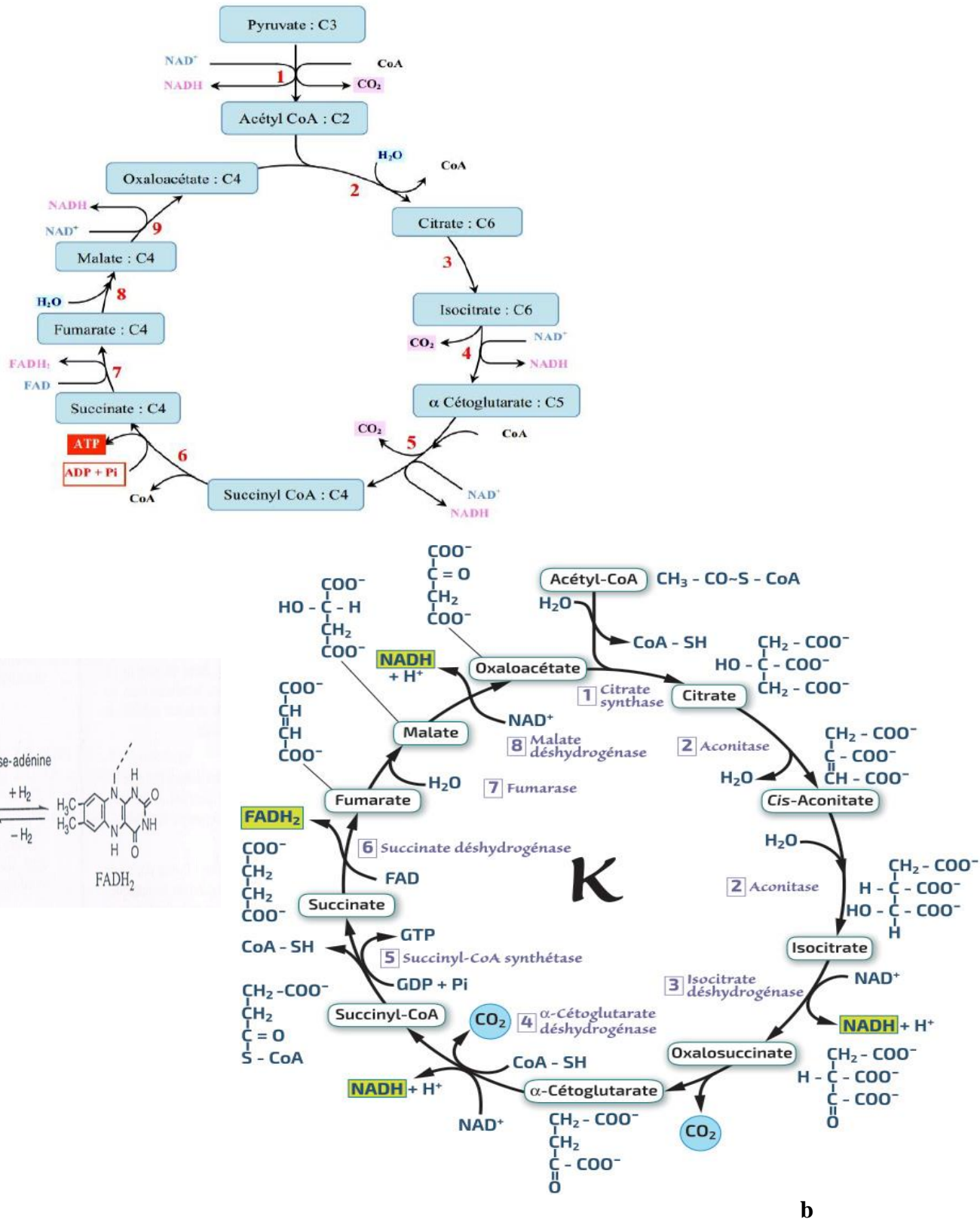


Fig.38 Réactions du cycle de Krebs. a, Structure de CoA . b,Cycle de Krebs ; c, Formule de la flavine adénine nucléotide (FAD) : co-facteur des flavoprotéines (Guignard, 1996).

Étapes du cycle de Krebs :

a- Synthèse du citrate : Cette réaction est catalysée par la citrate synthétase permettant la synthèse du **citrate**.

b- Déshydratation du citrate Cette réaction de déshydratation réversible est catalysée par une lyase (enzyme : cis-aconitase), produit du **cis-aconitate**.

c- Hydratation du cis-aconitate Cette réaction est réversible et catalysée par la même enzyme qu'à l'étape précédente. L'addition d'eau sur la double liaison a lieu dans une position différente : il y a synthèse **d'iso-citrate**.

d- Oxydation de l'iso-citrate Cette réaction réversible est catalysée par une oxydoréductase: l'isocitrate déshydrogénase. C'est donc une réaction d'oxydoréduction avec échange d'électrons : les NAD⁺ sont réduits en NADH, H⁺ (avec le proton libéré dans le milieu).

e- Décarboxylation de l'oxalosuccinate : Il y a libération du dioxyde de carbone (CO₂) lors de cette réaction irréversible.

f- Décarboxylation oxydative de l'a-cétoglutarate : Cette réaction d'oxydoréduction est la même que celle permettant le passage du pyruvate à l'acétylCoA. Le complexe enzymatique fait intervenir de nombreuses enzymes dans cette réaction. Il y a, de plus, libération de CO₂ et réduction des NAD⁺.

g- Formation du succinate : Cette réaction réversible est catalysée par une transférase, la succinate thiokinase. Cette réaction est couplée à la synthèse d'ATP. Cette enzyme transfère la liaison riche en énergie du succinyl-coenzyme A (ou **succinate-CoA**) pour la synthèse d'ATP.

h- Oxydation du succinate : Cette réaction est catalysée par une enzyme la succinate déshydrogénase (catalyse l'oxydation du **succinate** en fumarate).

i- Hydratation du fumarate : Cette réaction d'addition d'une molécule d'eau (H₂O) est catalysée par une lyase, la fumarase.

j- Oxydation du malate : Il y a formation d'**oxaloacétate**, réaction d'oxydoréduction catalysée par le malate déshydrogénase (oxydoréductase). Les composés oxydés sont réduits en NADH.

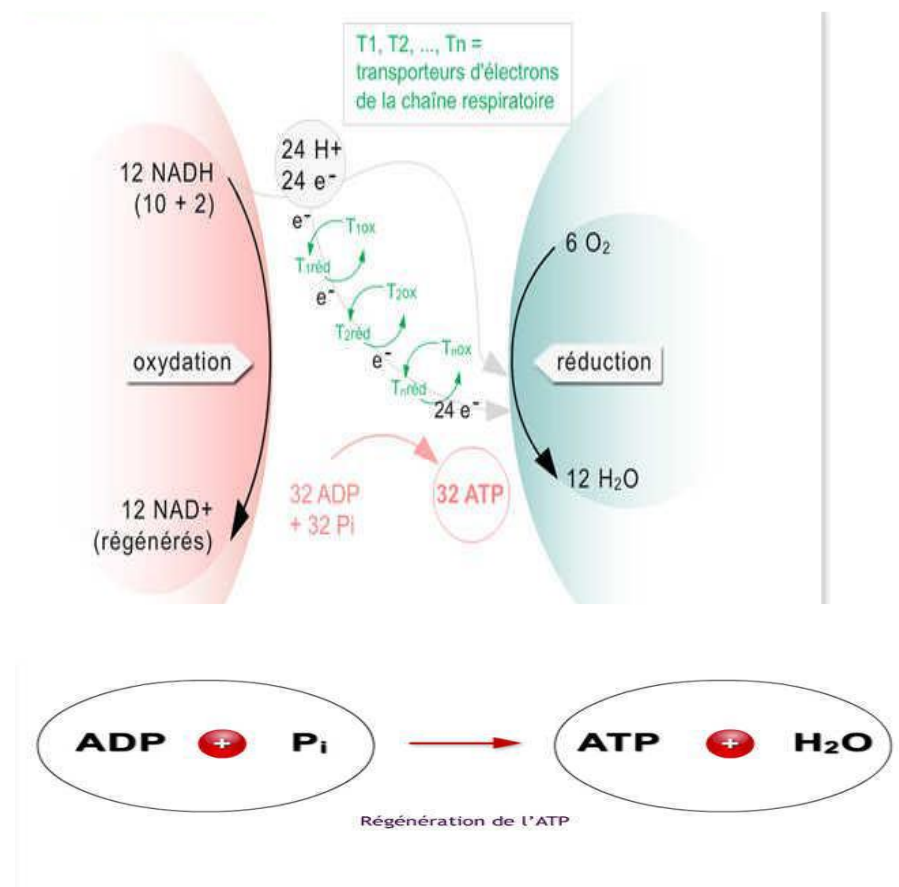
Bilan : Dans la matrice mitochondriale, le pyruvate est ainsi entièrement dégradé selon la réaction suivante : $2 \text{CH}_3\text{COCOOH}$ (pyruvate) + 10 NAD⁺ + 6 H₂O → 6 CO₂ + 10 NADH + couplage énergétique 2 ADP + 2 Pi → 2 ATP.

3.3. Troisième étape : La chaîne respiratoire :

Pour réoxyder les NADH, il faut passer par une chaîne de transport d'électrons : c'est une série de protéines insérées dans la membrane interne de la mitochondrie (**Fig.39**). Ces dernières sont alignées en ordre énergétique, la première molécule a plus

d'énergie que la dernière. La première de la chaîne capte une paire d'électrons ($2e^-$) à chaque NADH (un proton H^+ est aussi cédé dans le milieu afin que les NADH se régénèrent en NAD^+) et les transfère à la molécule adjacente. Il existe 5 ensembles de complexes impliqués dans la chaîne respiratoire. Les 4 premiers (I, II, III et IV) interviennent dans le transport des électrons et le cinquième (V) intervient dans la synthèse d'ATP. Au fur et à mesure de ce transport, les électrons " perdent " de leur énergie. Finalement, en bout de chaîne, ils sont acceptés par le dioxygène (O_2) qui se combine à des protons du milieu pour former de l'eau ($2H^+ + 2e^- + O_2 \rightarrow H_2O$). L'énergie " perdue " par les électrons et la présence des protons H^+ permettent d'activer une enzyme, l'ATP synthase, localisée elle aussi dans la membrane interne. Cette enzyme catalyse la production d'ATP en grande quantité. Il y a 12 NADH : 10 provenant du cycle de Krebs et 2 de la glycolyse.

Transport des molécules d'ATP formées : Les molécules d'ATP ainsi formées se retrouvent dans la matrice mitochondriale. Pour passer dans le cytoplasme, elles empruntent un anti-transport, une protéine permettant de faire passer de l'ATP dans le sens matrice mitochondriale puis dans l'espace intermembranaire puis dans le cytoplasme et de l'ADP dans le sens inverse.



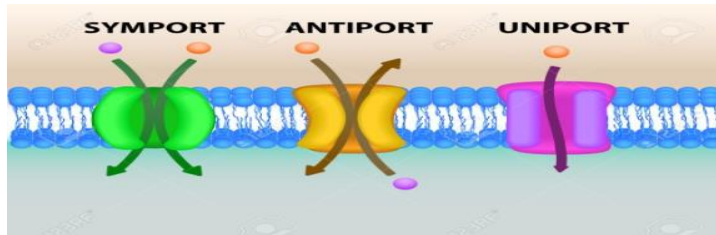
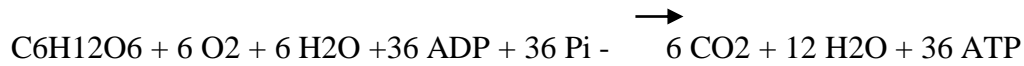


Fig.39 La chaîne respiratoire

La diversité des réactions d'oxydoréduction s'explique par la mobilité de l'électron.

4. Bilan de la respiration cellulaire (Tab.4) :

À partir d'une molécule de glucose, la glycolyse a permis de synthétiser 4ATP, le cycle de Krebs 2 et la chaîne respiratoire 32. Un total de 38 ATP moins les 2 ATP utilisés par la glycolyse soit 36 ATP.



NADH ne figurent pas dans l'équation car au final leur quantité produite s'annule.

En effet, lors de la glycolyse 2 NAD⁺ sont réduits en 2 NADH, durant le cycle de Krebs, 10 NAD⁺ sont réduits en 10 NADH et enfin pendant la chaîne respiratoire 12 NADH sont oxydés en 12 NAD⁺ (Nabors, 2008).

Tab.4 Bilan énergétique de la respiration pour une molécule de glucose

Hyaloplasme	Glycolyse : 2ATP+2R'H
Matrice mitochondriale	Cycle de Krebs : 2ATP+10R'H2
Membrane interne des mitochondries	-Chaîne respiratoire : Régénération des R' et réduction de O2 et H2O -ATP synthases : 32 ATP
Bilan énergétique	36ATP

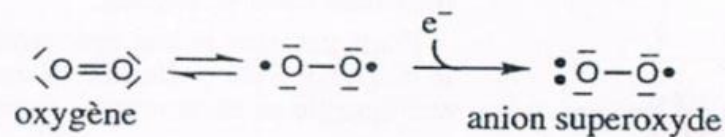
5- Intensité respiratoire

Intensité respiratoire (IR) : est égale au volume de CO₂ dégagé en cm³ ou le volume d'O₂ absorbé en cm³ pendant l'unité du temps 1h et par unité de poids sec 1g.

6. Photooxydation

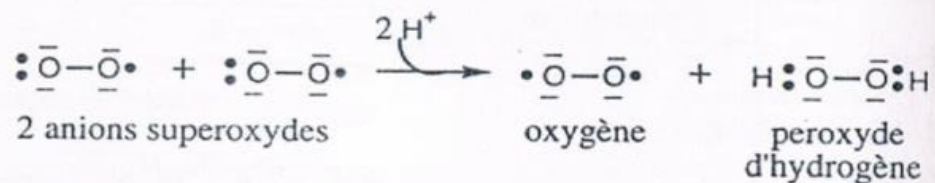
Photooxydation. – Il peut arriver que, momentanément, le flot des électrons excède la capacité de fixation du CO₂. Cela peut arriver lors de *forts ensoleillements* et, plus particulièrement, en cas de *stress hydrique*, lequel entraîne la fermeture des stomates et donc l'arrêt de la fourniture de dioxyde de carbone.

Il se forme un environnement réducteur favorable à la production d'*ion superoxyde* O₂^{•-} au pouvoir oxydant puissant en raison d'un électron non apparié :



L'ion superoxyde s'attaque notamment aux lipides insaturés et *détruit les lipides membranaires des thylacoïdes*.

L'oxygène superoxyde est pour sa part *décomposé* par une *superoxydismutase* (SOD) en oxygène et peroxyde d'hydrogène :



Le peroxyde d'hydrogène est à son tour réduit par la *glutathion peroxydase* deux GSH, en se dimérisant en GS-SG, libèrent deux hydrogènes qui transforment la molécule de peroxyde d'hydrogène en deux molécules d'eau :



Ces deux dernières réactions sont *très générales* (par exemple le SOD intervient dans le métabolisme des globules blancs polynucléaires).

(Guignard, 1996)

Cours 14

Bilan respiration/photosynthèse et
rôle de la glycolyse dans les
métabolismes des espèces
oléoprotéagineuses

Cours 14 Bilan respiration/photosynthèse et rôle de la glycolyse dans les métabolismes des espèces oléoprotéagineuses

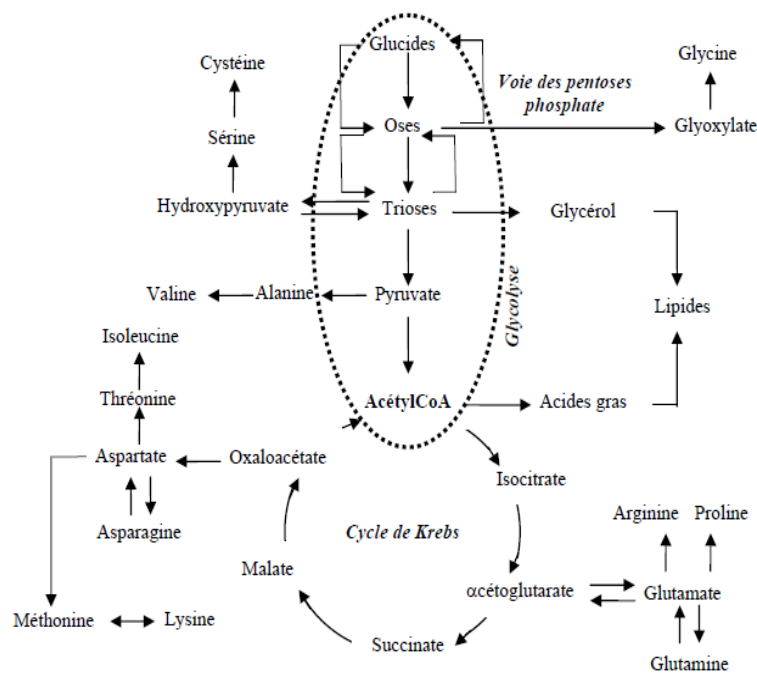
1. Le bilan respiration/photosynthèse

Nous constatons que les échanges gazeux qui se produisent lors de la photosynthèse et ceux de la respiration sont opposés :

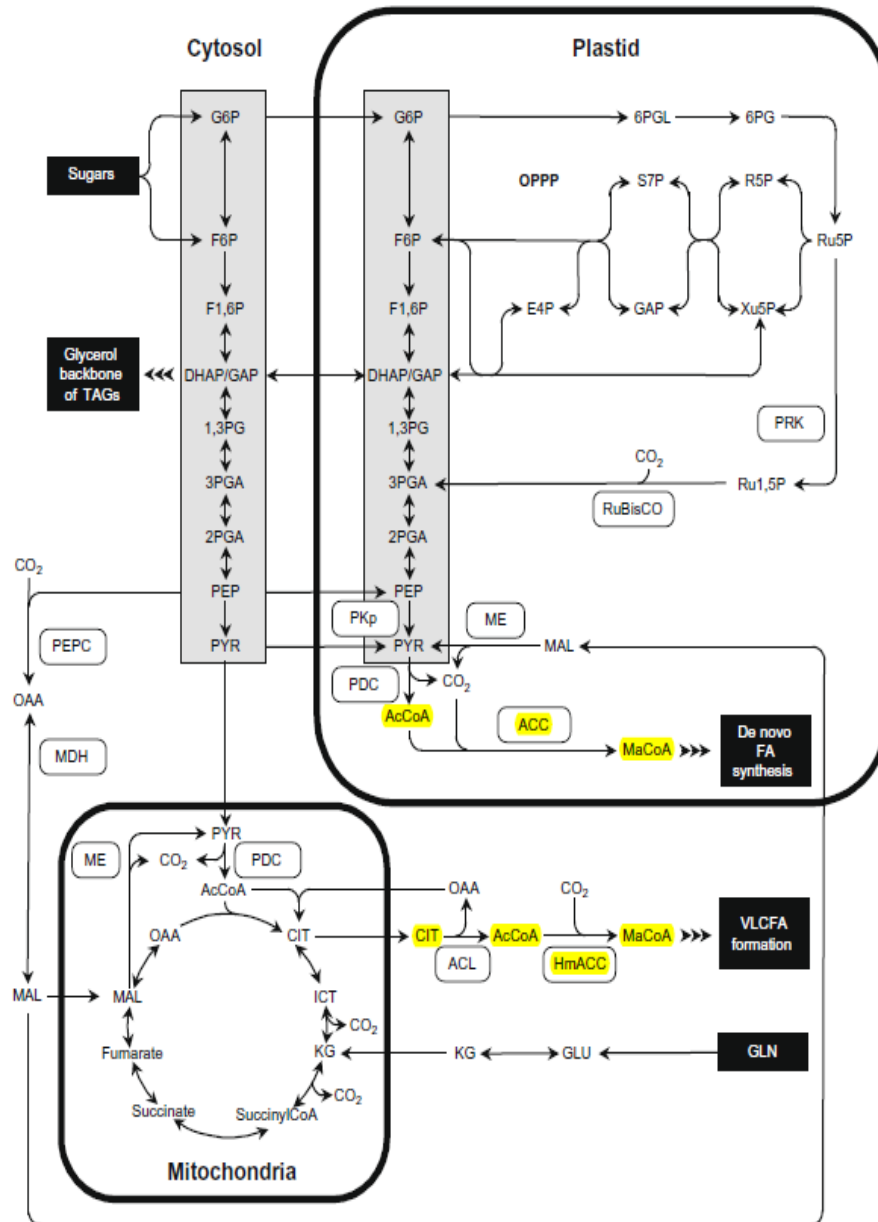
*À l'obscurité : la quantité de dioxygène (O_2) dans le milieu diminue lentement puisque la plante elle respire. Elle absorbe du dioxygène et rejette du dioxyde de carbone (CO_2). Il n'y a pas de photosynthèse.

*À la lumière : la quantité de O_2 augmente car les végétaux chlorophylliens respirent également mais ce phénomène est masqué par la photosynthèse dans laquelle les végétaux absorbent du CO_2 et rejettent du O_2 ⁴.

2. Rôle de la glycolyse dans les métabolismes des espèces oléoprotéagineuses (arachide, colza et tournesol) et oléagineuses (Sésame, palmier à huile, olivier, cocotier (coprah), noyer, noisetier, amandier, fig.40).



a



b
Fig.40 Rôle de la glycolyse dans les métabolismes des espèces oléoprotéagineuses. **a** (source: **Bonjean, 1993 in Roche, 2005**) / **b**. Simplified scheme of central metabolism in maturing oilseeds. Arrows represent potential fluxes of carbon. Glycolytic sequences are shaded in grey. ACC, acetyl-CoAcarboxylase; AcCoA, acetyl-coenzyme A; ACL, ATP-citrate lyase; CIT, citrate; DHAP, dihydroxyacetone-3-phosphate; E4P, erythrose-4-phosphate; FA, fatty acid; F1,6P, fructose-1,6-bisphosphate; F6P, fructose-6-phosphate; GAP, glyceraldehyde-3-phosphate; G6P, glucose-6-phosphate; HmACC, homomeric acetyl-CoA carboxylase; ICT, isocitrate; KG, alpha-ketoglutarate; MaCoA, malonyl-coenzyme A; MAL, malate; MDH, NAD-dependent malate dehydrogenase; ME, malic enzyme, note that the mitochondrial isoform is NAD-dependent whereas the plastidial isoform is NADP-dependent; OAA, oxaloacetate; OPPP, oxidative pentose phosphate pathway; PDC, pyruvate dehydrogenase complex; PEP, phosphoenolpyruvate; PEPC, phosphoenolpyruvate carboxylase; 6PG, 6-phosphogluconate; 6PGL, 6-phosphogluconolactone; 1,3PG, 1,3- bisphosphoglycerate; 2PGA, 2-phosphoglycerate; 3PGA, 3-phosphoglycerate; PKp, plastidial pyruvate kinase; PRK, phosphoribulokinase; PYR, pyruvate; R5P, ribose-5-phosphate; Ru1,5P, ribulose-1,5-bisphosphate; Ru5P, ribulose-5-phosphate; RuBisCO, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; S7P, sedoheptulose-7-phosphate; VLCFA, very long-chain fatty acid; Xu5P, xylulose-5-phosphate (**Baud et Lepiniec, 2010**).

Chapitre VI

Métabolisme associé

Cours 15

Les lipides

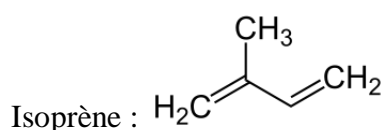
Cours 15

Les lipides

1. Introduction

Les lipides sont des molécules organiques insolubles dans l'eau et solubles dans les solvants organiques apolaires (ne comporte pas de liaisons polarisées ou dont les charges partielles positives et négatives ont le même barycentre) comme benzène, chloroforme, éther. Ils sont caractérisés par la présence dans la molécule d'au moins un acide gras.

Les catégories lipidiques sont rattachés aux lipides, en raison de leur insolubilité dans l'eau, les tocophérols, les stéroïdes, la vitamine D (nom chimique est le calciférol, vitamine liposoluble, a un rôle essentiel dans la qualité du tissu osseux et musculaire ainsi que dans le renforcement de notre système immunitaire), les terpènes, qui sont des dérivés polyisopréniques (isoprène : 2-méthylbuta-1,3-diène de son nom chimique, est un monomère dont la polymérisation forme le caoutchouc naturel (latex) ou synthétique).



Les corps gras végétaux jouent un rôle majeur dans l'alimentation (74%) et dans de nombreux autres secteurs comme l'oléochimie (10%) ou plus récemment le secteur de l'énergie (11%) avec la production des biocarburants (**Dyer et al., 2008 ; Durrett et al., 2008 ; Carlsson, 2009**). La production mondiale des huiles végétales est en constante augmentation (+3% par an depuis 30 ans). Elle repose essentiellement sur quatre cultures – le palmier à huile, le soja, le colza et le tournesol– et s'élevait à 169 millions de tonnes en 2009 (**Dyer et al., 2008; Omont, 2010**).

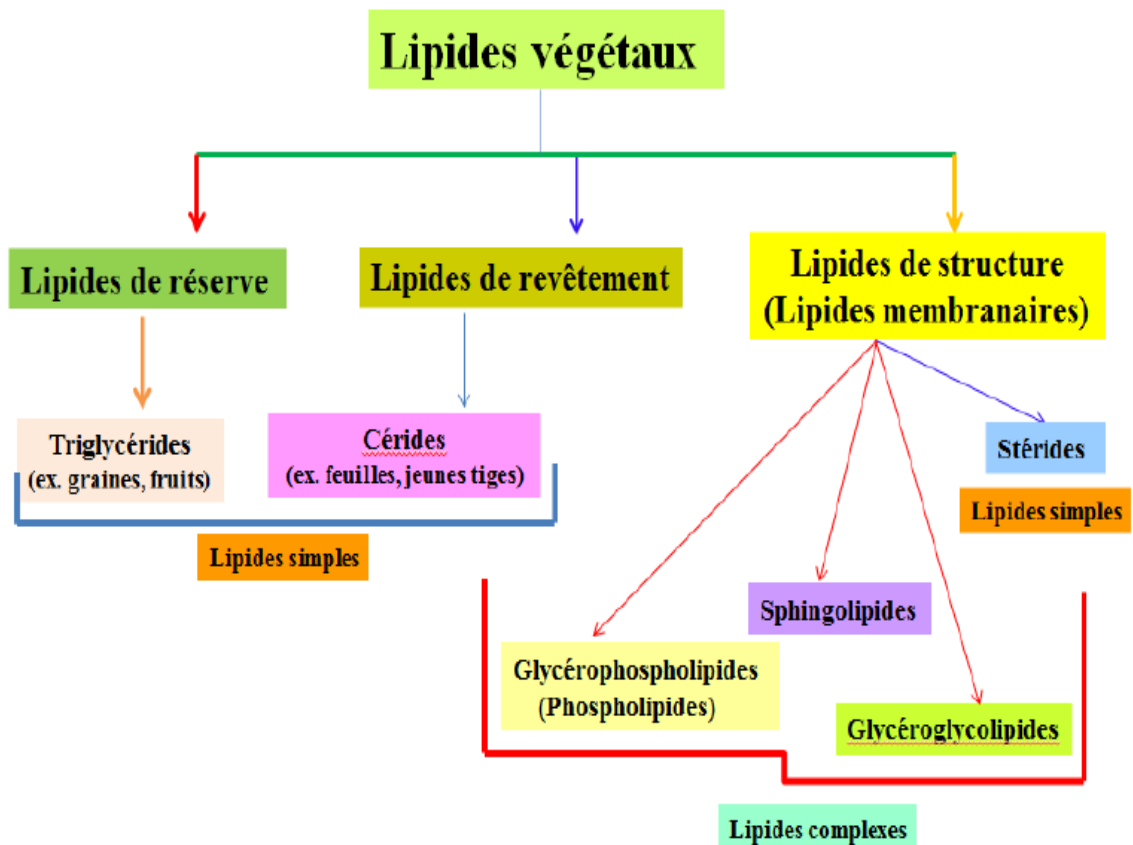
Les corps gras végétaux sont extraits le plus souvent des graines (embryon ou albumen) mais également du mésocarpe de certains fruits. Ils sont constitués de triacylglycérols (TAG), composés d'une molécule de glycérol estérifiée par trois acides gras (AG). Les AG sont des acides carboxyliques à chaîne aliphatique. Ils varient par la longueur de leur chaîne carbonée et du nombre et de la position des double-liaisons. Leur nomenclature se présente sous la forme CXX:Y où X représente la longueur de la chaîne et Y le nombre de double-liaisons.

La valeur et l'usage d'un corps gras végétal sont principalement déterminés par sa composition en AG (**Dyer et al., 2008**). Pour les huiles de table, par exemple, la

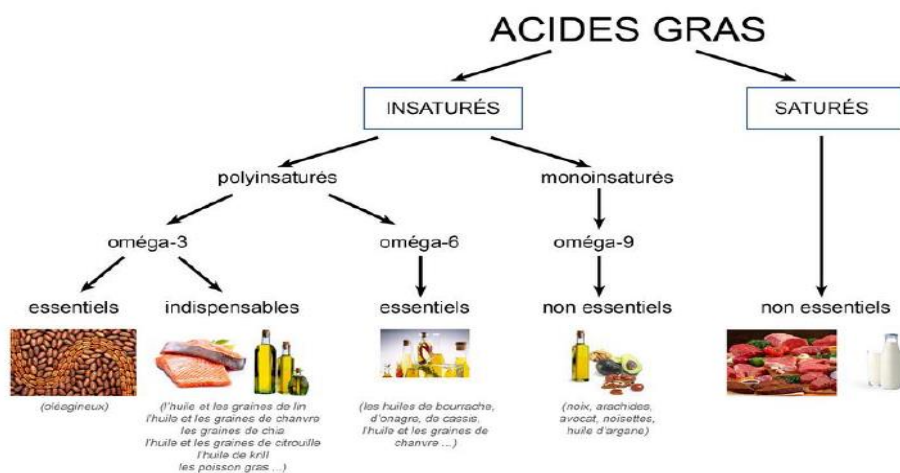
présence de 15% d'AG essentiels comme les acides linoléique (C18:2, ω 6) et linoléique (C18:3, ω 3) est recherchée pour leur impact positif sur la santé humaine (Anses, Saisine n° 2006-SA-0359, ANC AG). Dans l'industrie des savons, ce sont les AG de longueur de chaîne moyenne (AGCM) (C12-C14), comme par exemple l'acide laurique (C12:0), qui sont utilisés car ce sont d'excellents tensioactifs. Enfin, pour la production de biocarburants, une proportion élevée en acide oléique (C18:1) est recommandée pour améliorer les performances en matière de qualité de l'allumage, d'émissions de monoxyde d'azote et de stabilité du carburant (**Durrett *et al*, 2008**).

Au sein des plantes, il existe une très grande diversité pour la composition en AG des lipides accumulés dans les graines (embryon ou albumen) ou dans le mésocarpe de certains fruits (palmiers, olivier, avocatier). Certaines huiles, comme celle extraite du mésocarpe du palmier à huile ou celle stockée dans l'albumen de la graine de caféier, sont composées à part égale d'acides gras saturés et insaturés. Chez d'autres plantes, comme le cocotier ou les espèces du genre *Cuphea*, l'huile accumulée dans leurs graines contient essentiellement des AG à chaîne courte (C8-C10) et moyenne. Enfin, chez la plupart des cultures oléagineuses, comme le tournesol et le soja, la graine (embryon) accumule une huile riche en AG insaturés (C18:1 et C18:2, **Guerin, 2012**).

2. Rôle des lipides végétaux



On distingue deux grands groupes d'acides gras en fonction de leur formule chimique: les acides gras saturés, qui ne possèdent aucune double liaison (dans les lipides des animaux surtout) et les acides gras insaturés (présents dans les huiles végétales).



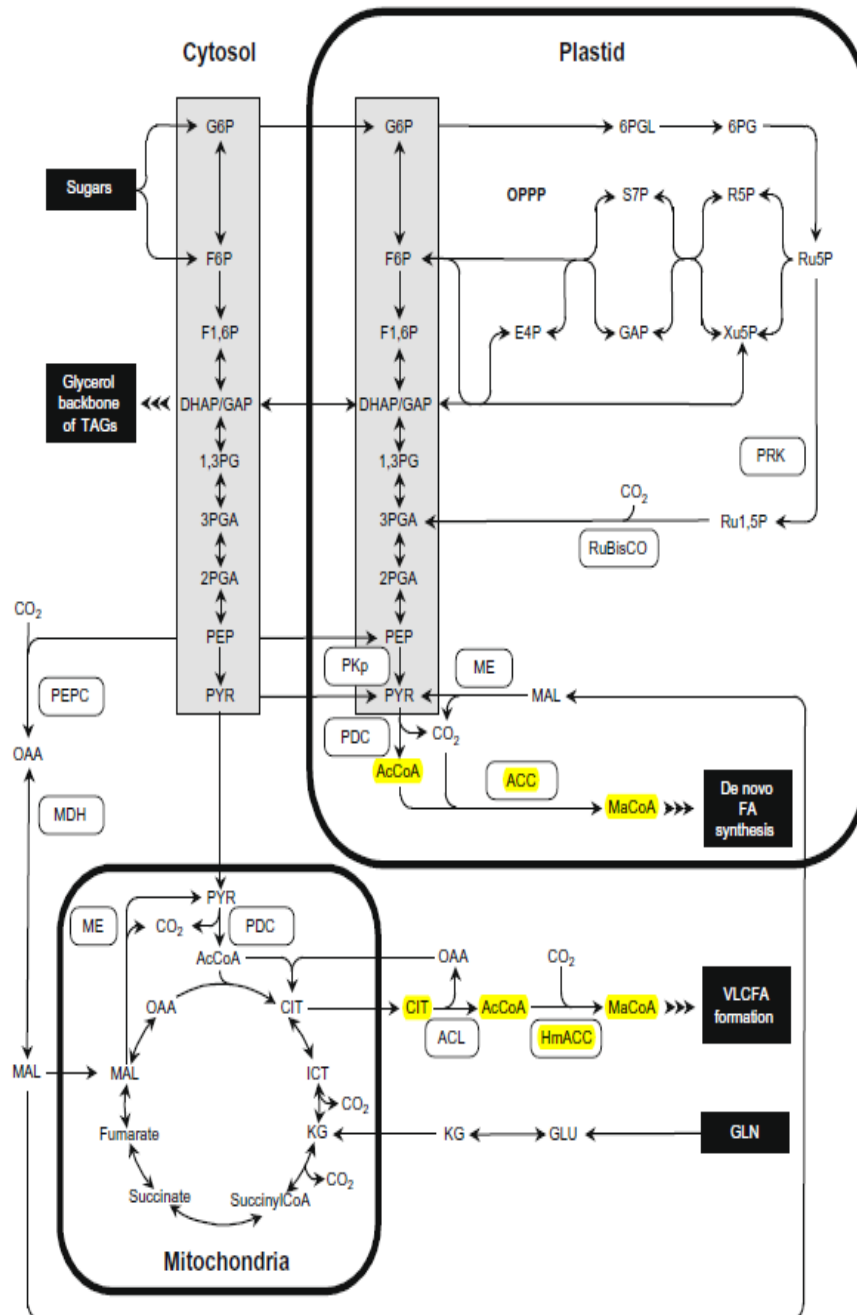
Les acides gras polyinsaturés dits « essentiels », car l'organisme ne sait pas les fabriquer, doivent être apportés quotidiennement par l'alimentation pour couvrir nos besoins physiologiques.

Les AG de C4 à C10 se trouvent dans le lait et les produits dérivés, de C12 à C24, dans les huiles et les graisses animales et de C26 à C36 dans les cires (**tab.5**)⁵ :

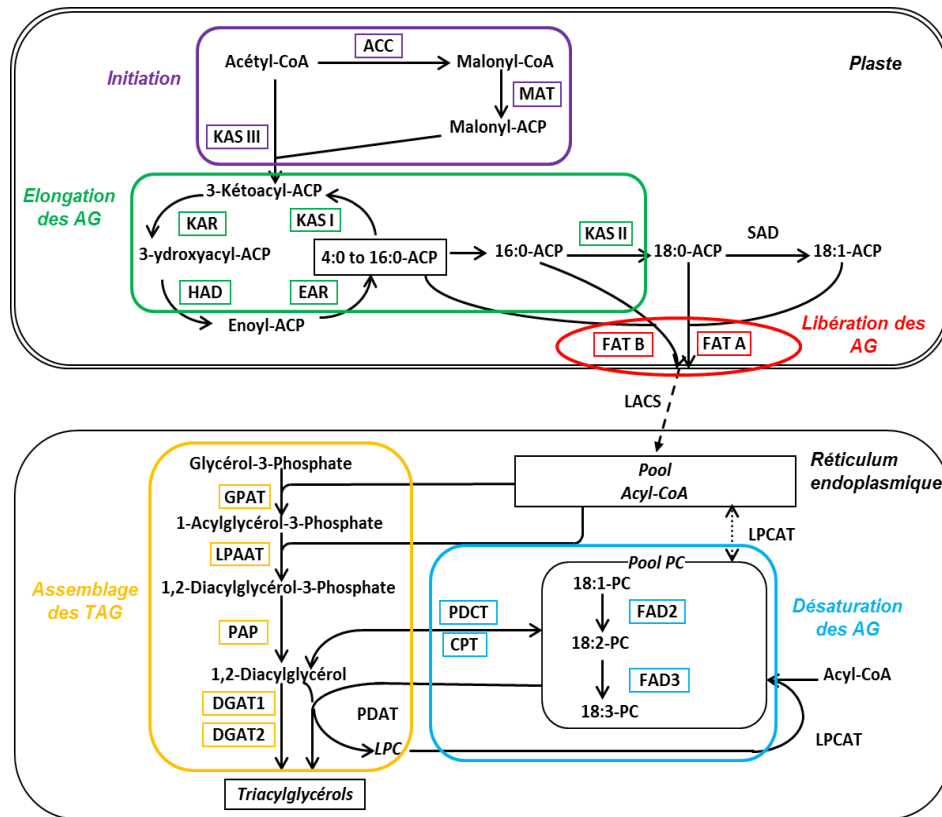
Tab.5 Les acides gras

Symbole		Nom commun	Nom systématique	Formule développée	Origine habituelle
Acides gras à chaîne courte	C ₄ :0	Butyrique	Butanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₂ -COOH	Beurre et le lait
	C ₆ :0	Caproïque	Hexanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -COOH	
	C ₈ :0	Caprylique	Octanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₆ -COOH	
	C ₁₀ :0	Caprique	Décanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₈ -COOH	Graisse de coco, de palmiste, ainsi que dans le lait de divers mammifères dont les chèvres
Acides gras à chaîne moyenne	C ₁₂ :0	Laurique	Dodécanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -COOH	Graisses végétales et animales
	C ₁₄ :0	Myristique	Tétradécanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₁₂ -COOH	
	C ₁₆ :0	Palmitique	Hexadécanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₁₄ -COOH	
	C ₁₈ :0	Stéarique	Octadécanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₁₆ -COOH	
Acides gras à chaîne longue	C ₂₀ :0	Arachidique	Eicosanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₁₈ -COOH	Huile d'arachide Graines Graisses végétales et animales
	C ₂₂ :0	Béhénique	Docosanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₂₀ -COOH	Graines Graisses végétales et animales
	C ₂₄ :0	Lignocérique	Tétracosanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₂₂ -COOH	
	C ₂₆ :0	Cérotique	Hexacosanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₂₄ -COOH	Cires (cires protectrices des plantes, bactéries et insectes)
	C ₂₈ :0	Montanique	Octacosanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₂₆ -COOH	
	C ₃₀ :0	Mélistique	Triacotanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₂₈ -COOH	
C ₃₂ :0	Acéroïque	Dotriacotanoïque	CH ₃ -(CH ₂) ₃₀ -COOH		

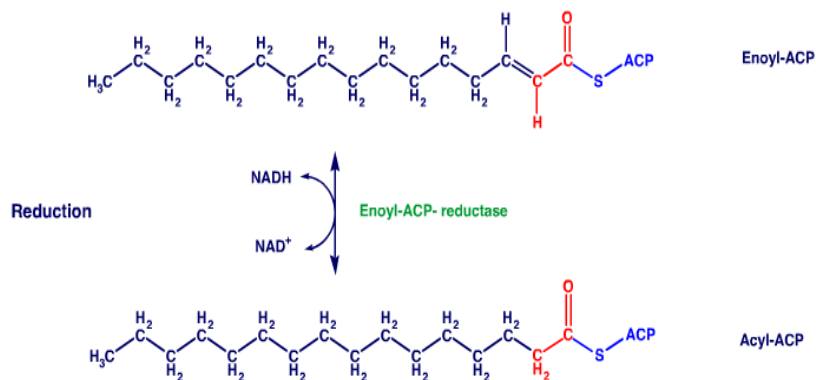
3. Mécanisme de synthèse (Fig.41)

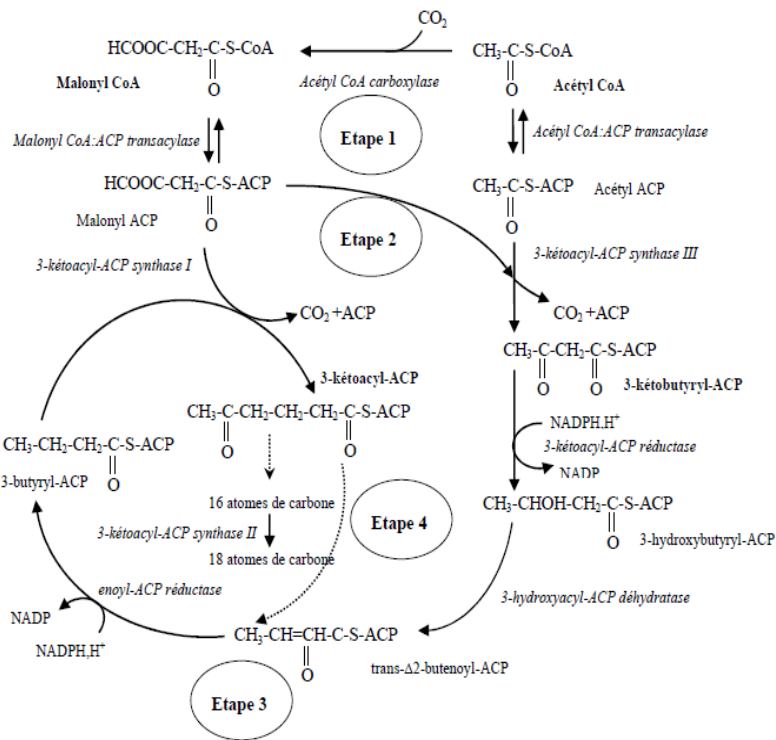


a



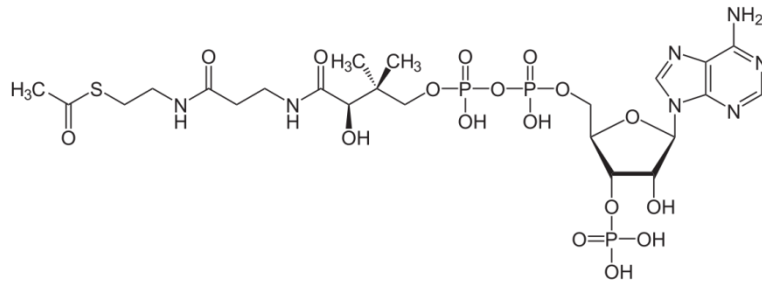
b



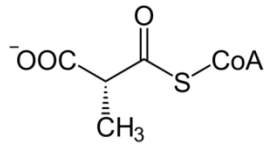


c

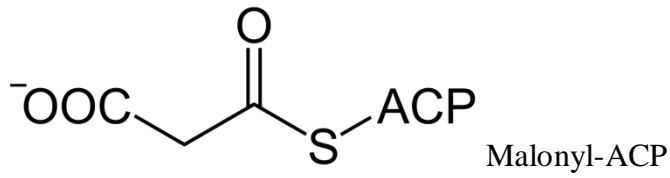
Fig.41 Mécanisme de synthèse des acides gras. a ; Simplified scheme of central metabolism in maturing oilseeds. Arrows represent potential fluxes of carbon. Glycolytic sequences are shaded in grey. ACC, acetyl-CoA carboxylase; ACP, acyl carrier protein ; AcCoA, acetyl-coenzyme A; ACL, ATP-citrate lyase; CIT, citrate; DHAP, dihydroxyacetone-3-phosphate; E4P, erythrose-4-phosphate; FA, fatty acid; F1,6P, fructose-1,6-bisphosphate; F6P, fructose-6-phosphate; GAP, glyceraldehyde-3-phosphate; G6P, glucose-6-phosphate; HmACC, homomeric acetyl-CoA carboxylase; ICT, isocitrate; KG, alpha-ketoglutarate; MaCoA, malonyl-coenzyme A; MAL, malate; MDH, NAD-dependent malate dehydrogenase; ME, malic enzyme, note that the mitochondrial isoform is NAD-dependent whereas the plastidial isoform is NADP-dependent; OAA, oxaloacetate; OPPP, oxidative pentose phosphate pathway; PDC, pyruvate dehydrogenase complex; PEP, phosphoenolpyruvate; PEPC, phosphoenolpyruvate carboxylase; 6PG, 6-phosphogluconate; 6PGL, 6-phosphogluconolactone; 1,3PG, 1,3-bisphosphoglycerate; 2PGA, 2-phosphoglycerate; 3PGA, 3-phosphoglycerate; PKp, plastidial pyruvate kinase; PRK, phosphoribulokinase; PYR, pyruvate; R5P, ribose-5-phosphate; Ru1,5P, ribulose-1,5-bisphosphate; Ru5P, ribulose-5-phosphate; RuBisCO, ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; S7P, sedoheptulose-7-phosphate; VLCFA, very long-chain fatty acid; Xu5P, xylulose-5-phosphate (Baud et Lepiniec, 2010). b ; Diagramme schématique de la voie de synthèse des acides gras (AG) et de triacylglycérols (TAG, Guerin, 2012). ACC, acétyl-CoA carboxylase; CPT, 1,2-sn-diacylglycérol choline phosphotransférase; DGAT, 1,2-sn-diacylglycérol acyltransférase ; FAD2, oléoyl désaturase ; FAD3, linoléoyl désaturase; FAT, acyl-ACP thioestérase ; SAD, stéaroyl-ACP désaturase ; GPAT, glycérol-3-phosphate acyltransférase ; KAS, 3- kétoacyl-ACP synthase ; HAD, hydroxyacyl-ACP déhydrase ; EAR, énoyl-ACP réductase ; KAR, kétoacyl-ACP réductase ; LACS, acyl-CoA synthétase ; LPAAT, lysophosphatidate acyl transférase; MAT, malonyl-CoA:ACP malonyltransférase; PAP, phosphatidate phosphatase ; PC, phosphatidylcholine ou lécithine; PDAT, phospholipide:diacylglycérol acyltransférase ; LPCAT : 1-acylglycérol-3-phosphocholine acyltransférase ; PDCT : phosphatidylcholine:diacylglycérol cholinephosphotransférase ; LPC : lysophosphatidylcholine (est une biomolécule dérivée d'une phosphatidylcholine par hydrolyse d'un résidu d'acide gras en position 1 sur le glycérol ; cette hydrolyse est généralement le fait d'une phospholipase A₁). LYSOPHOSPHATIDYLCHOLINE ACYLTRANSFERASE (LPCAT); pour la régénération de PC à partir de lyso-PC ; responsable de l'acylation de lyso-PC (avec un acyl du cycle d'édition d'acyl ou par transfert d'acyl du pool acyl-COA vers la PC.DGAT1, DGAT2, DGAT3 et PDAT (PHOSPHOLIPID: DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE, conversion de DAG en TAG. CHOLINEPHOSPHOTRANSFERASE (PDCT, chez l'Arabidopsis est appelé ROD1, Reduced Oleate Desaturation1, régulateur de différenciation, qui catalyse la conversion de PC en DAG et donc il est nécessaire pour un flux important d'AG désaturés (augmentation du taux d'AG insaturés, 18:2 par exemple) dans DAG et par suite dans TAG. CPT (CDP-CHOLINE:DAG CHOLINEPHOSPHOTRANSFERASE), FAD2, FAD3 (LINOLEATE DESATURASE). CPT convertit les DAG (diacylglycérol) en PC (phosphatidylcholine). L'oléate (sel ou ester de l'acide oléique 18:1) porté par les PC (lié au PC) est désaturé par FAD2 (produisant linoléate ; sel ou ester de l'acide linoléique 18:2), puis par FAD3 qui est responsable de la conversion de 18:2 en 18:3 (linoléate). c ; Mécanisme de synthèse des acides gras (Browse, 1997 in Roche 2005).



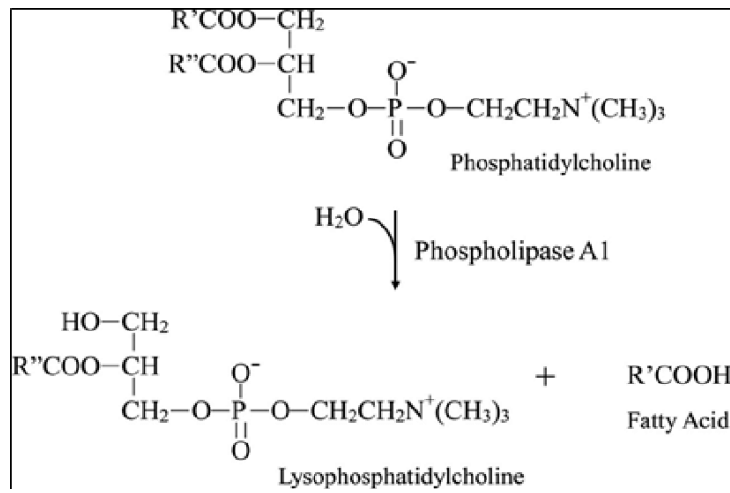
Acétyl coenzyme A

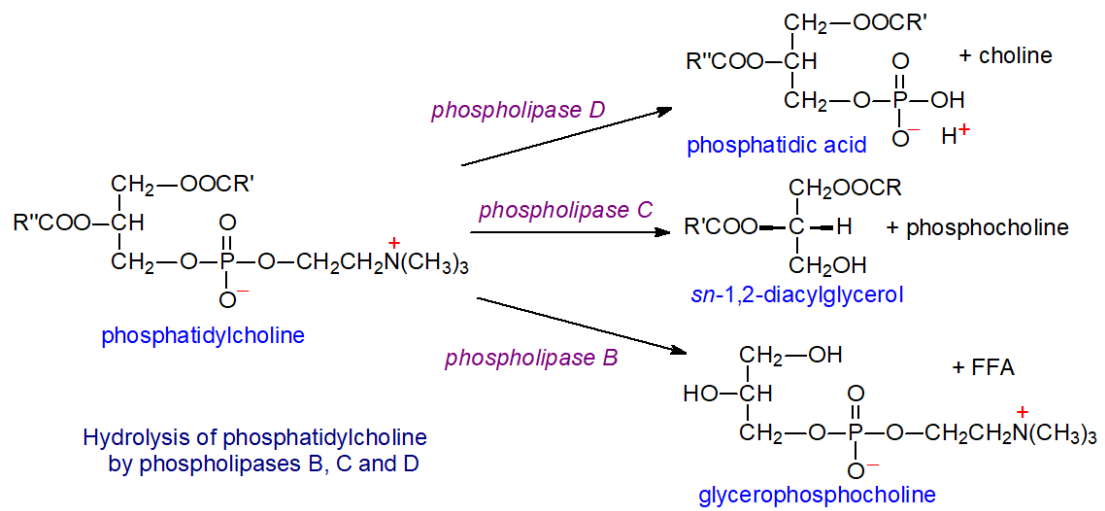


Malonyl-CoA

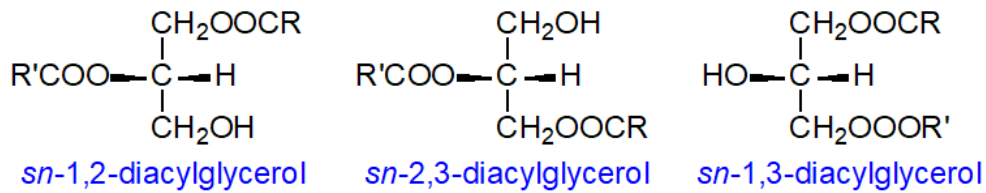


Malonyl-ACP





Stereoisomers of diacyl-*sn*-glycerols

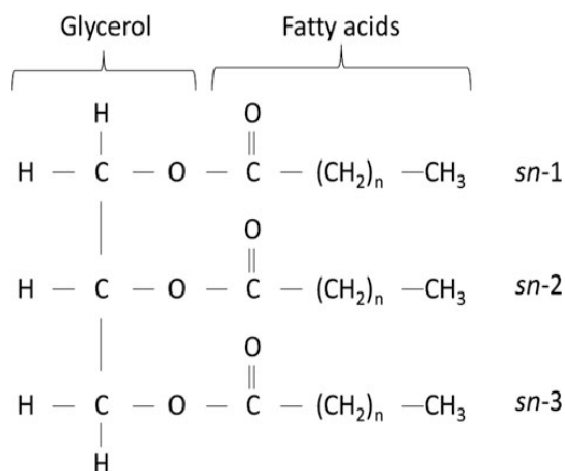


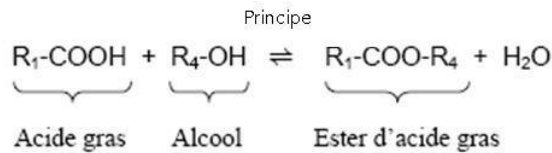
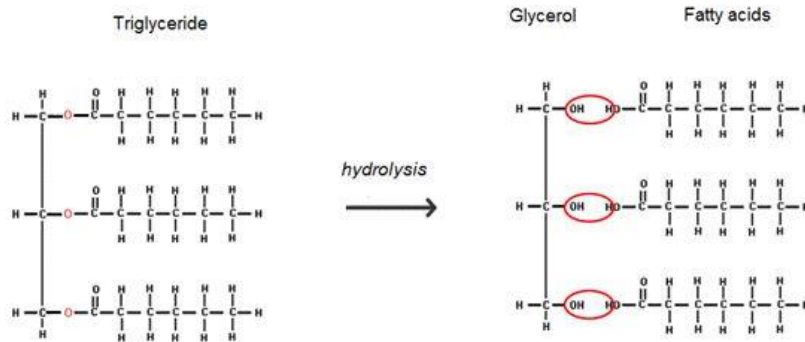
Glycerol

Formula: C₃H₈O₃
 Density: 1.26 g/cm³
 Molar mass: 92.09382 g/mol
 IUPAC ID: propane-1,2,3-triol
 Boiling point: 290 °C
 Classification: Alcohol, Polyol

$$\begin{array}{c}
 \text{H} \quad \text{H} \quad \text{H} \\
 | \quad | \quad | \\
 \text{H—C—C—C—H} \\
 | \quad | \quad | \\
 \text{OH} \quad \text{OH} \quad \text{OH}
 \end{array}$$

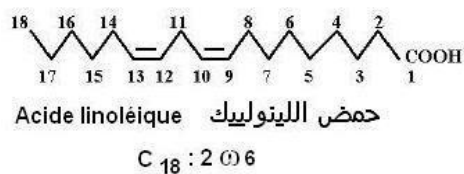
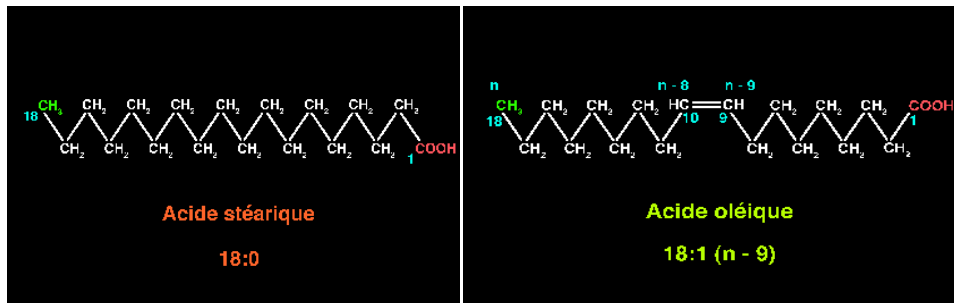
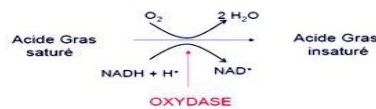
C₃H₈O₃





Structure de triacylglycerol (TAG) montrant le glycérol avec 03 acides gras

- **Désaturation:**
 - Catalysée par des **acyl-Co désaturases**



Les enzymes et gènes impliqués dans la biosynthèse de lipides sont désormais assez bien connus chez les plantes modèles (soja (*Glycine max* (L.) Merr.), colza (*Brassica napus*) et *Arabidopsis thaliana*), bien que de nouvelles enzymes et voies soient découvertes régulièrement (Baud and Lepiniec, 2010; Bates et al., 2009; Dyer et al.,

2008 ; Li-Beisson *et al.*, 2010; Dussert *et al.*, 2013 in Guerin, 2012). Cette biosynthèse a lieu dans deux compartiments subcellulaires, le plaste et le réticulum endoplasmique (RE). Elle se décompose en cinq groupes d'étapes qui sont schématisées dans la **Fig.41 b**: l'initiation, l'élongation, la libération, la désaturation des AG et l'assemblage des TAG.

3.1 Initiation de la synthèse des acides gras

La synthèse *de novo* des acides gras se déroule dans le plaste et débute par une phase d'initiation. L'acétyl-CoA et le mal.onyl-ACP sont tout d'abord produits par l'action respective de l'acétyl-CoA carboxylase (ACC) et de la mal.onyltransférase (MAT). L'acétyl-CoA et le mal.onyl-ACP permettent par la suite la première condensation sous l'action de la kétoacyl-ACP synthase III (KASIII) produisant ainsi une molécule de C4:0-ACP (**Guerin, 2012**).

3.2 Réactions d'élongation et première désaturation

A partir du C4:0 (acide butyrique), une série de réactions a lieu allongeant la chaîne carbonée jusqu'au C16:0 (acide palmitique). Chaque cycle d'élongation fait intervenir quatre enzymes (kétoacyl-ACP synthase I, kétoacyl-ACP réductase, énoyl-ACP réductase et hydroxyacyl-ACP déhydrase) et une molécule de malonyl-ACP, comme brique donneuse de carbone. La dernière élongation est catalysée par la kétoacyl-ACP synthase II (KASII) et permet l'obtention du C18:0 (acide stéarique). La première réaction de désaturation, catalysée par la stéaroyl-ACP désaturase (SAD), a lieu dans le plaste et permet de produire l'acide oléique (C18:1, **Guerin, 2012**).

3.3. Libération des acides gras par les thioestérases

Les acyl-ACP sont ensuite hydrolysés par des acyl-ACP thioestérases (FAT) libérant ainsi les AG, qui peuvent alors être exportés vers le RE, après leur activation sous la forme d'acyl-CoA par une acyl-CoA synthétase (LACS).

Les FAT sont classées dans deux familles de gènes, appelées FATA et FATB, qui diffèrent par leur spécificité de substrat. Les FATA semblent libérer préférentiellement l'acide oléique (C18:1) tandis que les FATB libèreraient préférentiellement des AG saturés plus courts (**Moreno-Pérez *et al.*, 2012 in Guerin, 2012**).

3.4. Assemblage des triacylglycérols (TAG)

Une fois dans le RE, les acyl-CoA sont utilisés comme substrats pour l'assemblage des TAG. La première acylation, en position *sn-1* du glycérol, est catalysée par la glycérol-3-phosphate acyltransférase (GPAT), tandis que la seconde (*sn-2*) est catalysée par la 1-acylglycérol-3-phosphate acyltransférase (LPAAT). Deux classes

de LPAAT ont été décrites. Les enzymes de la classe A possèderait une spécificité de substrat pour le C18:1 tandis que celles de la classe B montreraient des préférences de substrat pour des AG « non-communs », c'est-à-dire peu fréquents chez les plantes, tels que les AG alcool, époxy ou hydroxy, les AG à chaîne courte ou moyenne, ou encore les AG à très longue chaîne. Après ces deux acylations, la molécule de 1,2 diacylglycérol-3-phosphate (PA) est ensuite dé-phosphatée par la phosphatidate phosphatase (PAP) pour donner un diacylglycérol (DAG). La dernière acylation (*sn*-3), qui permet la formation des TAG, peut être effectuée par 3 enzymes différentes : la diacylglycérol acyltransférase 1 (DGAT1), la diacylglycérol acyltransférase 2 (DGAT2) ou la phospholipide diacylglycérol acyltransférase (PDAT). Cette dernière travaille nécessairement en partenariat avec la lysophospholipide acyltransférase (LPCAT). DGAT1 a longtemps été considérée comme l'enzyme prédominante de cette étape dans les graines oléagineuses, tandis que DGAT2 semblait spécifique des acides gras non-communs comme le ricinoléate (acide alcool). Chez le ricin (**Shockey *et al.*, 2006 in Guerin, 2012**) ou encore l'acide vernolique (époxy) chez *Jatropha curcas* (**Xu *et al.*, 2011**). Cependant, il a été montré récemment que dans les mésocarpes riches en huile de l'olivier et du palmier à huile, la DGAT1 n'agissait pas de manière prédominante sur cette étape et que la spécificité de la DGAT2 ne se restreignait pas uniquement aux AG non-communs (**Banilas *et al.*, 2010 ; Tranbarger *et al.*, 2011 in Guerin, 2012**).

3.5 Module de désaturation

Dans le RE, un module de désaturation permet l'obtention de l'acide linoléique (C18:2) et de l'acide linoléique (C18:3). L'enzyme diacylglycérol cholinephosphotransférase (CPT) et l'enzyme phosphatidylcholine:diacylglycérol cholinephosphotransférase (PDCT) permettent tout d'abord de convertir les DAG en phospholipides (phosphatidylcholine, PC). L'oléate et le linoléate peuvent alors être désaturés par l'action de l'oléate désaturase (FAD2) et de la linoléate désaturase (FAD3).

Les TAG peuvent alors être enrichis en acides gras polyinsaturés grâce à l'action de CPT et PDCT qui peuvent catalyser les réactions inverses de conversion des PC en DAG (**Guerin, 2012**).

4. Régulation de la biosynthèse de lipides (Fig.42)

Quelques études transcriptomiques sont intéressées à la synthèse *de novo* des AG et à l'assemblage des TAG dans la graine et dans le fruit montrent que la très grande majorité des gènes impliqués dans les étapes plastidiales de synthèse des AG présentent un même patron de transcription au cours du développement du tissu de réserve, ce qui suggère qu'ils sont fortement co-régulés et qu'ils ont des éléments *cis-* et *trans*-régulateurs communs (**Ruuska et al., 2002; Joet et al., 2009; Tranbarger et al., 2011 in Guerin, 2012**).

Dans la graine d'*Arabidopsis thaliana*, ou encore de *Zea mays*, ces étapes sont sous le contrôle de WRINKLED1 (WRI1), un facteur de transcription de la famille des APETALA2/Ethylene-Responsive Element Binding Protein (AP2/EREB, **Focks and Benning, 1998; Ruuska et al., 2002 ; Shen et al., 2010 ; Pouvreau et al., 2011 in Guerin, 2012**). Le motif de liaison de WRI1 a été identifié et dénommé « boîte AW ». Cette boîte est présente dans les régions promotrices de la plupart des gènes de la voie de biosynthèse des AG (**Cernac and Benning, 2004; Maeo et al., 2009 in Guerin, 2012**). L'expression de *WRI1* semble être sous le contrôle de LEAFY COTYLEDON1 (LEC1) et LEAFY COTYLEDON2 (LEC2), deux « master-régulateurs » appartenant respectivement aux familles HAP3 et B3 et intervenant dans la maturation des graines d'*Arabidopsis*, de concert avec ABA Insensitive 3 (ABI3) et FUSCA 3 (FUS3, **Baud et al., 2007; Mu et al., 2008 ; Baud and Lepiniec, 2010 in Guerin, 2012**). Dans le mésocarpe du palmier à huile, un transcrite codant pour une protéine similaire à WRI1 a été identifié. Son profil d'expression coïncide parfaitement avec celui de plusieurs gènes impliqués dans la biosynthèse des AG suggérant une co-régulation de même nature que celle identifiée dans la graine d'*Arabidopsis* (**Tranbarger et al., 2011 in Guerin, 2012**). En revanche, aucun des master-régulateurs n'a été identifié dans le mésocarpe du palmier à huile, suggérant ainsi l'implication d'autres gènes régulateurs dans ce tissu riche en huile (**Tranbarger et al., 2011 ; Bourgis et al., 2011; Marchive et al., 2014**).

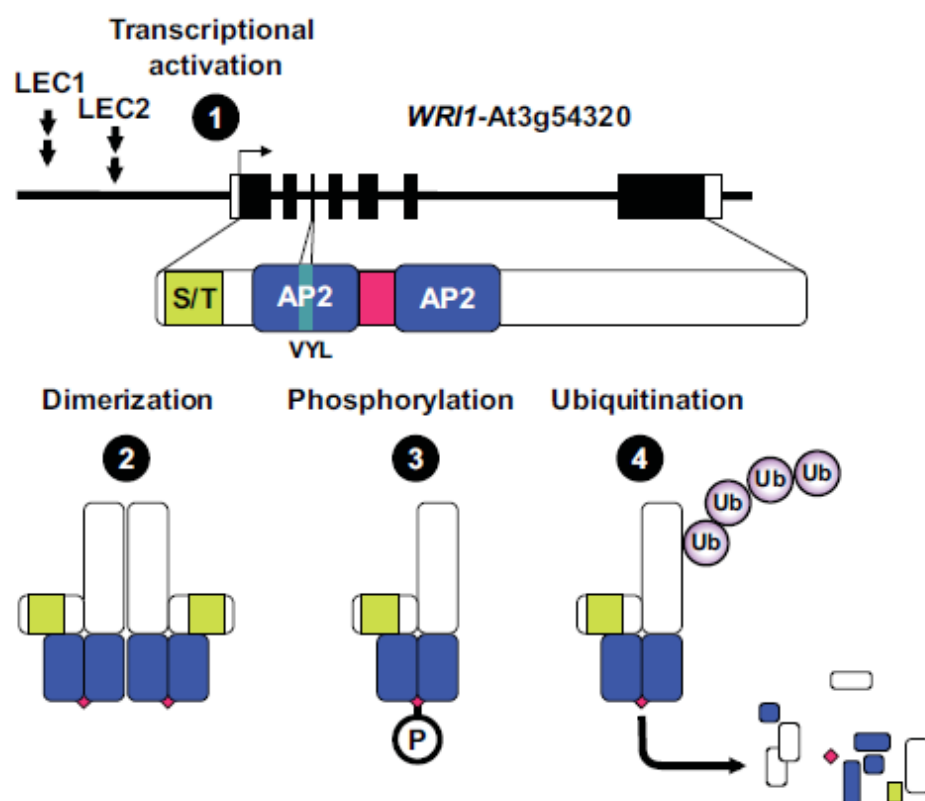


Fig. 42 Regulation of WRINKLED1. (1) In the model plant *Arabidopsis thaliana*, master regulators of the maturation program LEAFY COTYLEDON1 (LEC1) and LEC2 control the transcription of WRINKLED1 in seeds. It is not known whether these transcriptional activators directly bind to the promoter sequence of WRI1. (2) Regulation of WRI1 activity may occur through homo-dimerization of the protein, as suggested by the results of two-hybrid assays, bimolecular fluorescence complementation experiments, and electrophoretic mobility shift assays. (3) The occurrence of a LRRQSSGRSF motif in the linker region (pink box) separating the two AP2 domains of WRI1 makes it a putative substrate for the OST1 kinase. (4) Finally, BTB-POZ-MATH (BPM) proteins that function as substrate adaptators in CULLIN-RING ubiquitin ligase (CRL) complexes can interact with the WRI1 transcription factor and consequently affect its stability. A structure of the WRI1 gene is presented: closed boxes represent exons and open boxes untranslated regions (UTR). Below this gene structure, a model for the corresponding WRI1 protein and its regulation is proposed. AP2, APETALA2 domain; P, phosphate; S/T, N-terminal region of the WRI1 transcription factor enriched in Ser and Thr; Ub, ubiquitin; VYL, motif present in the first AP2 domain of the protein and encoded by the third exon of the WRI1 gene (Marchive et al., 2014).

5. Stress oxydant, perte de phospholipides et hydrolyse des lipides durant le séchage et le stockage des graines

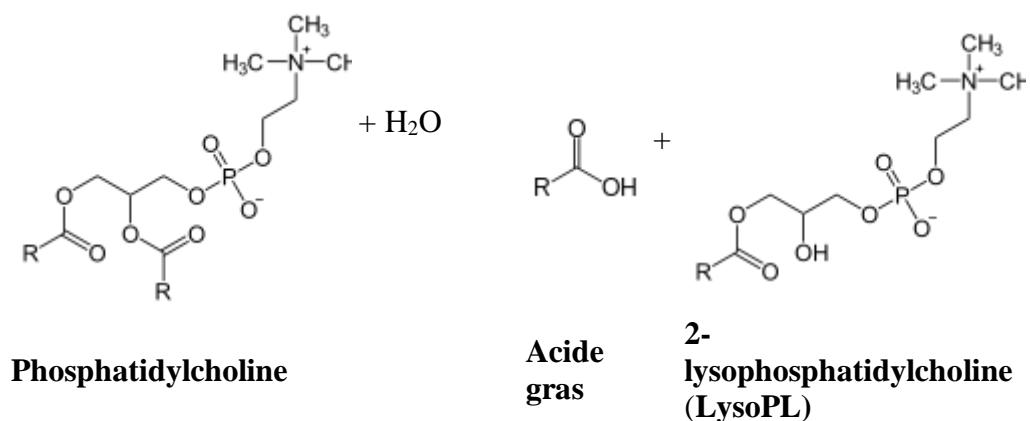
Le stockage lent des graines induit une importante augmentation de la teneur en acides gras libres (AGL, résultant de l'hydrolyse des lipides neutres (TAG, induite par la lipase (désestérification)), agents de déstabilisation des systèmes membranaires et conduisant très rapidement à la perte de l'intégrité cellulaire: Leur accumulation est associée au vieillissement des graines, Crowe et al., 1989 ; Van Bilsen et al., 1993 ; De Vos et al., 1994. in Dussert et al., 2012; Dussert et al., 2012) et une diminution des concentrations des pools de deux antioxydants majeurs, le glutathion et l'ascorbate

(ou acide ascorbique ou vitamine C, **Van Bilsen et al., 1993; De Vos et al., 1994. in Dussert et al., 2012 ; Dussert et al., 2012**). La chute rapide de ces deux principaux antioxydants hydrophiles, réduit, témoigne du stress oxydant important subi par les semences (**Dussert et al., 2012**).

Les graines intermédiaires (étude réalisée sur les semences de caféier) qui sont stockées à 81 % HR et à 20°C perdent leur viabilité très rapidement (absence de germination) et ses antioxydants: Une accumulation importante des AGL et une perte sélective de phospholipides (PL), notamment la phosphatidyléthanolamine (PE, la perte de PL pendant le stockage des graines ainsi que les niveaux de PE ont diminué très rapidement alors que la perte de PC et PI n'a été observée qu'après 1 an de stockage, **Dussert et al., 2006; Dussert et al., 2012**). Certains auteurs ont conclu qu'en baissant la température de stockage, il y avait un ralentissement à la fois de la perte de viabilité des graines et le niveau du stress oxydant ainsi que les taux d'hydrolyse des lipides. En outre, la perte de PE n'était pas due à la désestérification (non transformation des esters) des acides gras, ce qui aurait conduit à la formation de lyso-PE en quantités importantes. La présence **de PE était apparemment strictement requise pour maintenir la viabilité des semences**. La formation de N-acylphosphatidyléthanolamine (NAPE) aurait pu contribuer à la perte rapide et sélective de PE. La synthèse de NAPE à partir de PE et de AGL a été identifiée dans les graines de nombreuses espèces. La **NAPE** est désormais considérée comme un **nouveau lipide** caractéristique des cellules végétales en privation (manque) d'oxygène (**Dussert et al., 2006**). D'après ces auteurs, **Les principales différences entre les graines intermédiaires et orthodoxes sont leurs différents niveaux de tolérance à la dessiccation et non les mécanismes sous-jacents à leur stockage**.

L'origine du stress oxydatif ou oxydant ou pression oxydative (déséquilibre entre les molécules anti-oxydantes et oxydantes ; quand des espèces réactives oxygénées (ou radicaux libres) et/ou des espèces réactives oxygénées et azotées oxydant pénètrent la cellule ou s'y forment; ces molécules sont instables et très cytotoxiques car elles « oxydent » d'autres molécules en leur soustrayant (retirant) un électron ce qui les rend à leur tour instables), chez les organismes déshydratants est due à une formation incontrôlée de ROS (reactive oxygen species, les espèces réactives de l'oxygène) en raison de l'altération du transport chaînes d'électrons.

Il a été démontré par certains chercheurs que les AGL résultant de l'hydrolyse des lipides neutres et non de l'activité PLA₂ (phospholipase A₂ = hydrolase qui libère spécifiquement l'acide gras estérifiant l'hydroxyle du carbone 2 du glycérol d'un phosphoglycéride pour donner un lysophospholipide) :



car il n'y a pas d'accumulation correspondante de lyso-PL lors des analyses chromatographiques. Par ex, dans les graines de caféier, les TAG sont stockés dans des corps huileux riches en oléosine et de nombreuses lipases végétales peuvent efficacement hydrolyser leur teneur en des corps lipidiques sans pré-hydrolyse de la monocouche PL et de la couche d'oléosine. Par conséquent, les TAG ne sont pas isolés dans les corps lipidiques car les lipases sont actives à très faible HR (<10 %, **Dussert et al., 2006**).

Exemple de Conservation à long terme des semences :

Pour les espèces à semences intermédiaires, la cryoconservation; le stockage dans l'azote liquide à -196 °C, est la seule technique disponible permettant la conservation à long terme des ressources génétiques (**Engelmann, 2009 in Dussert et al., 2012**). De plus, une étude a montré que le cout de conservation d'une accession de caféier à moyen et long terme est bien moindre en utilisant la cryoconservation qu'en maintenant cette accession dans une collection en champ, comme cela est traditionnellement fait pour les espèces à semences intermédiaires et récalcitrantes (**Dulloo et al., 200 in Dussert et al., 2012**).

*Catégories de semences: (Fig.43)

- **Les semences orthodoxes**, d'une grande longévité, elles peuvent être séchées pour obtenir une teneur en humidité de 5 % (soit habituellement bien inférieure à ce qui serait normalement obtenu naturellement) sans dommage, elles peuvent être conditionnées et sont aptes à la congélation. La longévité des semences orthodoxes augmente lorsque la teneur en humidité et la température baissent au sein d'une large gamme d'environnements d'entreposage. La conservation *ex situ* des semences orthodoxes n'est par conséquent pas un problème. Des exemples de semences orthodoxes qui peuvent exister pendant des périodes prolongées à l'état sec sont la plupart des cultures annuelles et biennales (soit la plupart des céréales et légumineuses) et les semences de nombreuses cultures **marachères, tels que laitue, chou et colza (canola)**.

- **Les semences récalcitrantes ou non orthodoxes**, d'une faible longévité, elles ne peuvent être séchées à une TH < 20 à 30 % sans dommage, elles ne supportent pas la

congélation, et ne sont donc pas susceptibles de supporter un entreposage a long terme. La conservation *ex situ* des semences non orthodoxes pose problème. Pour cette raison, les plantes qui produisent des semences récalcitrantes sont plutôt conservées sous forme végétative et non sous la forme de semences. Les espèces récalcitrantes appartiennent essentiellement aux arbres et arbustes; certains exemples courants de plantes qui produisent des semences récalcitrantes sont **l'avocat, le cacao, la noix de coco, la mangue, la papaye et la noix**. Les semences récalcitrantes sont généralement plus grandes que les semences orthodoxes; les grandes semences ont généralement une teneur en humidité ou en huile élevée, et sont souvent récalcitrantes dans leur comportement à l'entreposage.

Les semences récalcitrantes



Les semences intermédiaires

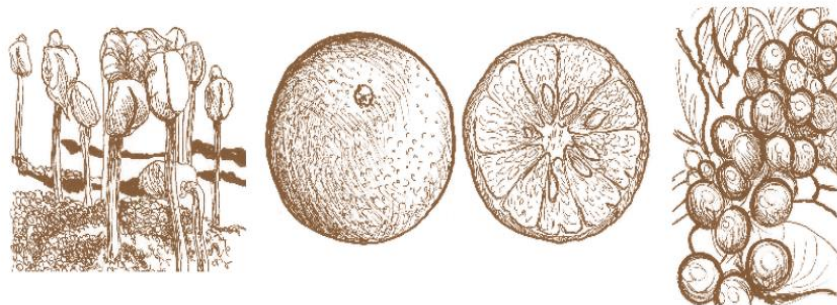


Fig. 43 Types de semences

- **Les semences intermédiaires**, ne rentrant pas totalement dans la catégorie des semences orthodoxes ou récalcitrantes, elles ont une tolérance limitée au séchage, mais sont sensibles aux températures de congélation. Des exemples de semences intermédiaires sont des espèces issues de l'agroforesterie à semences relativement petites, comme les **agrumes, le café, la goyave et l'anacardier**.

6. Exemple de semences récalcitrantes: Composition lipidique des graines de palmier: Dérivé génétique ou adaptation ?

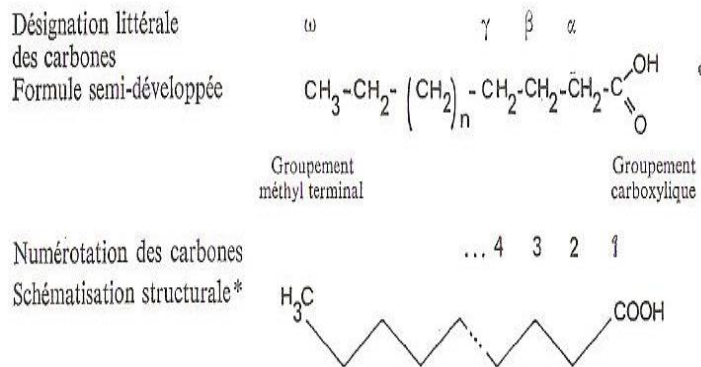
Les caractéristiques lipidiques des graines sont très pertinentes pour la chimiotaxonomie des palmiers. Par conséquent, ils pourraient refléter, dans une large mesure, la dérive génétique qui s'est produite au cours de la radiation de la famille. D'autre part, des études effectuées ont révélé de possibles caractéristiques adaptatives latitudinales et altitudinales de la teneur en acides gras insaturés des graines dans la famille *Arecaceae*. Les pourcentages d'acides oléique (18 :1) et linoléique (18 :2) étaient en effet significativement corrélés avec la latitude la plus froide de la distribution naturelle des espèces, avec le niveau de la mer et avec les températures maximales à cette latitude (**Guerin et al., 2020**). Ces résultats corroborent l'hypothèse de **Linder (2000)**, selon laquelle l'augmentation de la compétitivité accrue fournie par les lipides de stockage qui restent fluides sous de basses températures, permettant ainsi une germination rapide et la croissance précoce des semis durant la période où la graine nourrit encore la plantule. De plus, ces observations corroborent les relations trouvées entre le contenu des acides gras insaturés de la graine et latitude dans l'*Arabidopsis* (**Sanyal et Linder, 2013**). Dans ce contexte, il convient de noter que les points de fusion (Pour une forme donnée, la température de fusion (de l'acide gras) s'élève avec la longueur de la chaîne carbonée. L'augmentation est de l'ordre de 6,5°C à 9,5°C pour un accroissement de 2 atomes de carbone. Pour une longueur de chaîne donnée, la température de fusion diminue avec le nombre de double liaison. Le point de fusion augmente avec le nombre de C. et diminue quand le nombre de doubles liaisons augmente. Ils sont liquides à 20° C si n < 10 C et solides si n = 10 C) des espèces moléculaires de triacylglycérol qui contiennent des MCFA (*Medium-chain fatty acid*) sont particulièrement élevés. **Crane et al. (2003)** ont montré que les graines de *Cuphea* avec des niveaux élevés de MCFA exposés à des températures basses ne peuvent pas germer et que la capacité de germination peut être restaurée en exposant ces graines à une impulsion thermique de 45 °C pour fondre les lipides cristallisés avant l'imbibition. Considérant que les graines de la très grande majorité des palmiers stockent de grandes quantités de MCFAS, l'avantage adaptatif d'accumuler des AG insaturés dans les régions les plus au sud et nord occupées par des palmiers et dans les écosystèmes tropicaux pourraient avoir été crucial importance pour les espèces de palmier qui colonisaient ces zones (**Guerin et al., 2020**).

7. Nomenclature des acides gras

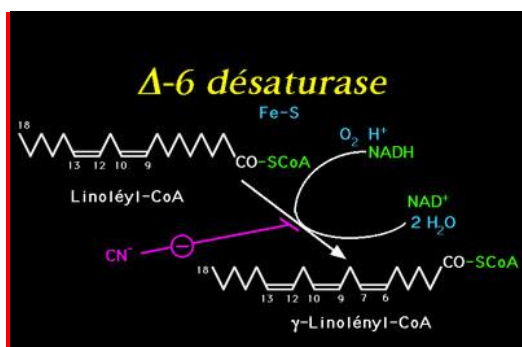
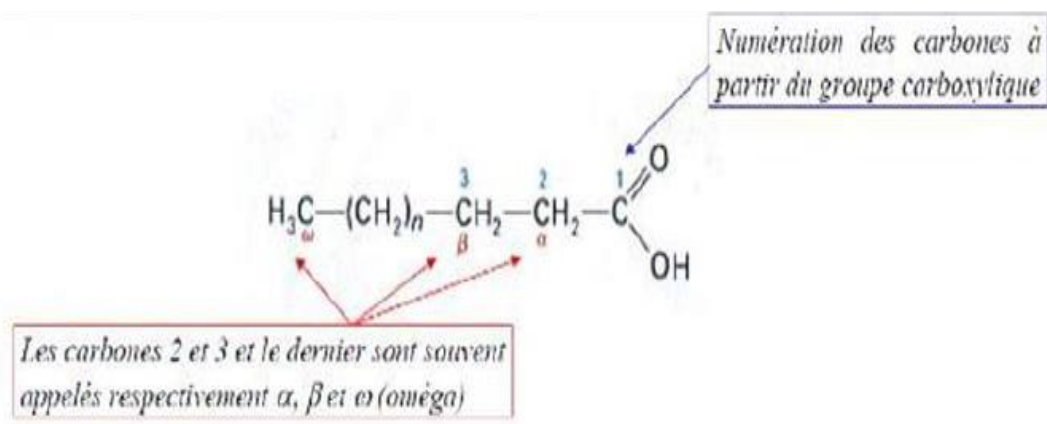
Ils sont monoacides, linéaires, à nombre pair de carbone, soit saturés, soit insaturés.

Il existe plusieurs nomenclatures des acides gras :

- Leur nomenclature se présente sous la forme CX:Y, où C représente carbone /X représente la longueur de la chaîne et Y le nombre de double-liaisons.



Structure générale d'un acide gras. α , β , γ (ou α'), ω (carbone fonction méthyle) ; symboles utiles des carbones.

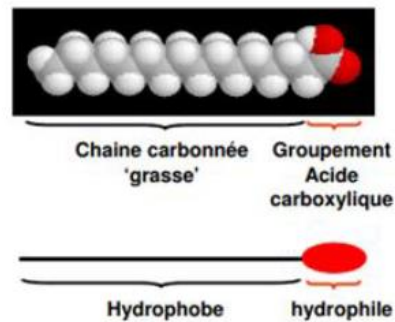


***Pour les acides gras saturés :**

- le nom systématique s'écrit : n- [nC] an oïque
- n : indique que l'acide gras est normal (Chaîne non branchée).
- [nC] : nombre de carbones
- an : indique que la chaîne est saturée
- le symbole est Cn:0 (0 indique que la chaîne est saturée)
- le nom courant rappelle son origine
- oïque=indique la fonction carboxylique.

Exemple :

Acide palmitique (16:0)



Les critères de la classification des acides gras portent sur :

- la longueur de leur chaîne
- la présence et le nombre de doubles liaisons : les acides gras saturés ne possèdent pas de double liaison, les mono- ou poly-insaturés possèdent une ou plusieurs doubles liaisons.
- la configuration spatiale de leur chaîne : les formes *cis* et *trans*

***Pour les acides gras insaturés :**

- le nom systématique s'écrit : conf-p-[nC] x én oïque. Deux numérotations coexistent, l'une systématique (nomenclature biochimique) et l'autre utilisée en diététique (nomenclature des *nutritionnistes*).
- conf-p : configuration et position des doubles liaisons
- [nC] : nombre de carbones
- én, dién, trién, yn, selon qu'il s'agit d'un acide saturé, monoénique, diénique, triénique, acétylénique...etc.
- x : nombre de doubles liaisons (di, tri...)
- le symbole est Cn: mΔ (p, p'.)

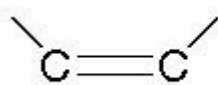
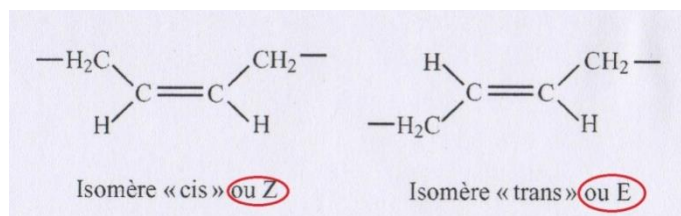
- C_n : nombre de carbonnes

- mΔ : nombre de doubles liaisons. **La notation Δ, la plus complète d'un point de vue chimique (nomenclature des biochimistes)** : la position de la double liaison est indiquée par Δ^x, x correspondant au nombre de carbonnes entre le carboxyle et le premier atome de carbone éthylénique. Pour les AG polyinsaturés, cette nomenclature indique la position de chacune des doubles liaisons présentes dans la chaîne (numérotation des atomes de carbone depuis le groupe carboxyle).

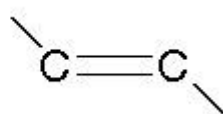
- (p, p'...) : positions des doubles liaisons en numérotation normale.

***La notation ω ou notation (n-x)**, la mieux connue des consommateurs: la position de la double liaison est indiquée par ω_x, x correspondant au nombre de carbone entre le méthyle terminal et le premier atome de carbone éthylénique, soit 18:1ω_{9c} pour l'acide oléique. Le *c* peut être précisé dans ce cas pour différencier l'acide oléique de l'acide élaidique (acide *trans* -9- octadécénoïque, le 18:1 ω_{9t}). Nomenclature diététique, la position de la double liaison est indiquée à partir du groupement méthyle terminal (numérotation des atomes de carbone depuis le groupe méthyle terminal, à l'inverse des chimistes qui partent de la fonction carboxyle. Dans le cas où l'acide gras possède plusieurs doubles liaisons, seule la position de la première double liaison est indiquée. Cette nomenclature s'applique couramment pour les AG polyinsaturés à longues chaînes⁵.

Les chaînes aliphatiques peuvent avoir deux configurations :



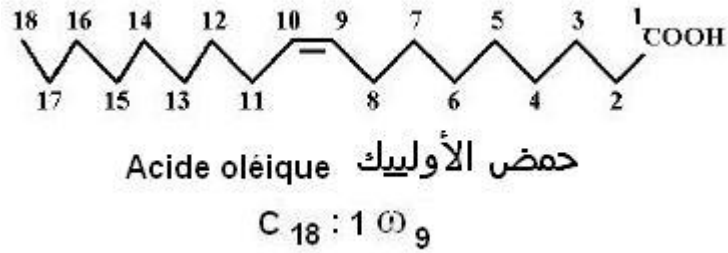
Liaison "cis"
("bateau")



Liaison "trans"
("chaise")

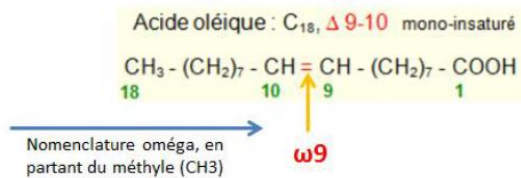
Exemple : 18:1 Δ^{9c} pour l'acide

oléique

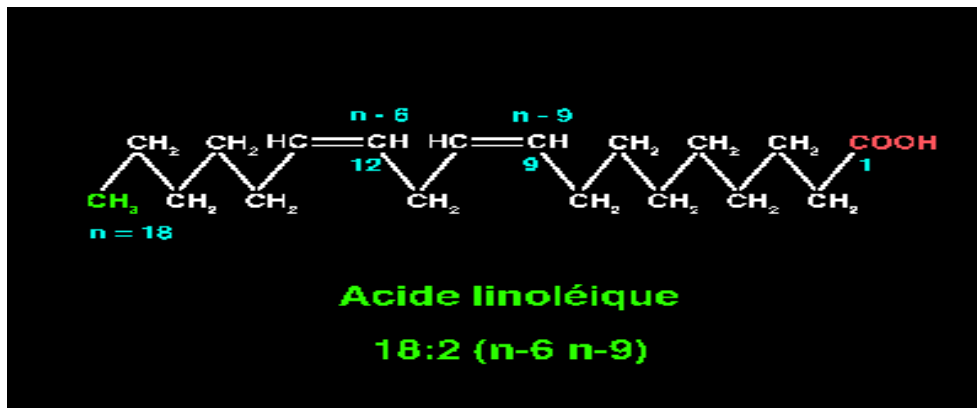


Les acides gras naturels sont de *cis*

Exemple ω -9 :



Exemple ω -6 : acide α linoléique



$C_{18}:2\Delta^{9,12}$ ou $C_{18} : 2 (9,12)$ =numérotation systématique=biochimique

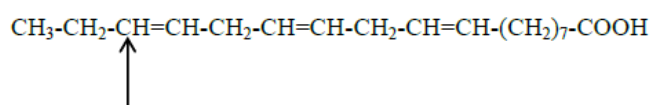
$18:2 (n-6)$ =oméga6 =numérotation diététique=*nutritionniste*

L'acide gras de formule $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ possède deux doubles liaisons en position 9 et 12 et 18 atomes de carbones. C'est un acide gras poly-insaturé en C18, dont le nom courant est l'acide linoléique. Ses appellations chimiques sont l'acide 9-12-octadécadiénoïque, et C18: w-6 (c'est à dire la première double liaison est en position 6 par rapport au CH_3). Bien que les possibilités théoriques soient très variés, les acides gras biologiques appartiennent à un groupe restreint, ils sont tous linéaires et sont constitués d'un nombre pair de carbone. En revanche, ils peuvent comporter de 0 à 6 doubles liaisons ce qui permet de séparer les acides gras saturés (0 double liaison) des insaturés (au moins une double liaison). Cela influe sur leur propriétés, les acides gras insaturés sont plus facilement oxydés que les saturés ainsi que sur la fluidité de la membrane constituée par les lipides auxquels ils participent. La chaîne carbonée est linéaire, non ramifiée. Les CH_2 entre deux doubles liaisons peuvent subir une oxydation. Les AG polyinsaturés (présence de doubles liaisons) abaissent le point de fusion. Plus la chaîne aliphatique est longue moins l'AG est hydrophile et plus sa température de fusion est élevé.

Exemple ω -3 :

Acide α -linoléique C₁₈ : 3 Δ _{9,12,15} ω -3.

Il s'agit de l'acide 9,10 12,13 15,16 octadécatriénoïque. C'est également un AG indispensable.



Les oméga-3 sont appelés acides gras «essentiels» parce que l'organisme humain est incapable de les fabriquer lui-même⁵.

Les « oméga 3 » : les trois principaux acides gras de la famille des oméga 3 sont l'acide alpha-linolénique d'origine végétale (contenu dans l'huile de colza, de lin ou encore de cameline, dans les noix, le pourpier ou les graines de lin), les acides eicosapentaénoïque (EPA) et docosahexaénoïque (DHA) contenus dans les graisses d'origine marine (poisson gras tels que thon frais, saumon, maquereaux, sardines, anchois, capelan, bonite, algues, etc.).

8. Propriétés des acides gras

8.1 Propriétés physiques :

a .Solubilité

-Les AG sont solubles dans les solvants organiques apolaires : benzène, chloroforme, ...

-L'acide butyrique à 4C est soluble dans l'eau, puis la solubilité des acides gras baisse progressivement et ils sont insolubles à partir de 10C.

Ils sont totalement hydrophobes (apolaires), donc totalement insolubles dans l'eau, et donc très solubles dans les solvants organiques (solvants peu polaires ou apolaires comme l'acétone. Agités dans l'eau, ils forment des émulsions très instables qui se transforment en système biphasique. Les tensioactifs, comme les savons, les dispersent et stabilisent ces émulsions où les TG se mettent en suspension sous forme de micelles.

b. Le point de fusion :

-Il augmente avec le nombre de C.

- Il diminue quand le nombre de doubles liaisons augmente :

*Ils sont liquides à 20° C si n < 10 C.

*Ils sont solides si n = 10 C

Quand l'AG a une chaîne insaturée, la température de fusion = 15°C, il est donc liquide à des températures ordinaires ==>> huiles Quand l'AG a une chaîne saturée et courte, la température de fusion = 25°C, ==> beurres Quand l'AG a une chaîne saturée et longue, la température de fusion = 35°C ==>> graisses animales Quand l'AG a une chaîne saturée et longue, la température de fusion = 45°C ==> suifs (graisse de bœuf).

c. Activité optique

Les α monoglycérides, les $\alpha\beta$ diglycérides et les triglycérides hétérogènes ont des C* ils ont donc un pouvoir rotatoire.

8.2. Propriétés chimiques

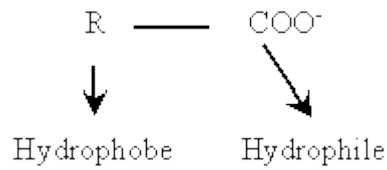
Elles dépendent de la présence : - du groupement -COOH, - de la présence éventuelle, - de double liaison, - la présence éventuelle d'autres radicaux. La chaîne hydrocarbonée ne présente pas de propriétés chimiques particulières.

a. Oxydation des doubles liaisons

L'oxydation par l'oxygène de l'air conduit au rancissement des lipides.

b. Formation de sels de sodium ou potassium

Ce sont des savons à propriétés moussantes, mouillantes et émulsionnantes. Dans l'eau les savons se dissocient en $\text{Na}^+ + \text{R-COO}^-$
 L'anion a 2 pôles :



Ces molécules appelées amphiphiles ou amphipathiques, sont tensioactives (elles abaissent la tension superficielle de l'eau d'où leurs propriétés).

c. Formation d'ester (avec Glycérol) et de thioester (avec le Coenzyme A)

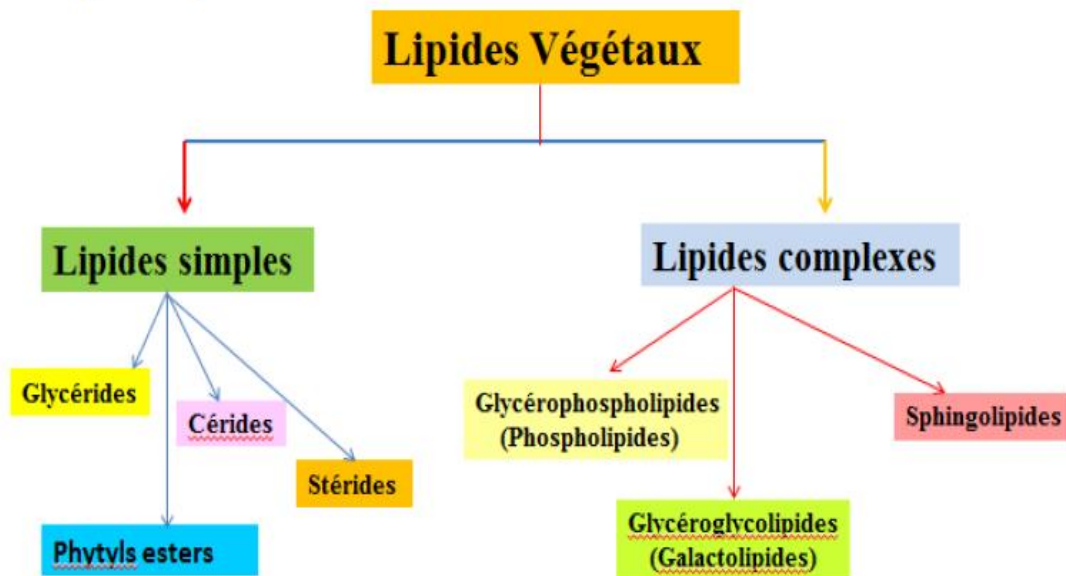
9. Classification des lipides

On distingue :

Il existe plusieurs classifications des lipides mais la plus utilisée est celle basée sur la structure.

On distingue 2 familles de lipides :

- Les lipides simples
- Les lipides complexes



9.1 Les lipides simples (ou les homolipides, tab.6)

Ce sont de structure ternaire (C, H, O). Ce sont des esters d'acides gras et d'alcools. Ils sont neutres et classés selon l'alcool qui estérifié l'acide gras :

Chez les végétaux, il y a 4 catégories des lipides simples.

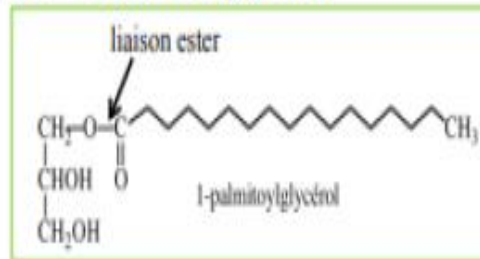
- Les **glycérides** estérifiées par le **glycérol** (trois groupes hydroxyle du glycérol sont estérifiés par des acides gras).

- Les **cérides** estérifiés par des alcools à longue chaîne carbonée (**alcool gras**)

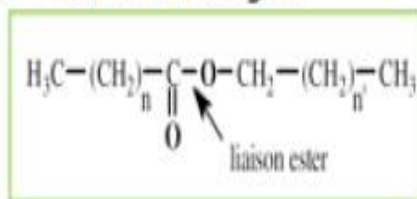
- Les **stérides** estérifiés par un alcool polycyclique (**phytostérol**, les stérides ou esters de stérol sont un groupe hétérogène de composés chimiques, créés par l'estérification entre le groupe hydroxyle d'un stérol et un acide gras).

- Les **phytyl esters d'acides gras**.

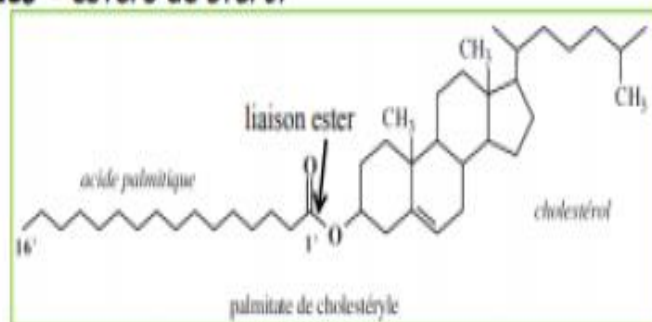
✓ **Les glycérides = esters de glycérol**



✓ **Les cérides = esters d'alcool gras**



✓ **Les stérides = esters de stérol**



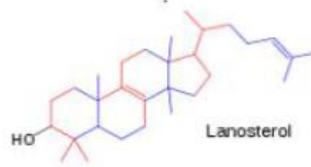
* Les **cires** donnent donc des couches imperméables et sont de bons isolants thermiques. Par exemple elles recouvrent les ailes des oiseaux, par ex les cires végétales, etc...

Chez les végétaux, les cérides sont des lipides de la classe des cires sous forme des cuticules présents au niveau des feuilles et les jeunes tiges afin de limiter la transpiration.

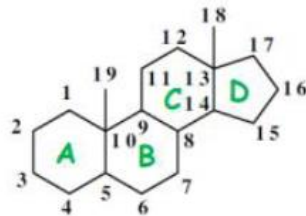
*Les stérols sont des alcools cycliques, saturés ou non dérivant du noyau stéroïde (stérane), produit de la condensation de 4 cycles.

Dans les végétaux, sont présentes en très faibles quantités, des molécules ressemblant au cholestérol, les phytostérols.

✓ **Les stérols**



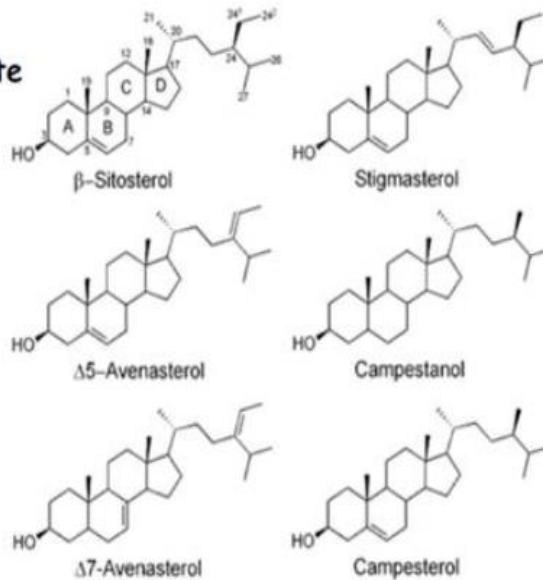
• **Constitués d'un noyau stérane**



Noyau stérane des stéroïdes

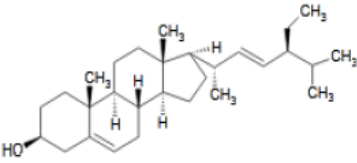
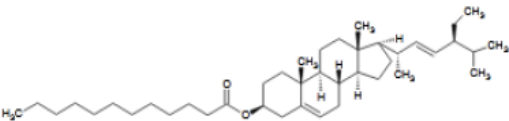
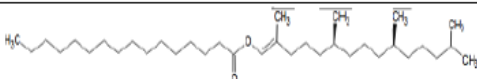
Carbones chiraux
C₅ C₈ C₉ C₁₀ C₁₃ C₁₄

• **Les stérols de plante**



*Les phytol esters d'acides gras sont le résultat de l'estérification d'un acyl-ACP sur le phytol. Ils sont présents uniquement chez les plantes, et sont synthétisés et stockés au niveau des plastoglobules. Ils jouent un rôle dans la protection contre l'effet d'un stress environnemental.

Tab.6 Récapitulatif des lipides simples et de leur structure

Classe lipidique	Nom de l'alcool	Structure
Glycérides		$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R} \\ \\ \text{CHOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$ <p style="text-align: right;">Monoglycérides</p>
	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{OH} \end{array}$ <p style="text-align: center;">Glycérol</p>	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R} \\ \\ \text{CH}-\text{O}-\text{CO}-\text{R} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$ <p style="text-align: right;">Diglycérides</p>
		$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R} \\ \\ \text{CH}-\text{O}-\text{CO}-\text{R} \\ \\ \text{CH}_2-\text{O}-\text{CO}-\text{R} \end{array}$ <p style="text-align: right;">Triglycérides</p>
Cérides	$\text{HO}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$ <p style="text-align: center;">alcool gras</p>	$\text{H}_3\text{C}-(\text{CH}_2)_n-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{O}-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$
Stérides	 <p style="text-align: center;">Stigmastérol</p>	
Phytols esters		

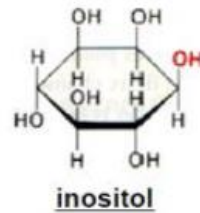
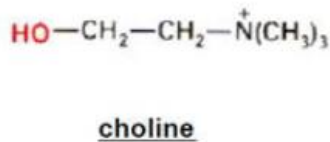
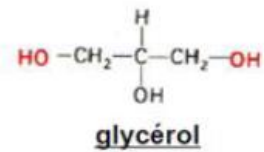
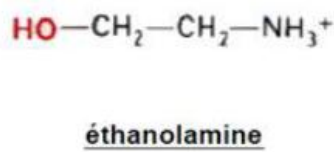
9.2. Les lipides complexes (ou hétérolipides)

Les lipides complexes sont des lipides qui contiennent en plus du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène, des groupe phosphate, sulfate, azote ou glucidique. Ce sont les constituants principaux des membranes biologiques.

Ils sont classés en fonction de la molécule qui fixe les acides gras :

* **Glycérophospholipides** (ou les phospholipides), fixant l'acide phosphatidique

- Un alcool estérifie le P (liaison phosphoester)
- Principaux alcools :

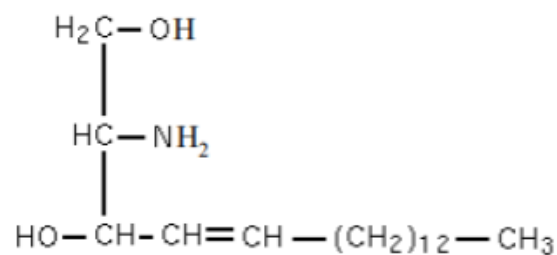


* **Glycéroglycolipides** (ou glycérogalactolipides ou galactolipides) fixant un glucide

* **Sphingolides** fixant de la sphingosine. Ce sont des lipides complexes dont l'acide gras est lié à une base sphingoïde telle que la sphingosine, via une liaison amide.

✓ Structure

- 1 squelette (différent du glycérol) : la sphingosine



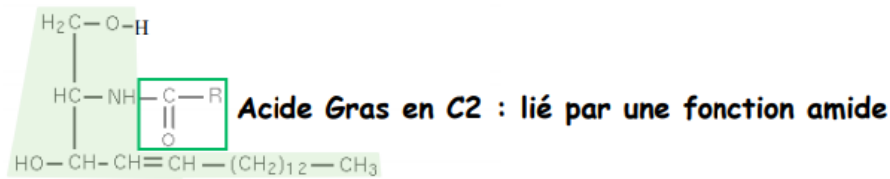
Dans la famille des sphingolipides on trouve :

a. Les céramides

Les céramides: ils sont la combinaison d'une sphingosine avec un acide gras saturé souvent à très longue chaîne (>20). Ils sont les précurseurs de sphingolipides plus complexes.

✓ **Structure**

- 1 squelette (différent du glycérol) : la sphingosine
- 1 acide gras

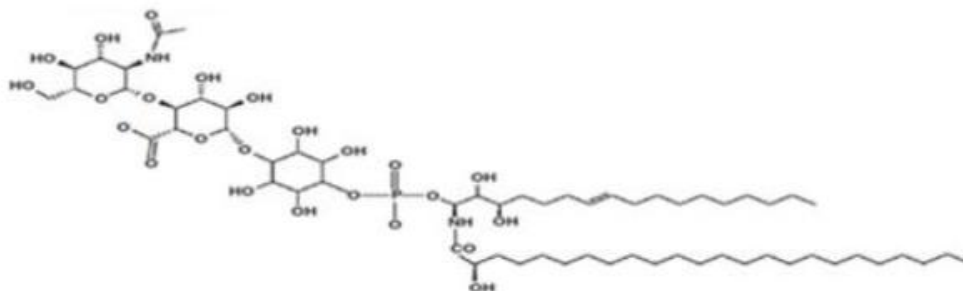


sphingosine + acide gras = céramide

b. Les glycosylinositol phosphorylcéramides

Les glycosylinositol phosphorylcéramides représentent les sphingolipides majoritaires des plantes (64%) et des champignons. Ce sont des molécules complexes, composées d'un céramide et d'une tête polaire.

Cette dernière est constituée d'un inositolphosphate et d'un groupement glycosyl pouvant aller jusqu'à 14 molécules de glucose.



Glycosylinositol phosphorylcéramides

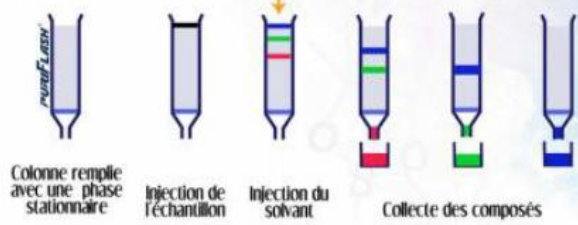
10. Extraction - Purification - Caractérisation des Lipides

Séparation des AG en Chromatographie en Phase Gazeuse : (CPG) *On méthyle les AG pour les rendre plus volatiles *On injecte le mélange qui va être entraîné par la phase mobile = gaz inerte (azote, hélium,...). Les AG seront plus ou moins retenues dans la colonne par une phase stationnaire qui est apolaire (généralement), on fait alors « une chromatographie en phase inverse ». *Les AG sont détectés à la sortie de la colonne, on obtient les résultats du type chromatographes = pics. Le temps de rétention varie en fonction du nombre de C et du nombre de doubles liaisons. + AG est long, + il est retenus dans la colonne + double liaisons imp, + le temps de rétention est important Chaque pic est caractérisé par son temps de rétention et par sa surface (S

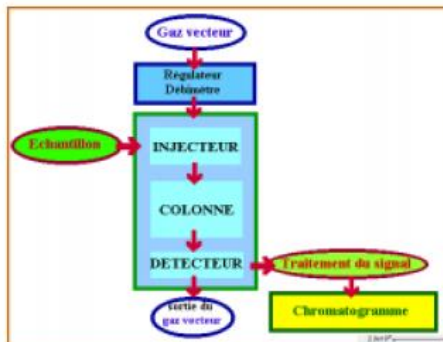
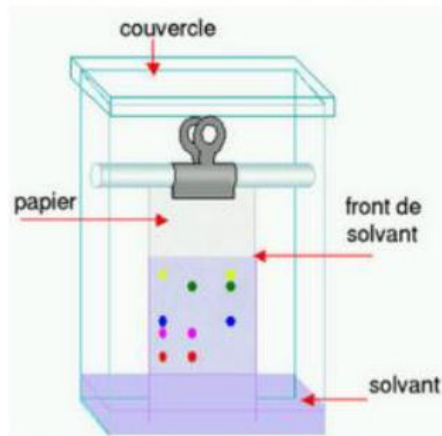
proportionnelle à la concentration). Cette technique de séparation permet la séparation, l'identification et le dosage des AG présent dans le mélange.

Purification: Utilisation des différences de polarité et de solubilité des lipides

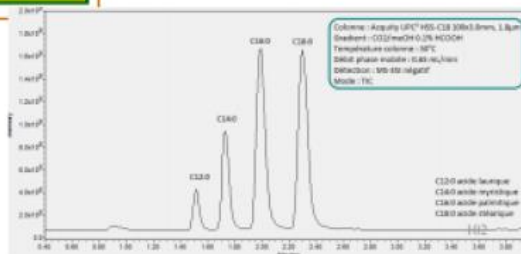
chromatographie d'adsorption

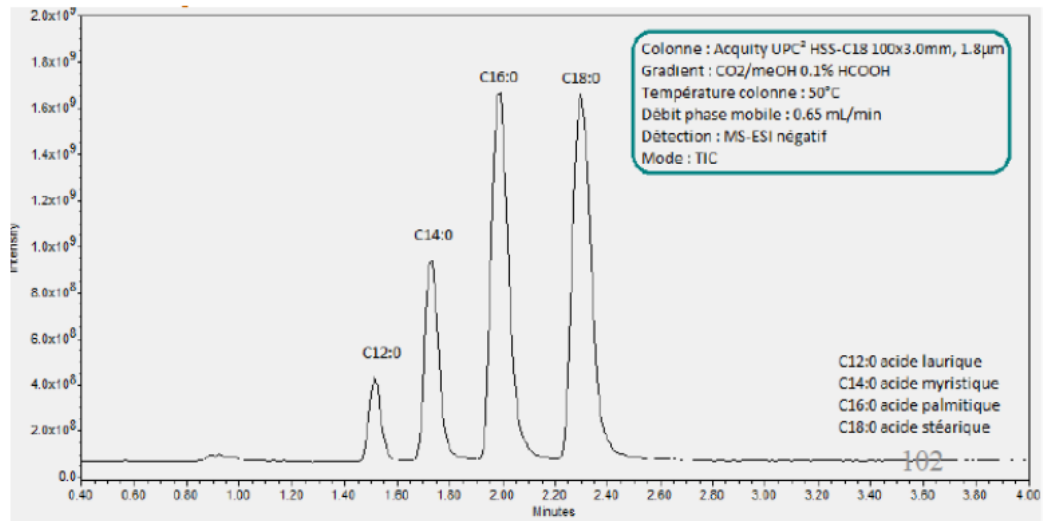


Caractérisation : Chromatographie en couche mince



Caractérisation: chromatographie en phase gazeuse





Cours 16

Les métabolites secondaires

Cours 16

Les métabolites secondaires

1. Définitions

1.1 Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories: les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques.

1.2 Métabolites secondaires

Ces produits, à structure chimique souvent complexe sont très dispersés et très différents selon les espèces. Ils pourraient jouer un rôle dans la défense contre les herbivores, et dans les relations entre les plantes et leur environnement (ex pollinisateurs).

2. Classification des métabolites secondaires

Quatre grandes catégories de métabolites secondaires sont distinguées chez les végétaux :

- * Les composés phénoliques ;
- *Les composés terpéniques et stéroïdes ;
- *Les alcaloïdes (**Guignard, 1996; Krief, 2003**)

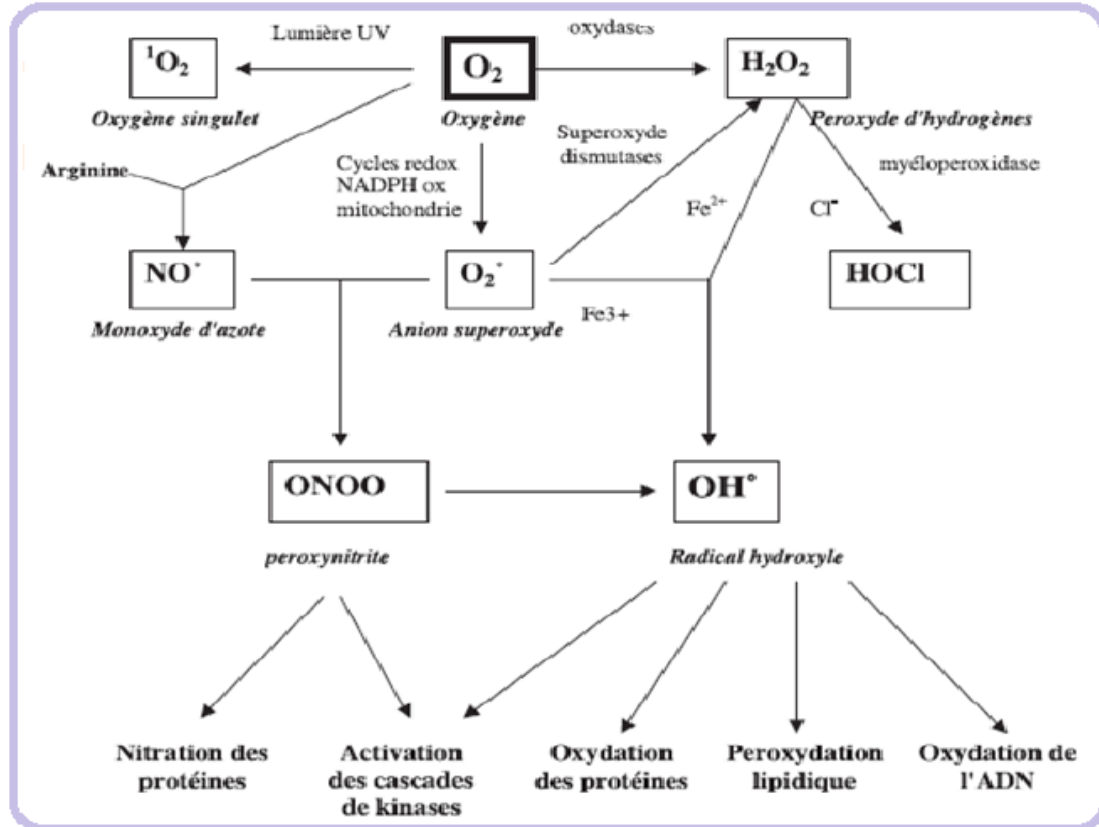
2.1 Les composés phénoliques

Les composants phénoliques sont des métabolismes secondaires caractérisés par la présence **d'un cycle aromatique** portant des **groupements hydroxyles** libres ou engagés avec des glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines).

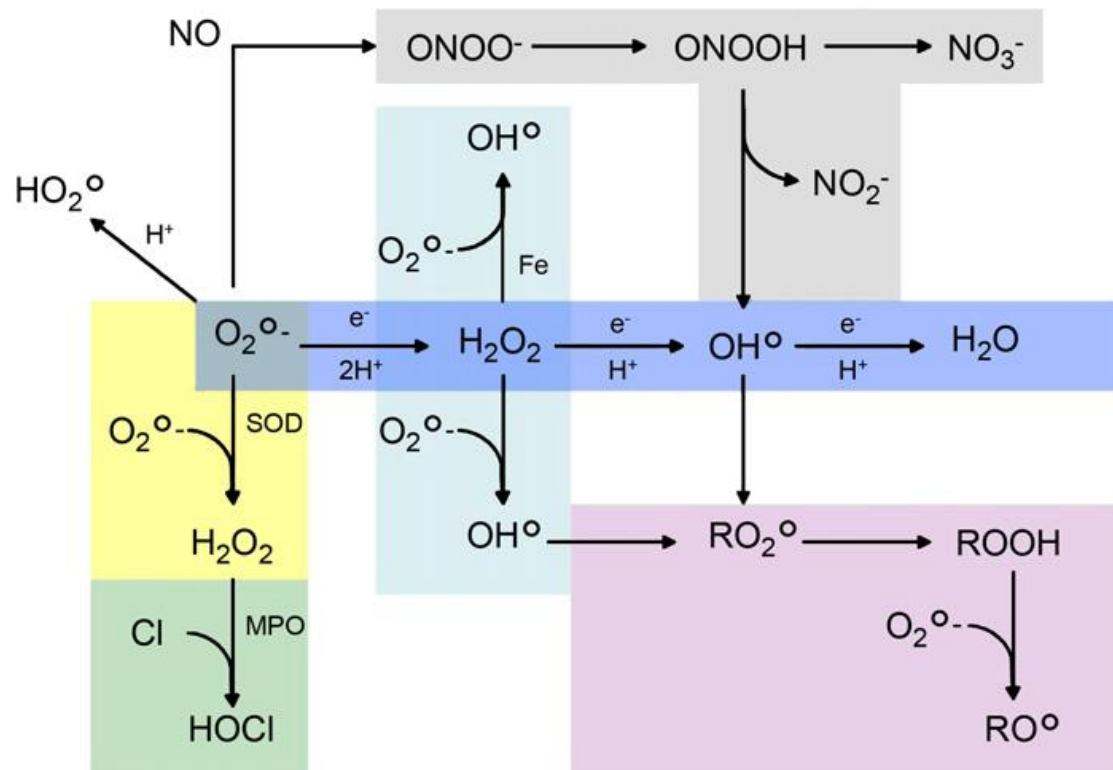
Les composés phénoliques forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes ; sont des molécules biologiquement actives.

- Ils sont largement utilisés en thérapeutique comme vasoconstricteurs (substance qui agit de façon à rétrécir les vaisseaux sanguins), anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques, antioxydants (ralentit ou empêche le processus d'oxydation. Permettent de protéger notre organisme contre les radicaux libres (prévenir des cancers, retard de vieillissement, **Fig.44**) et ainsi, ils permettent la prévention de nombreuses maladies : Abaissement du taux de cholestérol et réduction du risque de maladies cardio-

vasculaires (les antioxydants empêchent l'oxydation des lipides qui peuvent être néfastes pour les vaisseaux sanguins. Par exemple, les caroténoïdes (présents dans les aliments de couleur jaune, orange ou rouge tels que les oranges, les poivrons, les tomates, les pêches, les mangues, ...) permettent de diminuer le taux de LDL-cholestérol (lipoprotéine responsable du transport du cholestérol : low-density lipoproteins mauvais cholestérol) dans le sang.



La **nitration** est une réaction chimique qui permet d'introduire un ou plusieurs groupes nitro NO_2 dans une protéine (modification post-traductionnelle) qui se produit principalement sur les résidus tyrosine. Dont l'effet semble varier considérablement. La nitration résultant du stress oxydatif peut transformer une protéine normalement utile en une protéine toxique (par ex la nitration de la tyrosine)/ La **peroxydation des lipides** (ou encore la peroxydation lipidique ou lipoperoxydation) est l'oxydation des lipides insaturés par des espèces radicalaires de l'oxygène⁶.



Formation en cascade des différentes espèces oxygénées réactives à partir du radical superoxyde.

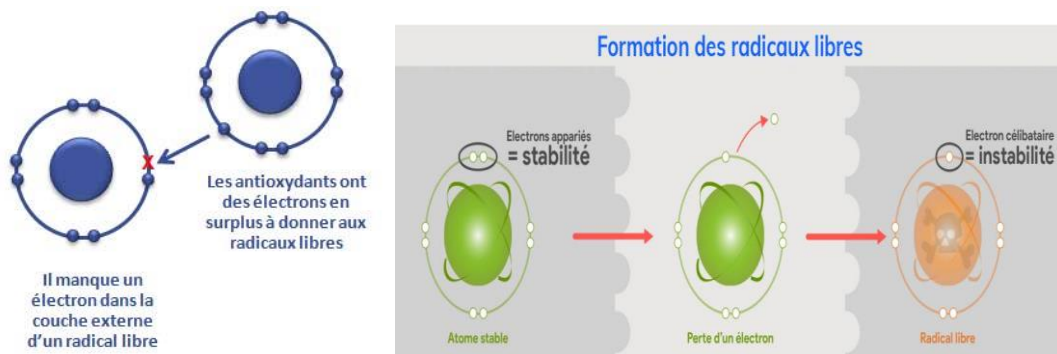
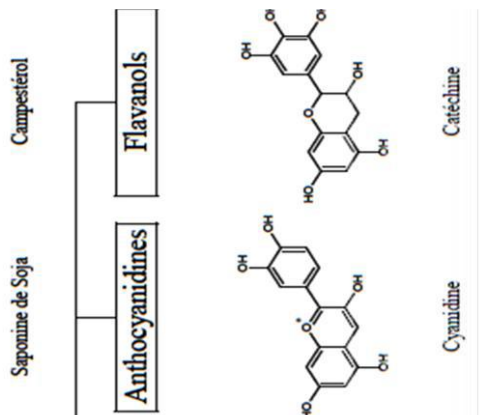
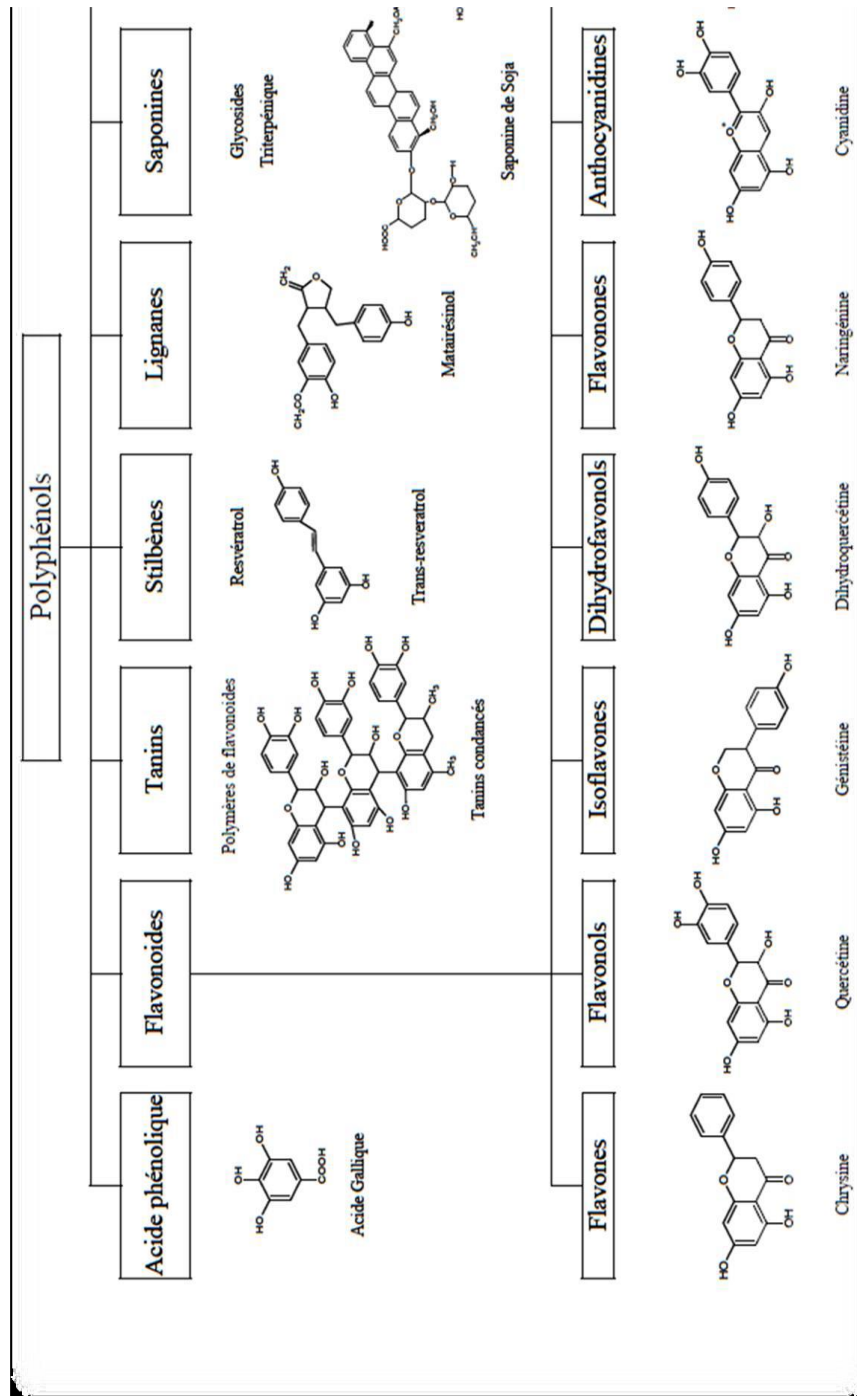


Fig.44 Origine des différents radicaux libres oxygénés et espèces réactives de l'oxygène impliquées en biologie. La principale origine des radicaux libres : l'oxygène.

Les différentes classes des composés phénoliques sont regroupées dans la **figure 45**



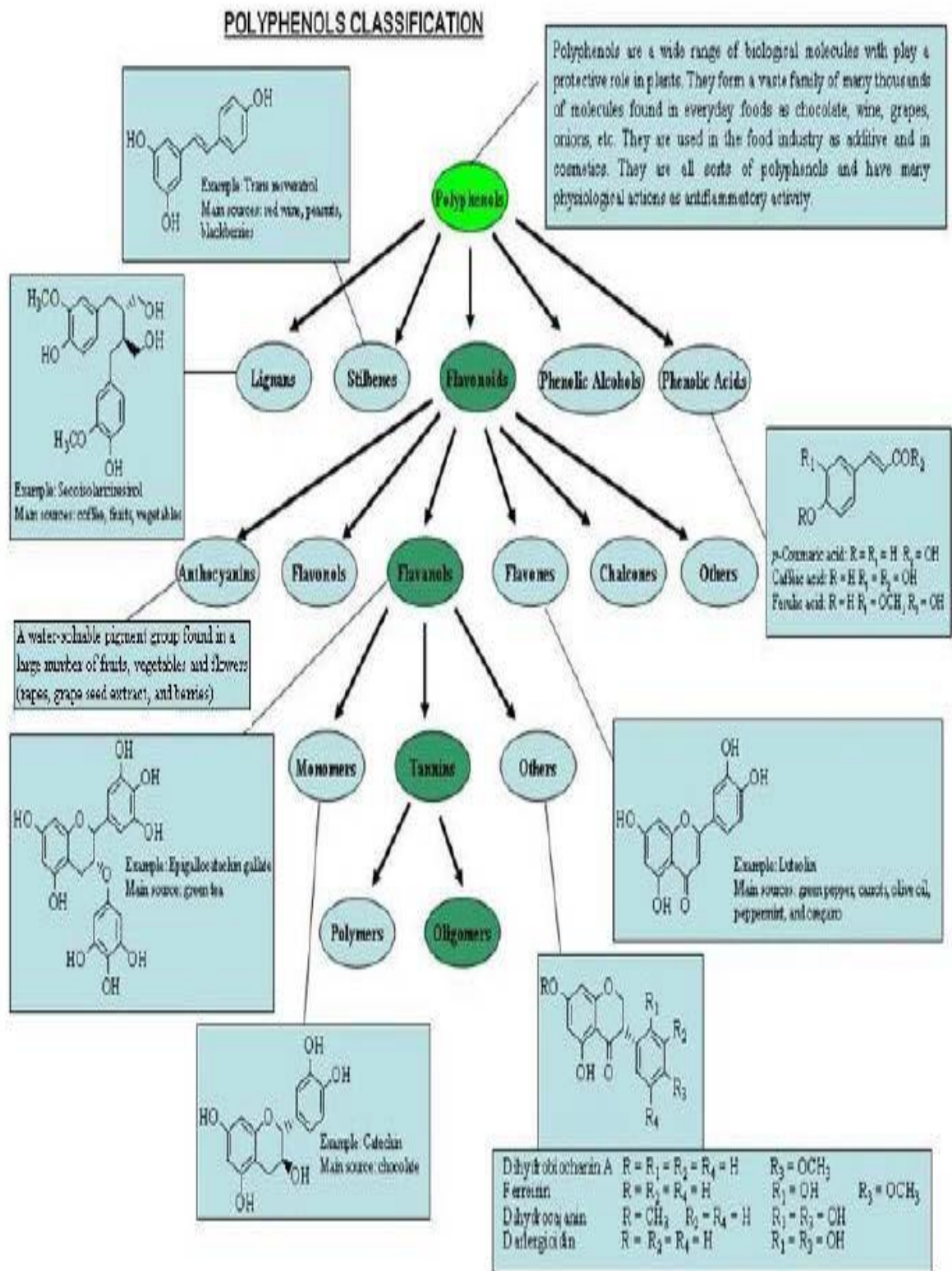


Fig.45 Les différentes classes des composés phénoliques

Les principales classes de composés phénoliques sont illustrées dans le **tab.7** (Macheix, 1996).

Tab.7 Les principales classes de composés phénoliques

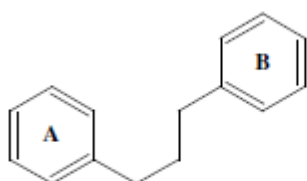
Nombre d'atomes de carbone	Squelette de base	Classe	Exemple	Plante alimentaire (exemple)
6	C ₆	Phénols simples	Catéchol	
7	C ₆ -C ₁	A.Hydroxybenzoïques	<i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Epices, fraise
9	C ₆ -C ₃	A.Hydroxycinnamiques	acide Caféique	Pomme, P. de terre
		Coumarines	Scopoline	Citrus
10	C ₆ -C ₄	Naphthoquinones	Juglone	Noix
13	C ₆ -C ₁ -C ₆	Xanthones	Mangiferine	Mangue
15	C ₆ -C ₃ -C ₆	Flavonoïdes	Quercétol, cyanidol	Fruits, légumes
		Isoflavonoïdes	Daidzeine	Soja, pois
n	(C ₆ -C ₃) _n	Lignines		Fruits à noyau
n	(C ₁₅) _n	Tannins		Raisin rouge, Kaki

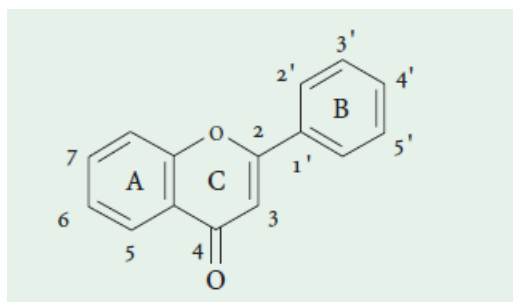
Parmi les polyphénols on cite :

2.1.1 Les flavonoïdes

2.1.1.1 Structure (Fig.46 et 47)

Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés. Ils ont une origine biosynthétique commune et par conséquent, possèdent tous un même squelette de base à quinze atomes de carbones, constitué de deux unités aromatiques, deux cycles en C₆ (A et B), reliés par une chaîne en C₃ (Fig.46, Bruneton, 1999 in Marfak, 2003).



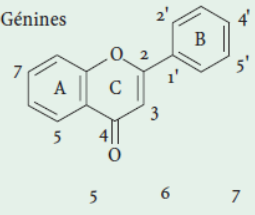
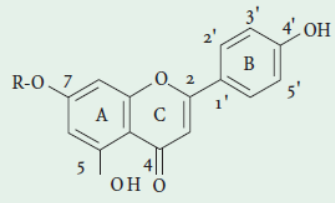
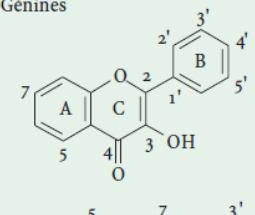
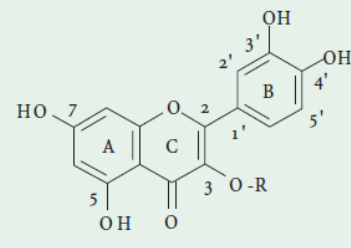
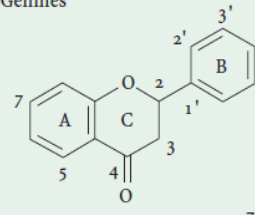
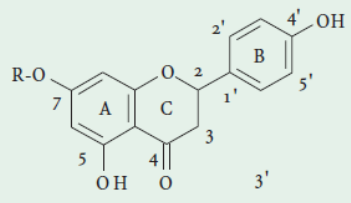
Structures de l'enchaînement benzo- γ -pyrone**Fig.46** Structure de base des flavonoïdes

Les flavonoïdes au sens strict sont des composés dont la substitution par un noyau benzénique se fait en position 2. Les composés présentant une substitution en position 3 sont désignés par le terme iso flavonoïdes. Selon la nature de l'hétérocycle (γ -pyrone, ou son dihydro-dérivé), on distingue:

- les flavones et les flavonols,
- les flavanones, les flavanols et les dihydroflavanols.

Les flavonoïdes peuvent se présenter sous forme d'aglycones ou génines (entités dépourvues de reste osidique) ou d'hétérosides (portant un ou plusieurs résidus osidiques).

Flavones et flavonols sont les composés flavonoïdiques les plus répandus dont notamment : la quercétine, le kaempférol, la myricétine et l'apigénine. Les flavanones (naringénine) et les flavanols (catéchine) ainsi que les dihydroflavonols (dihydrokaempférol, dihydroquercétine) et les dihydroflavan-3,4-diols (leucopélargonidol, leucocyanidol) sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires en raison de leur distribution naturelle restreinte.

<p>Flavones</p> <p>Génines</p> 		<p>Hétérosides</p> 	
Apigénine	OH - OH OH	R = néohespéridoside (Glc-Rha) :	
Lutéoline	OH - OH -	Apigénine-7-néohespéridoside	
<p>Flavonols</p> <p>Génines</p> 		<p>Hétérosides</p> 	
Quercétine	OH OH OH OH -	R = rhamnose : Quercitroside	
Kaempférol	OH OH - OH -		
Myricétine	OH OH OH OH OH		
<p>Flavanones</p> <p>Génines</p> 		<p>Hétérosides</p> 	
Naringénine	OH OH OH	R = néohespéridoside : Naringine	

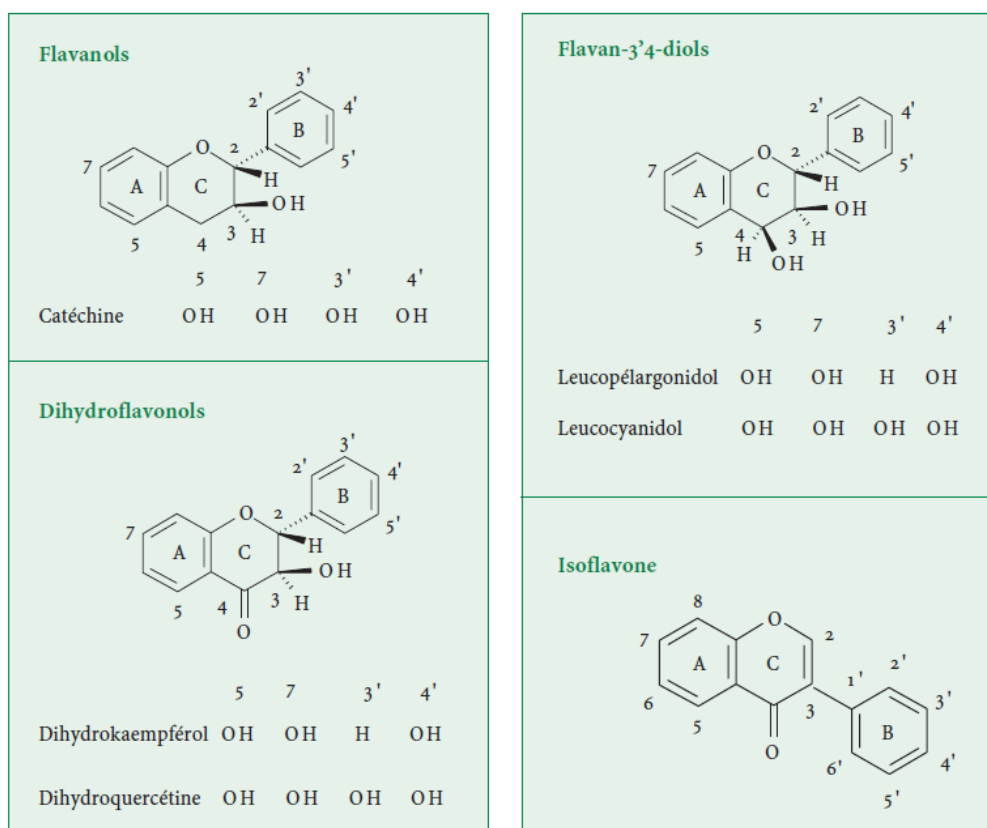


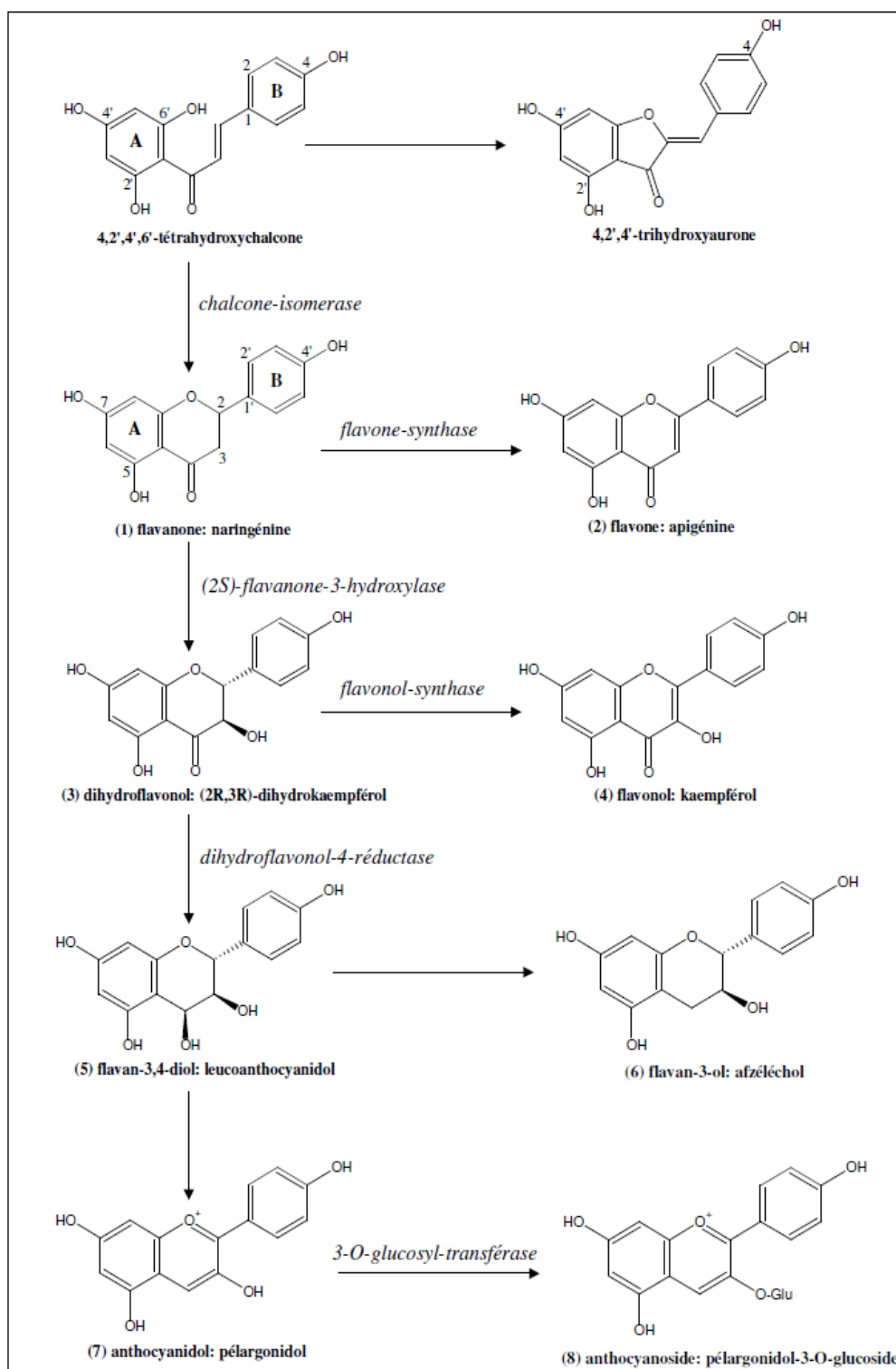
Fig.47 Différents types structuraux de flavonoïdes

Les sources alimentaires des flavonoïdes sont comme suit (**tab.8**)

Tab.8 Les sources alimentaires des flavonoïdes (**Marfak, 2003**)

Flavonoïdes	Aliments
Flavanones	
naringénine	fruits du genre <i>citrus</i>
Flavones	
chrysin	peau des fruits
apigénine	persil, thym, romarin, céleri
lutéoline	persil, céleri
Flavonols	
kaempférol	radis, brocoli, thé noir
quercétine	oignon, pomme, olive, vin rouge, tomate
myricétine	canneberge, vin rouge
Flavan-3-ols	
épicatéchine	thé vert, thé noir
catéchine	thé vert, thé noir
épigallocatechine	vin rouge
Anthocyanidols	
cyanidol	cassis, myrtilles
malvidol	raisins, fraises, cassis
apigénidol	framboises, fraises

2.1.1.2 Biosynthèse des flavonoïdes



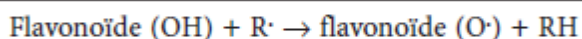
Leur biosynthèse se fait à partir d'un précurseur commun, la 4,2',4',6'-tétrahydroxychalcone. Cette chalcone de couleur jaune est métabolisée sous l'action d'enzyme, la chalcone isomérise, en flavanone (1) : naringénine. C'est sur cette

dernière qu'agit ensuite la flavone synthase ou la (2S)-flavanone-3-hydroxylase pour donner la formation de la flavone (2) : apigénine ou le dihydroflavonol (3) : (2R,3R)-dihydrokaempférol, respectivement. Les deux enzymes fonctionnent différemment, la première introduit la double liaison entre les carbones C-2 et C-3, tandis que la deuxième catalyse l'hydroxylation du carbone C-3. Le dihydroflavonol, en présence de la flavonol synthase ou la dihydroflavonol-4-réductase, se métabolise en flavonol (4) : kaempférol ou en flavan-3,4-diol (5) : leucoanthocyanidol, respectivement. Ce dernier semble être le précurseur des flavan-3-ols (6) et anthocyanidols (7). Cependant, les étapes ultimes de leur formation ne sont pas encore élucidées. Le pélagonidol (7), sous l'action de la 3-O-glycosyltransférase, se transforme en anthocyanoside (8) : pélagonidol-3-glucoside. Les composés de chaque sous-classe se distinguent par le nombre, la position et la nature des substituants (groupements hydroxyles, méthoxyles et autres) sur les deux cycles aromatiques A et B et la chaîne en C3 intermédiaire.

A l'état naturel, on trouve très souvent les flavonoïdes sous forme de glycosides. Une ou plusieurs de leurs fonctions hydroxyles sont alors glycosylés. La partie du flavonoïde autre que le sucre est appelée aglycone (**Bruneton, 1999 in Marfak, 2003**).

2.1.1.3 Activités biologiques des flavonoïdes

Propriétés antioxydantes et piègeurs de radicaux libres La propriété des flavonoïdes la mieux décrite est leur activité antioxydante et leur capacité à piéger les radicaux libres : radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$), anions superoxydes (O_2^-) et radicaux peroxylipidiques, selon la réaction suivante :



Les radicaux libres apparaissent dans plusieurs situations, telles que :

- l'anoxie : qui engendre la production de l'anion superoxyde (O_2^-),
- l'inflammation : qui correspond à la production d'anions superoxydes (O_2^-) par la NADPH-oxydase membranaire des leucocytes activés, et, par dismutation, à celle du très réactif radical hydroxyle ($\text{OH}\cdot$)
- et l'auto-oxydation des lipides : c'est au cours du stress oxydant que les espèces radicalaires, libres de tout contrôle, vont attaquer des cibles bioactives telles que les protéines, altérant ainsi les récepteurs cellulaires et les enzymes, les acides nucléiques (favorisant la survenue des mutations délétères à l'origine de divers cancers) et les lipides, notamment les particules de LDL de l'intima vasculaire, une phase qui constitue le *primum movens* dans la cascade athérogène.

Les flavonoïdes inactivent et stabilisent les radicaux libres grâce à leur groupement hydroxyle (C3-OH) fortement réactif.

Il s sont également capables de chélater les ions métalliques (largués à partir de leurs protéines de fixation ou de transport) qui peuvent renforcer ces effets délétères par la production des radicaux hydroxyles ($\text{OH}\cdot$). En tant qu'antioxydants, les flavonoïdes sont capables d'inhiber la carcinogenèse. Il s inhibent en plus l'angiogenèse, la prolifération cellulaire et affectent le potentiel invasif et métastatique des cellules tumorales.

Propriétés inhibitrices d'enzymes

Les flavonoïdes sont des inhibiteurs enzymatiques à l'égard de l'aldose réductase, de la phospholipase A2 et des enzymes de l'inflammation : la cyclooxygénase et la lipo-oxygénase.

Effets protecteurs vasculaires

Les flavonoïdes agissent sur les vaisseaux sanguins sous forme d'activité vitaminique « P ». Cette activité intervient dans le maintien d'une perméabilité vasculaire normale. Ils sont, de ce fait, utilisés dans certains états pathologiques caractérisés par un défaut affectant la perméabilité vasculaire. Les effets de l'O-β-hydroxyéthyl rutoside (HR) ont été étudiés chez des patients présentant une insuffisance veineuse chronique : un traitement à base de HR a permis de restaurer les paramètres hémorhéologiques altérés. D'autres flavonoïdes sont responsables d'une augmentation de la résistance des capillaires. Cette activité serait en rapport avec les effets de certains flavonoïdes sur les plaquettes, les leucocytes et sur les enzymes intervenant dans la coagulation sanguine.

Propriétés antihépatotoxiques

Des flavonoïdes issus de *Silybum marianum* (chardon marie) ont été utilisés depuis des siècles en médecine traditionnelle dans le traitement des affections hépatiques. Les principes actifs de l'extrait sont constitués d'un mélange complexe (constitué de composés de type flavolignane et flavanone) appelé silymarine, testée sur un modèle expérimental animal, la silymarine a montré qu'elle exerce un effet positif sur les hépatocytes intacts et sur les cellules hépatiques endommagées irréversiblement, agissant sur la membrane cellulaire, prévenant l'entrée des substances toxiques, et qu'elle stimule la capacité régénérative des cellules hépatiques après hépatectomie partielle. L'activité hépatoprotectrice de la silybine, principale flavolignane rencontrée dans la silymarine, a été évaluée chez des souris intoxiquées par des doses non thérapeutiques d'acétaminophène. Ce flavonoïde s'est révélé hépatoprotecteur, mais le mécanisme d'action de cette protection n'est pas encore bien élucidé. La quercétine, issue d'*Artemisia scoparia*, a été décrite comme possédant une activité protectrice vis-à-vis de l'hépatotoxicité du paracétamol chez le rat et la souris.

Propriétés antiallergiques

Les flavonoïdes sont également connus pour leurs effets antiallergiques. Ils agissent par inhibition des enzymes qui favorisent la libération d'histamine à partir des mastocytes et des basophiles : l'AMPc phosphodiesterase et la Ca⁺⁺ ATPase. En outre, la quercétine exerce un puissant effet inhibiteur de la libération d'histamine à partir des mastocytes.

Activité anti-inflammatoire

In vitro, plusieurs flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique plaquettaire. C'est ainsi que la myricétine et la quercétine bloquent l'action des cyclo-oxygénase et lipoxygénase à des concentrations relativement élevées. À faibles concentrations, c'est la lipoxygénase qui est inhibée

préférentiellement. Certains travaux suggèrent qu'ils posséderaient une bonne activité anti-inflammatoire sans les effets indésirables de type ulcérogène. L'héspéridine, administrée par voie sous-cutanée (car inactive *per os*), présente une activité anti-inflammatoire significative chez le rat dont l'oedème a été induit aussi bien par la carragénine que par le dextran (Ghedira,2005).

2.1.2 Les Tanins

Ils sont d'origine végétale et non azotée.

A l'origine, les tanins sont définis comme les molécules biochimiques permettant l'obtention de cuir à partir de peau (White 1957). Une définition plus précise a été proposée par Bate-Smith et Swain en 1962 : « les tanins sont des polyphénols hydrosolubles de masse molaire comprise entre 500 et 3 000 g/mol qui présentent, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines ». Dans la littérature, cette appellation est souvent employée de façon imprécise et concerne généralement toute molécule polyphénolique précipitant des protéines. Cet abus est le plus souvent lié au fait qu'il n'existe pas de méthode universelle de dosage des tanins (Deshpande *et al* 1986).

(Zimmer et Cordesse, 1996)

2.1.2.1. Structure (Fig.48)

Les tanins sont des molécules complexes et variées pouvant se lier très facilement à de nombreuses molécules, en particulier les protéines, et perturber ainsi les mécanismes biologiques. Pourtant, ingérés en faibles quantités, ils présentent des intérêts tel la diminution du risque de météorisation chez les ruminants.

Les zones à végétation riche en tanins constituent des surfaces importantes qu'il convient d'entretenir (objectif de prévention contre l'incendie en garrigue méditerranéenne). La gestion de ces espaces peut être réalisée en utilisant des animaux adaptés (chèvres) ou en recherchant des procédés pour

éliminer les tanins; procédés physiques ou chimiques, traitement à l'urée ou ajout de complexants pour les neutraliser (Zimmer et Cordesse, 1996).

Les tanins sont classés en deux groupes selon leur structure chimique.

***Tanins condensées ou non hydrolysables**

Les tanins condensés (ou proanthocyanidines) sont des polymères d'unités flavaniques, le plus souvent liées entre elles par des liaisons C4-C8 (figure 1). Les précurseurs sont des flavan-3-ols (catéchine et épicatechine) et flavan-3,4 diols. Cette classe de tanins est la plus représentée dans le monde végétal, aussi bien chez les Angiospermes que les Gymnospermes (Mc Leod 1974) et les Ptéridophytes (Laurent 1975). Les tanins condensés avec lesquels la plupart des études nutritionnelles sont réalisées sont ceux de

quebracho (*Schinopsis lorentzii* ou *balansae*), d'acacia (*Acacia mollissima*), de sorgho ou de raisin.

Ils ne renferment pas de sucres dans leur molécule ; ils ne sont hydrolysés ni par les acides, ni par les tannases mais en présence d'acides forts ou d'agents d'oxydation, ils se transforment en polymères de flavan-3-ols, appelés aussi catéchines et de flavan-3,4- diols appelés leucoanthocyanidines ou un mélange des deux (**in Zimmer et Cordesse, 1996**).

***Tanins hydrolysables**

Ce sont des polyesters d'oses et d'acides phénols. Les oses trouvés dans ces tanins sont surtout représentés par le glucose, ces tanins sont de deux types.

*Les tanins galliques qui sont les esters d'oses (glucose) et d'acides galliques.

*Les tanins ellagiques qui sont des esters d'oses et d'acide ellagiques. Dans les deux cas, la fraction osidique est estérifiée par plusieurs molécules d'acide ellagique.

Les tanins hydrolysables sont des esters de sucre simple (glucose ou xylose principalement) et d'acides phénoliques (figure 1). Par hydrolyse (acide, alcaline ou enzymatique), les acides phénoliques libérés sont l'acide gallique ou l'acide ellagique ce qui divise ces tanins hydrolysables en deux sous-classes : les tanins galliques (gallotanins) et les tanins ellagiques (ellagitanins). Contrairement aux tanins condensés, ils ne sont présents que chez les Dicotylédones. Le plus connu est l'acide tannique (figure 1), extrait de la galle de chêne (*Quercus infectoria*) (Mitjavila 1971). D'autres tanins hydrolysables sont extraits industriellement tels ceux de diverses galles ou cœur du bois de variétés de chêne et de châtaignier (*Castanea sativa* et *dentata*) et fruits secs de myrobolan (*Terminalia chebula*) (Bruneton 1987).

La différence de structure chimique entre les deux classes de tanins est responsable de réactions chimiques spécifiques à chaque classe. En milieu acide, alors que les tanins hydrolysables sont hydrolysés, les tanins condensés donnent des composés colorés, les anthocyanidines ; les produits d'hydrolyse tendant à se polymériser, il y a également apparition d'un précipité de polymères insolubles : les phlobaphènes (Bruneton 1987).

(in Zimmer et Cordesse, 1996).

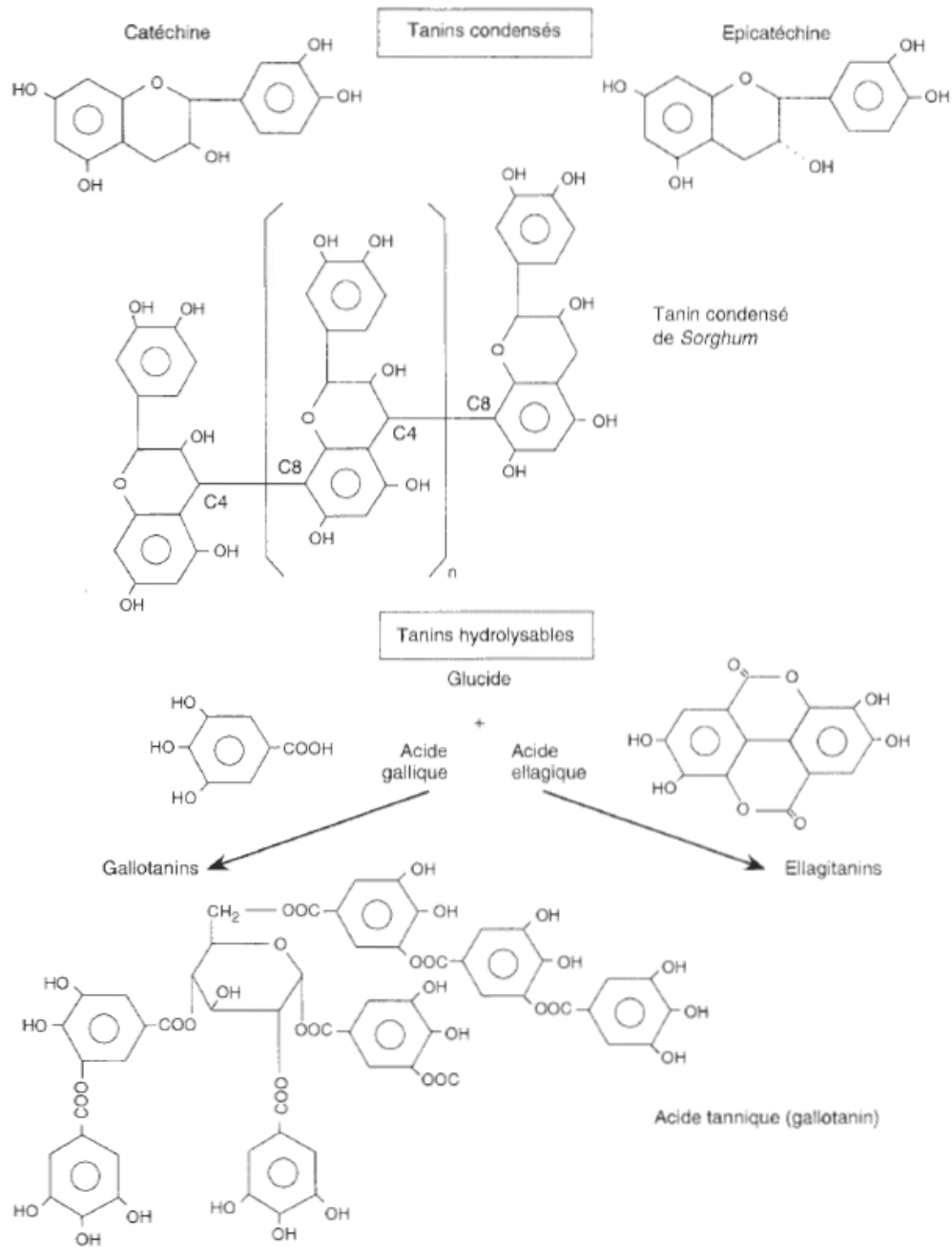


Fig.48 Structure des précurseurs des deux classes de tanins et exemple de structure de tanins végétaux (Porter, 1989 in Zimmer et Cordesse, 1996).

2.1.2.2. Activité biologique

Les tanins sont des métabolites secondaires importants dans le règne végétal. Ils s'intègrent dans la défense des végétaux contre les herbivores, en particulier pour les plantes se développant dans les zones difficiles.

La structure chimique de ces polyphénols leur confère une capacité très développée à se fixer sur toutes sortes de molécules, essentiellement les protéines. Ces interactions faisant intervenir les différents types de liaison possibles sont dépendantes de nombreux facteurs liés au milieu et à la structure des molécules réactantes (importance de la présence de proline chez les protéines).

Ces aspects biochimiques permettent de se rendre compte de l'incidence et de la complexité des actions des tanins dans l'alimentation. La principale conséquence chez les ruminants est une diminution de la dégradation des protéines alimentaires dans le rumen, mais aussi une perturbation des activités microbiennes (rumen, caecum), une diminution de l'ingestion et même une toxicité.

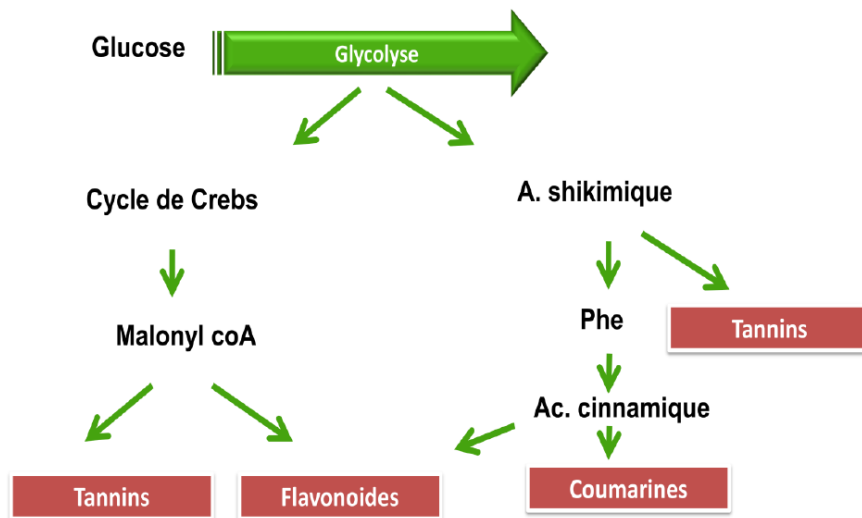
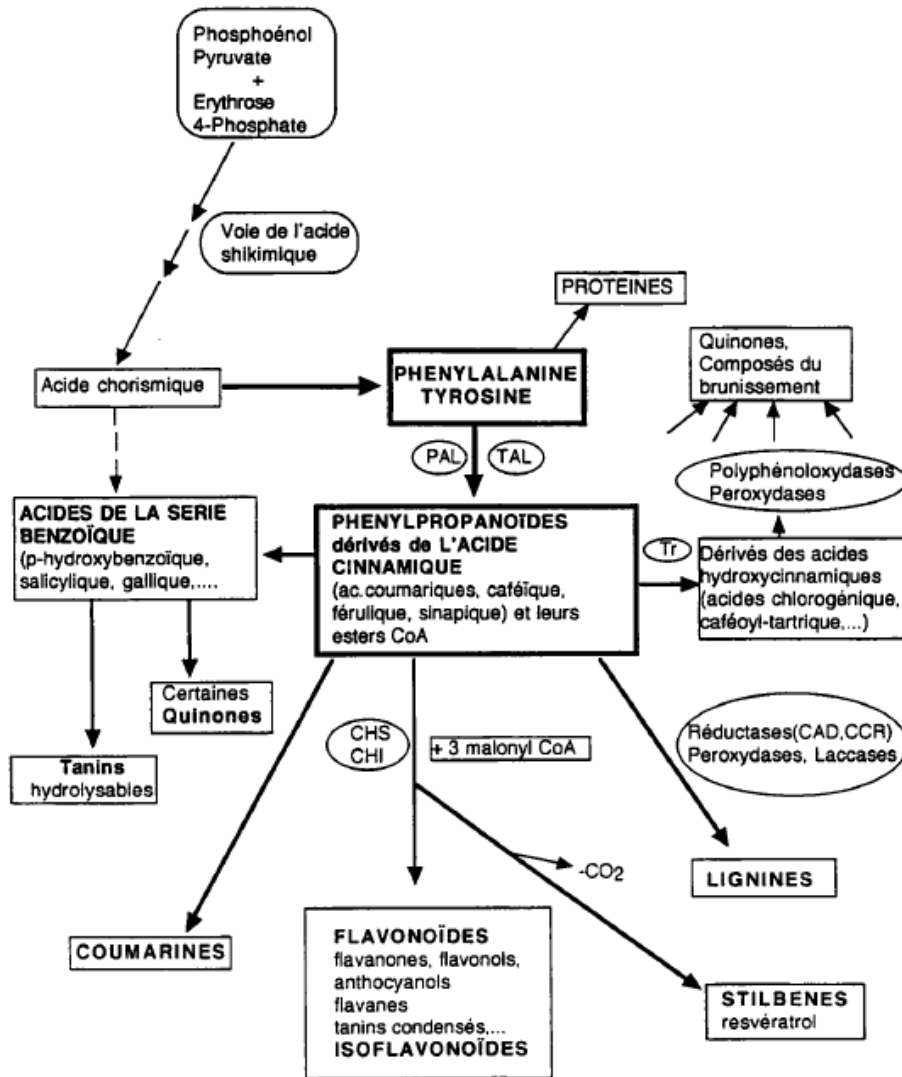
Les herbivores adaptés à une alimentation riche en tanins ont su développer des mécanismes de protection, en particulier la synthèse de protéines salivaires riches en proline « neutralisant » les tanins ingérés.

Le tannage des protéines alimentaires par les tanins naturels est un débouché potentiel en alimentation des ruminants.

(Zimmer et Cordesse, 1996)

Par voie interne, ils ont un effet antidiarrhétic. Par usage externe, ils imperméabilisent les couches les plus externes de la peau et des muqueuses, protègent ainsi les sous-jacentes et en empêchant les agressions externes. Les tanins favorisent la régénération des tissus en cas de blessures superficielles ou de brûlures. Ils ont un effet vasoconstricteur (commande la diminution du calibre d'un vaisseau par contraction de ses fibres musculaires) sur les petits vaisseaux superficiels. Quelles que soit la voie d'administration l'effet antiseptique, antibactérien et antifongique, est intéressant notamment pour les diarrhées infectieuses et les dermatoses. D'une façon générale, se sont des inhibiteurs enzymatiques. Certains tanins, aux structures voisines de celles des flavonoïdes, ont des propriétés vitaminiques (protecteur capillaire).

2.1.4 Biosynthèse des composés phénoliques (Fig.49)



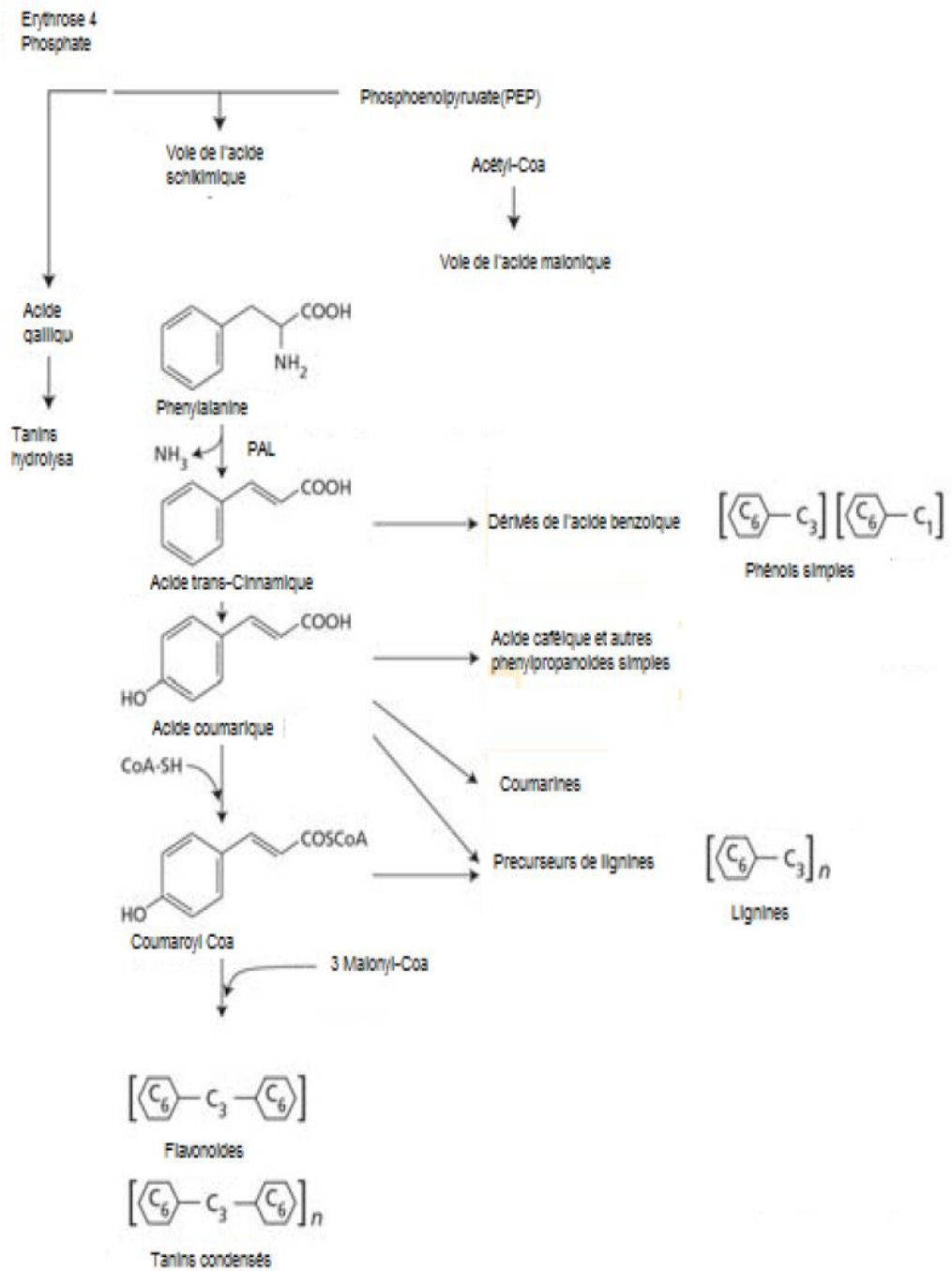
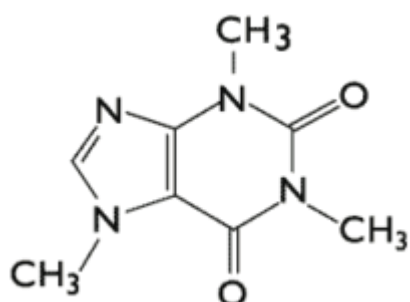


Fig. 49 Les grandes lignes du métabolisme phénolique. PAL, phénylalanine ammonia-lyase ; Phe, Phénylalanine (Macheix, 1996).

2.2 Alcaloïdes

2.2.1. Structure



Un alcaloïde est une **substance organique azotée** (appartenant au vivant) d'origine végétale, à caractère alcalin et présentant une structure complexe. Leur atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique; les alcaloïdes possèdent une activité pharmacologique significative.

On trouve des alcaloïdes, en tant que métabolites secondaires, principalement chez les végétaux, les champignons et quelques groupes animaux peu nombreux. Habituellement, les alcaloïdes sont des dérivés des acides aminés. Tous les ans, une centaine de nouvelles molécules d'alcaloïdes seraient ajoutées par les scientifiques du monde entier.

Les proto-alcaloïdes sont des amines simples dont l'azote n'est pas inclus dans un système hétérocyclique. Les alcaloïdes ont, de plus, la propriété de réagir avec des sels de métaux lourds, ce qui permet leur caractérisation aisée (réactifs de Mayer, de Dragendorff, de Wasicky, de Bouchardat).

2.2.2 Activité biologique

Le principal rôle des alcaloïdes est de défendre la plante contre les mammifères et les insectes. Leur mode d'action dépend de l'espèce végétale: quelques plantes possèdent des alcaloïdes qui entraînent des syndromes neurologiques, Ces espèces ont provoqués de nombreuses intoxication et la mort de bétails. Pour les plantes de type digitale, la digitaline entraîne une augmentation des contractions cardiaques voire un arrêt cardiaque selon la dose.

De nombreux alcaloïdes sont utilisés en pharmacie :

- La morphine est un antalgique majeur
- La codéine est utilisée en tant qu'analgésique et antitussif
- La quinine permet de lutter contre le paludisme
- L'atropine dilate les pupilles, ce qui facilite les examens ophtalmologiques
- La vimblastine est utilisée en chimiothérapie anticancéreuse

D'autres alcaloïdes ont des usages plus courants comme la nicotine employée dans la fabrication d'insecticides et de cigarettes,

- La cocaïne est une drogue ayant une action stimulante.

2.2.3 Biosynthèse

La synthèse des alcaloïdes a lieu au niveau du réticulum endoplasmique, puis les alcaloïdes se concentrent dans la vacuole. Chez les pavots, ces vacuoles sont spécialisées en laticifères. Généralement, les alcaloïdes sont produits dans les tissus en croissance : jeunes feuilles, jeunes racines. Puis, ils gagnent ensuite des lieux différents et, lors de ces transferts, ils peuvent subir des modifications. Ainsi, la nicotine, produite dans les racines, migre vers les feuilles où elle est déméthylée. Chez de nombreuses plantes, les alcaloïdes se localisent dans les pièces florales, les fruits ou les graines (**Krief, 2003**).

2.3 Les composés terpéniques et stéroïdes

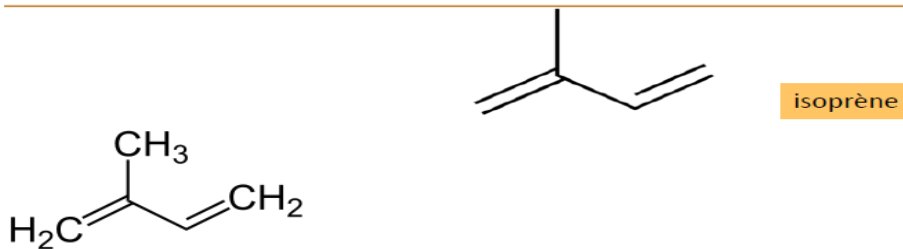
2.3.1 Structure

Les composés terpéniques et stéroïdes sont issus des mêmes précurseurs, et formés à partir de l'assemblage d'unités à 5 carbones ramifiées, dérivées du 2-méthylbutadiène (polymères de l'isoprène), les terpénoïdes et les stéroïdes constituent probablement la plus large classe de composés secondaires. Comme les dérivés des acides gras, telles les acétogénines, les terpènes ont pour origine biosynthétique l'acétyl CoA ou le malonyl CoA. Néanmoins, ils ne sont pas spécifiques des végétaux puisque le squalène, le cholestérol ou encore des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent chez les animaux. Cependant, l'extrême diversité des terpénoïdes chez les végétaux contraste avec le petit nombre détecté chez les animaux.

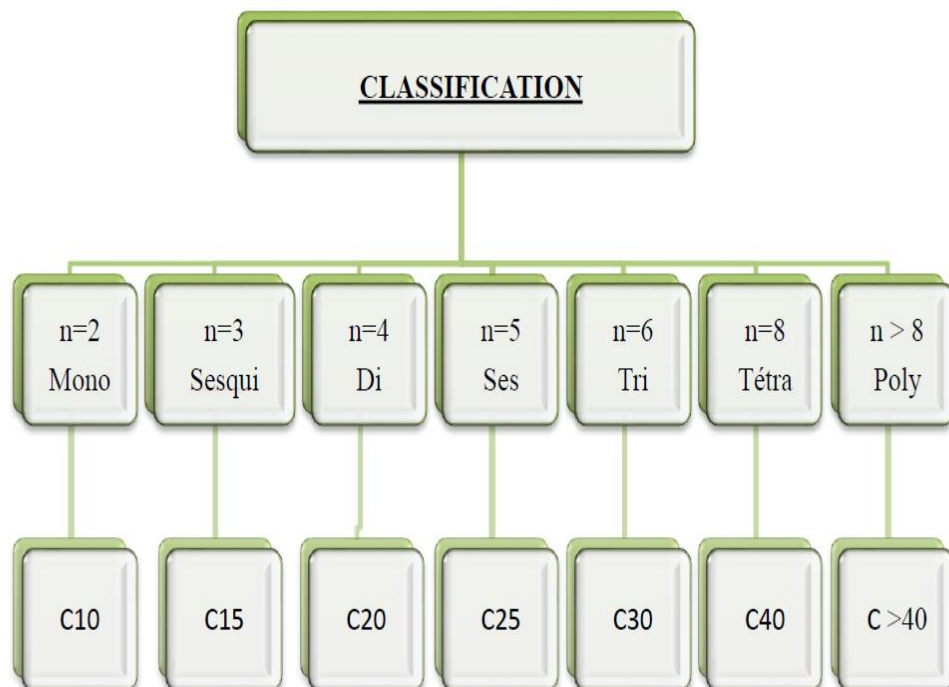
Le nombre d'unités isopréniques définit les différentes classes de terpènes : monoterpènes (C10), sesquiterpènes (C15), diterpènes (C20), sesterterpènes (C25), triterpènes (C30) et tétraterpènes (C40). Les terpènes simples en C10 et C15 sont certainement apparus tardivement au cours de l'évolution et caractérisent les plantes vasculaires ayant développé des appareils sécréteurs (**Krief, 2003**).

Terpènes, Principalement produit par les conifères, c'est un composant qui se retrouve dans la **résine végétale**. Cet hydrocarbure, possède alors des propriétés odoriférantes qui lui sont propres. Composés organiques ont en effet une forte odeur, censée protéger la plante d'être dévorée par des herbivores ou des insectes nuisibles. Aussi, ce sont ces mêmes odeurs qui jouent un rôle central au sein de la pollinisation: en attirant le plus grand nombre d'abeilles.

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures, produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont des composants majeurs de la résine et de l'essence végétale. Les terpènes se rencontrent également chez les Métazoaires (phéromones et hormones sesquiterpéniques des Hexapodes, diterpènes d'organismes aquatiques



* **Classification des terpènes**



- **Terpénoïdes (isoprénoïdes)**, bien que souvent confondus avec des terpènes, possèdent néanmoins une différence fondamentale. En effet, **un terpénoïde est composé de terpène ainsi que d'autres éléments (par oxydation)**. C'est une sorte de terpène amélioré.

Les terpénoïdes sont des molécules à nombre de carbones multiple de 5, et dont le précurseur est l'isoprène. Ce sont des lipides synthétisés à partir de l'acétyl-CoA, ce sont donc des molécules hydrophobes. Il existe 20 000 molécules connues avec comme motif commun cette base isoprène. Les terpénoïdes sont stockés dans les vacuoles au niveau des épines, des racines ou encore des feuilles.

*Triterpènes et stéroïdes

Les triterpènes sont des composés en C₃₀ issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du squalène. Les stéroïdes peuvent être considérés comme des triterpènes tétracycliques ayant perdu au moins trois méthyles. Ce sont des métabolites secondaires dont l'intérêt thérapeutique et l'emploi industriel est majeur. On peut en particulier noter l'intérêt des **hétérosides cardiotoniques** ou des sapogénines spirostaniques qui constituent les squelettes de base des contraceptifs, des anabolisants et des anti-inflammatoires. Mais il faut aussi souligner les problèmes liés aux saponosides, autres triterpènes, qui peuvent diminuer la valeur nutritive des fourrages ou expliquer la toxicité de certaines plantes.

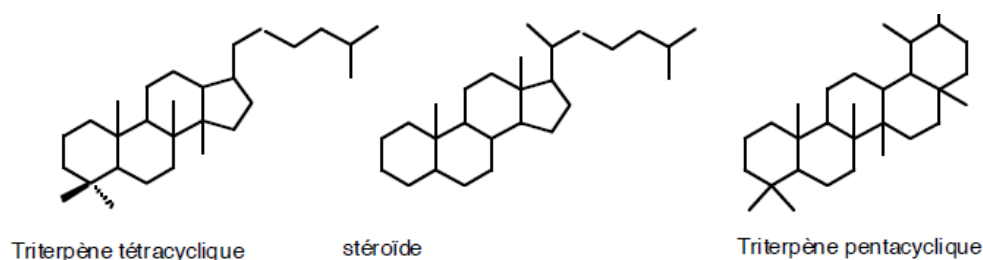


Fig. Squelettes de base des triterpènes

-Les saponosides

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides très fréquents chez les végétaux. Ils se caractérisent par des effets tensio-actifs leur conférant la propriété de former des solutions moussantes lorsqu'ils sont dissous dans l'eau. Ils peuvent être classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être stéroïdique ou triterpénique. Les génines stéroïdiques possèdent un squelette en C₂₇ et six cycles. Les saponosides stéroïdiques sont rencontrés dans de nombreuses plantes, mais ils sont aussi caractéristiques des étoiles de mer. Certains ont servi pendant un temps à la synthèse des stéroïdes (diosgénines des *Dioscorea*). Ainsi la sarsapogénine, provenant de l'hydrolyse du sarsaparilloside, a été utilisée comme matière première de synthèse des stéroïdes. Les saponosides triterpéniques ont souvent un squelette pentacyclique, oléananes ou ursanes. Les chaînes osidiques des saponosides sont le plus souvent formées de 2 à 10 oses banals, liés à la génine par une liaison de type ester ou éther.

-Les hétérosides cardiotoniques

Les glucosides cardiotoniques sont présents notamment dans les familles des Asclepiadaceae et des Apocynaceae. Ils sont de structure homogène, comprenant une

génine stéroïdique de type cardénolide (C23) ou bufadiénolide (C24) et une partie osidique constituée d'un ose (ouabaine) et souvent d'un oligoside. L'activité cardiotonique est liée à la génine. Elle se traduit par une augmentation de la contractilité (effet inotrope positif), une diminution de la fréquence cardiaque (effet chronotrope négatif) et une diminution de la vitesse de conduction à la jonction auriculoventriculaire (effet dromotrope négatif). Les digitales (*Digitalis* sp. Scrophulariaceae) renferment des hétérosides de cardénolides mais seules la digitale pourpre (*Digitalis purpurea* L.) et la digitale laineuse (*Digitalis lanata* Ehrh.) sont utilisées pour l'extraction de la digitoxine, de la digoxine et de leurs dérivés.

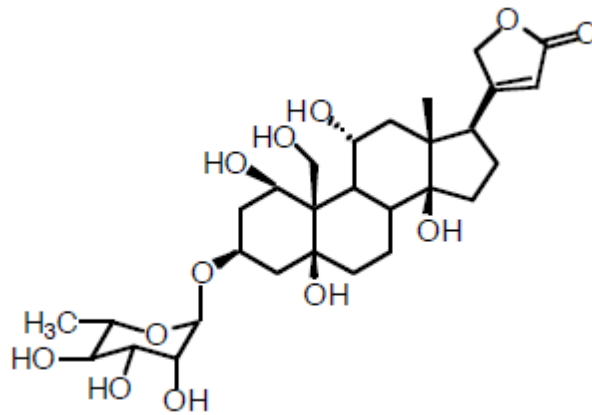


Fig. Exemple d'un hétéroside cardiotonique: l'ouabaine

*Les caroténoïdes

Ce sont des molécules tétraterpéniques, constituées de l'enchaînement de 8 unités isopréniques, possédant un chromophore caractéristique (au moins 10 doubles liaisons conjuguées) expliquant leur couleur jaune-orangée et leur sensibilité à l'oxydation. Les caroténoïdes sont employés en industrie agro-alimentaire principalement pour leur pouvoircolorant (safran : *Crocus sativus* L. Iridaceae) mais on peut aussi noter qu'ils sont préconisés en cas de photodermatose puisqu'ils interfèrent avec les processus de photo-oxydation.

* Les polyterpènes

Hautement polymérisés (500 à 5000 restes), ce sont les composants des latex. Si le laticifère est endommagé, les particules de polyterpène s'agglomèrent et permettent de refermer les lésions (Krief, 2003).

2.3.2 Activité biologique

Les terpénoïdes sont pour la plupart des anti-herbivores. Ils ont des effets différents selon la plante, ils peuvent provoquer des convulsions, des allergies de la peau. Ils ont un goût amer et peuvent également inhiber les microsymbioses de l'appareil digestif.

Celui-ci empêche les insectes de se nourrir et ces derniers finissent par mourir de faim. Les terpénoïdes sont également utiles au développement de la plante

Les terpénoïdes sont également utilisés au développement de la plante (certains terpénoïdes stimulent la croissance des feuilles)

Les diterpènes sont des hormones végétales impliquées dans beaucoup de réponses de la plante, elles provoquent aussi un allongement de la tige.

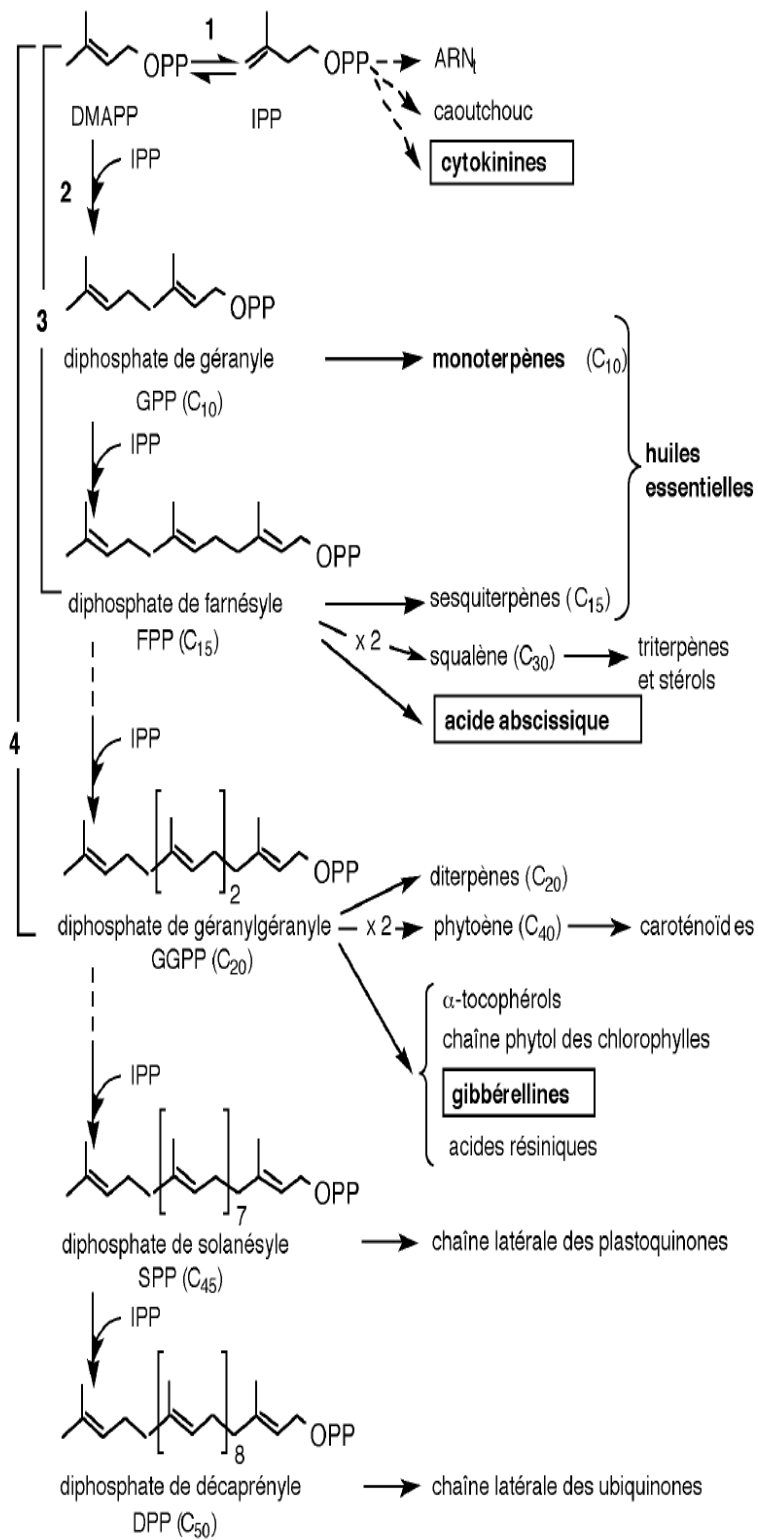
Les caroténoïdes, sont des précurseur de quelques vitamines (vit. A)

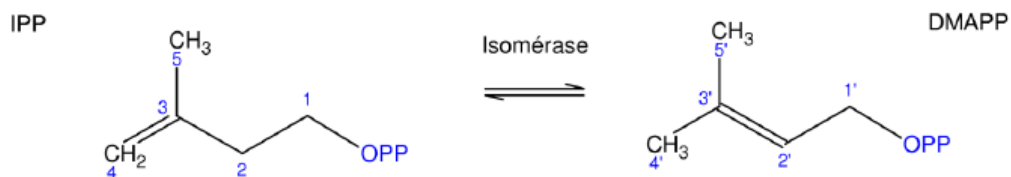
De nombreux terpénoïdes sont utilisés comme antiseptiques et dans certains domaines comme la cosmétique.

Le taxol, extrait de l'écorce, est un agent anti-cancéreux. Il inhibe la division cellulaire par stabilisation de la tubuline et du fuseau mitotique.

Il semble que les saponosides jouent un rôle de défense du végétal contre les pathogènes microbiens. Les interactions mises en jeu avec les stérols de la membrane ont pour conséquence des propriétés hémolytiques et une activité spermicide de certaines molécules. Elles sont toxiques pour les animaux à sang froid et en particulier pour les poissons et les mollusques. Certaines drogues à saponosides sont utilisées pour leurs propriétés antitussives (rhizome de la réglisse), mais aussi anti-oedémateuses (cotylédons de la graine de Marronnier d'Inde) ou encore analgésiques (*Platycodon grandiflorum*, **Krief, 2003**).

2.3.3. Mode d'élongation des processus terpéniques (Fig.50, 51, 52)





isopentényle diphosphate (IPP) et son isomère le diméthylallyl diphosphate (DMAPP)

Fig.50 Mode d'élongation des processus terpéniques. IPP, isopentényle diphosphate; 1 : isopentényl diphosphate isomérase ; 2 : géranyl diphosphate synthétase ; 3 : farnésyl diphosphate synthétase ; 4 : géranylgéranyl diphosphate synthétase (**Rohmer et Rohmer 1999 in Guitton, 2010**).

La diversité de ces composés repose sur différents facteurs tels que la longueur de la chaîne carbonnée, le type de condensation des précurseurs et le type de cyclisation auxquels s'ajoutent des modifications secondaires. Ainsi, les terpènes formés par les TPS sont classés par rapport au nombre d'unités en C5 qui les constitue. On parle de monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes pour les molécules respectivement en C10, C15 et C20 formées respectivement à partir des substrats prényl-diphosphates suivants : géranyl diphosphate (GPP), farnésyl diphosphate (FPP) et géranylgéranyl diphosphate (GGPP). Ces précurseurs de terpènes sont synthétisés par des enzymes de la famille des prényltransférases par condensation de l'IPP avec le DMAPP, le GPP ou le FPP respectivement.

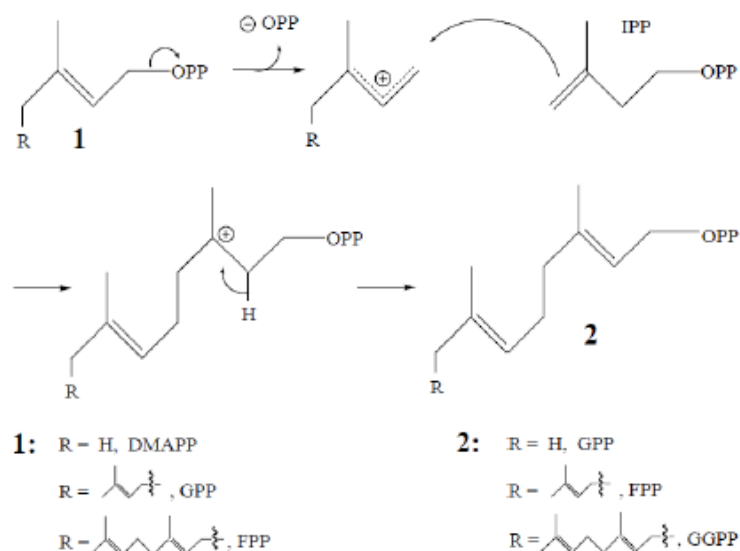


Fig.51 Mécanisme de réaction des prényltransférases illustrant la liaison faite par la GPP synthase, la FPP synthase et la GGPP synthase (d'après **Burke, Wildung et al. 1999 in Guitton, 2010**).

La **fig.51** montre que le GPP est formé par une réaction d'ionisation du DMAPP (perte du groupe OPP) suivie d'une réaction de liaison entre le carbone (1') du DMAPP et le carbone (4) de l'IPP, on parle aussi de liaison « tête-queue ». Il en est de même pour le FPP à partir du GPP et pour le GGPP à partir du FPP. Les molécules formées à partir de ces précurseurs issus de liaison (1'-4) sont des terpènes réguliers. Les terpènes irréguliers utilisent les mêmes précurseurs mais sont issus soit de cyclopropanation (c1'-2-3), soit de liaison latérale (1' - 2), soit de cyclobutatanation (c1'-2-3-2', **Thulasiram, Erickson *et al.* 2008 in Guitton, 2010**). Parmi les terpènes irréguliers on trouve le squalène et le phytoène à l'origine des stérols et des caroténoïdes qui sont tous deux issus de condensations (1-1' - « tête-tête » puis cyclisation 2-3 de deux FPP et de deux GGPP, respectivement, **Thulasiram, Erickson *et al.* 2008; Zhao, Inoue *et al.* 2003 in Guitton, 2010**). Certaines espèces de lavandes produisent un terpène irrégulier, lavandulol qui, chez le chrysanthème, est formé à partir du lavandulyl diphosphate est formé par condensation (1' - 2) de deux DMAPP (**Rivera, Swedlund *et al.* 2001 in Guitton, 2010**).

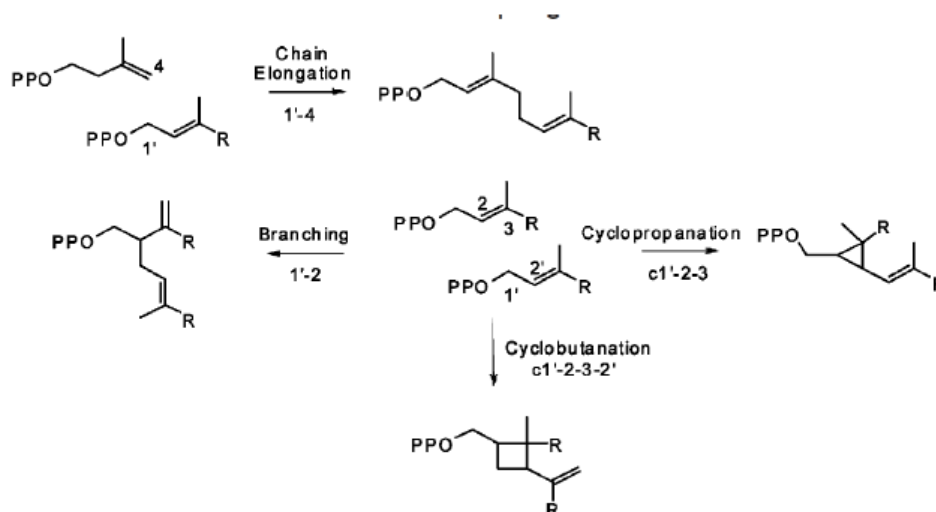


Fig.52 Principales réactions de liaison à l'origine de la diversité des squelettes carbonés des terpènes (modifié d'après **Thulasiram, Erickson *et al.* 2008 in Guitton, 2010**)

Les TPS catalysent la transformation d'un prenyl diphosphate acyclique (GPP, FPP) en une multitude de formes acycliques, mono ou polycycliques (**Fig.53, Degenhardt, Köllner *et al.* 2009 in Guitton, 2010**). Pour les monoterpènes, les formes les plus

communes sont les monoterpènes acycliques comme le linalol, les monoterpènes cycliques avec un cycle à 6 carbones, comme le limonène et les monoterpènes bicycliques comme les pinènes. Par ailleurs, il existe des monoterpènes hétérocycliques appelés iridanes ayant un cycle à 5 carbones (**Hallahan 2000 in Guitton, 2010**). Pour les sesquiterpènes les formes les plus communes sont acyclique, mono-, bi- et tricyclique (**Dudareva, Negre et al. 2006; Fraga 2007 in Guitton, 2010**).

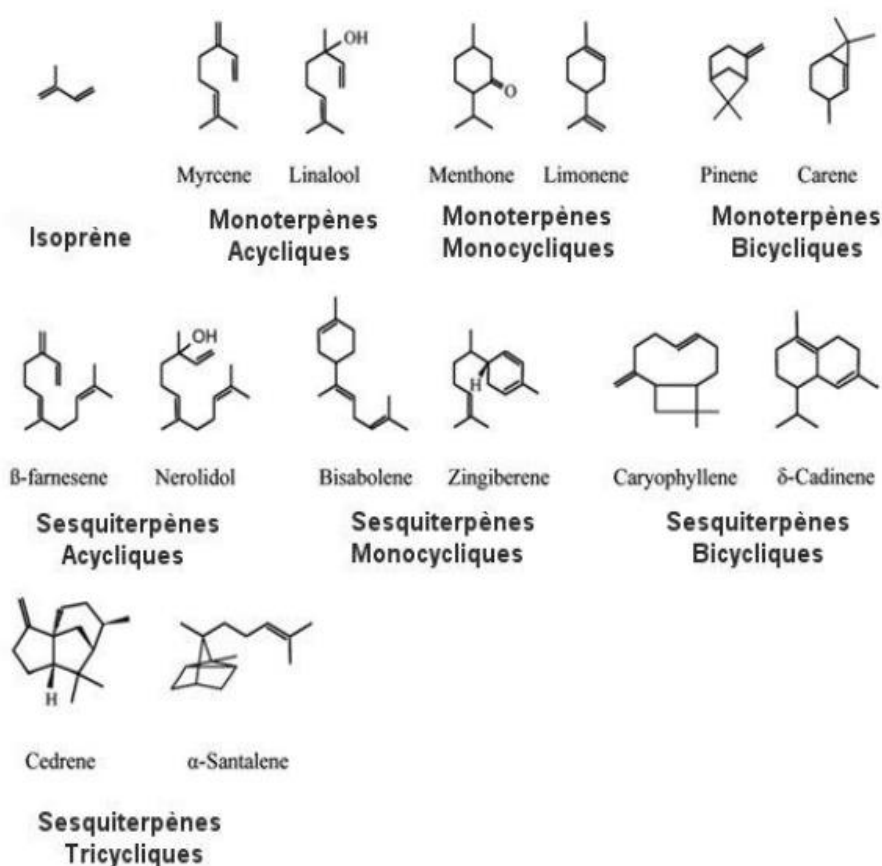


Fig.53 Schémas des principales formes de squelettes carbonés des mono et sesquiterpènes (modifié d'après **Dudareva, Negre et al. 2006 in Guitton, 2010**).

En conclusion, la grande diversité des terpènes s'explique par les nombreuses possibilités de réarrangements des chaînes carbonées qui les constituent. Elle s'explique également par les modifications secondaires (acétylation, méthylation, oxydation, hydroxylation, réduction...) que ces molécules peuvent subir après leur formation sous l'action d'autres familles d'enzymes. Ainsi, chez le fraisier, l'*alpha*-pinène est modifié par une cytochrome P450 hydroxylase (CytP450) en myrténol puis ce dernier est transformé en acétate de myrtényl par un alcool acétyl transférase (AAT, **Aharoni, Giri *et al.* 2004 in Guitton, 2010**). Ces modifications aboutissent généralement à une augmentation de la volatilité et une variation des propriétés olfactives des composés.

Conclusion

Conclusion

Les plantes étant à l'interface sol-atmosphère jouent ainsi un rôle déterminant dans le cycle de l'eau qui s'établit entre les couches superficielles de la croûte terrestre et l'atmosphère. Par leurs feuilles, les plantes sont capables, en utilisant l'énergie de la lumière solaire, de fabriquer, à partir de composés minéraux, souvent oxydés comme le dioxyde de carbone, le nitrate et le sulfate, toutes les molécules organiques nécessaires à leur développement, des plus simples, sucres, acides aminés, acides gras, aux plus complexes, protéines, lignines, vitamines par exemple. Les plantes sont autotrophes. Ce processus d'autotrophie qui dépend de la lumière est la photosynthèse. Certains facteurs environnementaux comme la qualité et la quantité de lumière, la teneur en CO₂ de l'air et la température ambiante ont un impact important sur l'efficacité de ce phénomène.

Les racines font l'objet d'un nouvel intérêt. Les approches moléculaires et de génomique ont permis d'identifier et d'isoler les principaux gènes impliqués dans les mécanismes d'assimilation des éléments minéraux, potasse, phosphate, azote, fer et oligoéléments sans oublier l'eau. Ces nouvelles technologies ont également permis de comprendre comment les racines se développent et de repérer les gènes responsables de leur forme dans différents environnements et tout au cours de leur développement. Ces approches ont concerné également les associations racines/micro-organismes (champignons et bactéries), souvent sous la forme de symbiose, c'est-à-dire association étroite à bénéfice mutuel (mycorhizes et bactéries fixatrices d'azote gazeux). Les techniques de génétique classique et de transgénèse ont permis de transférer ces gènes dans les plantes de grandes cultures et d'en améliorer leur capacité à assimiler les ions minéraux, permettant soit de réduire les apports externes de fertilisants, soit de les cultiver sur des milieux défavorisés, tout en assurant des rendements économiquement acceptables. Il est désormais possible de cibler les gènes d'intérêt impliqués dans les mécanismes de nutrition minérale et de créer des plantes à la demande. Ceci est conforme à une agriculture durable, économiquement rentable et respectueuse de l'environnement, à une période où les besoins en nourriture de la planète augmentent et où la disponibilité en terres arables reste à peu près constante (Morot-Gaudry, 2013).

Par ailleurs, la phytoremédiation est une technique de dépollution des sols, d'épuration des eaux et éventuellement d'assainissement de l'air utilisant les plantes. Les polluants contenus dans le sol comme les éléments métalliques. Des recherches sont actuellement en cours pour sélectionner des plantes hyperaccumulatrices de métaux lourds, très performantes, robustes et facilement récoltables (**Morot-Gaudry, 2013**). Les techniques de génie génétique sont envisagées pour faire produire par ces plantes, par exemple des phytochélatines et des métallothionéines qui permettraient d'améliorer grandement les performances des plantes dépolluantes (rétention du cadmium notamment (**Lebrun et Hinsinger, 2003**)).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Amimi N, Dussert D., Vaissayre V., Ghouil H., Doubeau S., Costantini C., Ammari Y. and Joët T. (2020) Variation in seed traits among Mediterranean oaks in Tunisia and their ecological significance. *Annals of Botany*: 891–904.

B

Banilas G, Karampelias M, Makariti I, Kourti A and Hatzopoulos P (2010) The olive *DGAT2* gene is developmentally regulated and shares overlapping but distinct expression patterns with *DGAT1*. *J Exp Bot* 62: 521-532.

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

Bates PD, Durrett TP, Ohlrogge J, and Pollard M (2009) Analysis of acyl fluxes through multiple pathways of triacylglycerol synthesis in developing soybean embryos. *Plant Physiol* 150: 55-72.

Baud S, Mendoza MS, To A, Harscoët E, Lepiniec L, Dubreucq B (2007) WRINKLED1 specifies the regulatory action of LEAFY COTYLEDON2 towards fatty acid metabolism during seed maturation in Arabidopsis. *Plant J* 50: 825-838.

Baud S, Lepiniec L (2010) Physiological and developmental regulation of seed oil production. *Prog Lipid Res* 49: 235-249.

Binet Pet Brunel J.-P. (1968) *Physiologie végétale III*. Ed. Doin. Paris, 793P.

Bishopp A., Benkova E. and Helariutta Y. (2011) . Sending mixed messages: auxin-cytokinin crosstalk in roots. *Current Opinion in Plant Biology* 14: 10-16.

Bourgis F, Kilaruc A, Caod X, Ngando-Ebonguee G-F, Driraf N, Ohlrogge JB and Arondel V (2011). Comparative transcriptome and metabolite analysis of oil palm and date palm mesocarp that differ dramatically in carbon partitioning. *PNAS* 108: 12527-12532.

Briat JF. 2004 Acquisition et gestion du fer par les plantes. *Cahiers Agricultures* 13: 183-201. Castaings L., Marchive C., Meyer, C. and Krapp A. (2011). Nitrogen signalling in Arabidopsis: how to obtain insights into a complex signalling network. *J. Exp. Bot.* 62: 1391-1397.

C

Carlsson AS (2009). Plant oils as feedstock alternatives to petroleum – A short survey of potential oil crop platforms. *Biochimie* 91: 665-670.

Cernac A and Benning C (2004). WRINKLED1 encodes an AP2/EREB domain protein involved in the control of storage compound biosynthesis in Arabidopsis. *Plant J* 40: 575-585.

Chin JH, Gamuyao R, Dalid C, Bustamam M, Prasetyono J, Moeljopawiro S, Wissuwa M and Heuer S. (2011). Developing Rice with High Yield under Phosphorus Deficiency: *Pup1* Sequence to Application. *Plant Physiol.* 156: 1202-1216.

Crane J, Miller AL, Van Roekel JW, Walters C. (2003). Triacylglycerols determine the unusual storage physiology of *Cuphea* seed. *Planta* 217: 699–708.

D

Durrett TP, Benning C and Ohlrogge JB (2008). Plant triacylglycerols as feedstocks for the production of biofuels. *Plant J* 54: 593-607.

Dussert S., Davey M.W., Laffargue A., Doubeau S., Swennen R. and Etienne H. (2006). Oxidative stress, phospholipid loss and lipid hydrolysis during drying and storage of intermediate seeds. *Physiologia Plantarum*: 192–204.

Dussert S, Couturon E, Engelmann F, Joët T, 2012. Biologie de la conservation des semences de caféiers : aspects fondamentaux et conséquences pratiques. Une revue. *Cah Agric* 21 : 106-14.

Dussert S., Guerin C., Andersson M., Joët T., Tranbarger T.-J., Pizot M., Sarah G, Omoro A., Durand-Gasselin T., and Morcillo F. (2013). Comparative Transcriptome Analysis of Three Oil Palm Fruit and Seed Tissues That Differ in Oil Content and Fatty Acid Composition. *Plant Physiology*, Vol. 162, pp. 1337–1358.

Dyer JM, Stymne S, Green AG and Carlsson AS (2008). High-value oils from plants. *Plant J* 54: 640-655.

E

Ellis RH, Hong TD, Roberts EH (1990). An intermediate category of seed storage behaviour? I. Coffee. *J Exp Bot* 41: 1167–1174.

F

FAO (Organisation pour l'alimentation et l'agriculture , 2019) : <http://www.fao.org/3/ca1495fr/CA1495FR.pdf>

Farineau J. et Morot-Gaudry J.-F. (2018). La photosynthèse: Processus physiques, moléculaires et physiologiques. Ed. Quae. France, 460 p.

Focks N, Benning C (1998). wrinkled1: a novel, low-seed-oil mutant of *Arabidopsis* with a deficiency in the seed-specific regulation of carbohydrate metabolism. *Plant Physiol* 118: 91-101.

G

Gamuyao R, Chin JH, Pariasca-Tanaka J, Pesaresi P, Catausan S, Dalid C, Slamet-Loedin I, Tecson- Mendoza EM, Wissuwa M, Heuer S. (2012). The protein kinase Pstoll1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. *Nature* 488: 535-539.

Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4: 162-169

Gobat J.M. Aragno M., Matthey W. (1998). Le sol vivant. Bases de pédologie-biologie des sols. Presses polytechniques et universitaires romandes, France, 848P.

Good A.G., Johnson S.J., De Pauw M., Carroll R.T., Savidov N., Vidmar J., Lu Z., Taylor G., Stroehrer V.(2007). Engineering nitrogen use efficiency with alanine aminotransferase. *Can. J. Bot.* 85: 252-262.

Guerin C (2012). Déterminisme de la composition en acides gras dans les trois tissus riches en lipides (embryon, albumen et mésocarpe) du palmier à huile (*Elaeis guineensis*). Mémoire de Master, Montpellier (France), 66 P.

Guerin C., Serret J., Montfar R., Vaissayre V., Bastos-Siqueira A., Durand-Gasselin T., Tregear J., Morcillo F., and Dussert S. (2000). Palm seed and fruit lipid composition: phylogenetic and ecological perspectives. *Annals of Botany* 125: 157–172.

Guignard J.-L. (1996). Biochimie végétale. Ed.Masson, Paris. 255p.

Guitton Y. (2010). Diversité des composés terpéniques volatils au sein du genre *Lavandula* : aspects évolutifs et physiologiques. Thèse de Doctorat. Université de Saint-Etienne - Jean-Monnet (France), 253p.

H

Hirel B and PJ Lea (2001). Ammonia assimilation. In : P Lea, JF Morot-Gaudry (Eds), *Plant Nitrogen*. INRA Springer Verlag, pp.79- 99.

J

Jana U. (2009). Etude des interactions entre la plante *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh et le ver de terre *Aporrectodea caliginosa* (Savigny) : Application à la

phytoremédiation de l'arsenic et de l'antimoine. Thèse de doctorat. Université Paris Est, France. 251P

Joët T, Laffargue A, Salmona J, Doulbeau S, Descroix F, Bertrand B, de Kochko A and Dussert S (2009). Metabolic pathways in tropical dicotyledonous albuminous seeds: *Coffea arabica* as a case study. *New Phytol* 182: 146-162.

K

Keke Yi, Zhongchang Wu, Jie Zhou, Liming Du, Longbiao Guo, Yunrong Wu and Ping Wu. (2011). *OsPTF1*, a Novel Transcription Factor Involved in Tolerance to Phosphate Starvation in Rice. *Plant Physiol.* 138: 2087-2096.

Krief S. (2003). Métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat. Université de France, 346p.

Krouk G, Lacombe B, Bielach A, Perrine-Walker F, Malinska K, Mounier E, Hoyerova K, Tillard P, Leon S, Ljung K, Zazimalova E, Benkova E, Nacry P, Gojon A. (2010). Nitrate-regulated auxin transport by NRT1.1 defines a mechanism for nutrient sensing in plants. *Dev Cell.* 18: 927-937.

Krouk G et Gojon A. (2012). Améliorer l'utilisation du nitrate par les plantes. *Biofutur* 330: 341.

L

Lebrun M et Hinsinger P. (2003). Accumulation des métaux lourds par les plantes : applications technologiques. Séance Académie d'Agriculture de France (15 octobre 2003).

Li-Beisson Y, Shorrosh B, Beisson F, Andersson MX, Arondel V, Bates PD, Baud S, Bird D, DeBono A, Durrett TP, Rochus B, Franke, Graham IA, Katayama K, Kelly AA, Larson T, Markham JE, Miquel M, Isabel M, Nishida I, Rowland O, Samuels L, Schmid KM, Wada H, Welti R, Xu C, Zallot R, and Ohlrogge JB (2010). The Arabidopsis Book. Acyl-Lipid Metabolism 8: e0133.

Linder CR. (2000). Adaptive evolution of seed oils in plants: accounting for the biogeographic distribution of saturated and unsaturated fatty acids in seed oils. *American Naturalist* 156: 442–458.

M

Macheix J.J (1996). Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle? *Acta bot. Gallica*, 143 (6) : 473-479.

Maeo K, Tokuda T, Ayame A, Mitsui N, Kawai T, Tsukagoshi H, Ishiguro S and Nakamura K (2009). An AP2-type transcription factor, WRINKLED1, of *Arabidopsis thaliana* binds to the AW-box sequence conserved among proximal upstream regions of genes involved in fatty acid synthesis. *Plant J* **60**: 476-487.

Maillet F., Poinot V., André O., Puech-Pages V., Haouy A., Gueunier M, L., Cromer L., Giraudet D., Formey D., Niebel A., Eduardo E-A., Driguez H., Becard G. and Denarié J. (2011). Fungal lipochitoooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature* **469**: 58-64.

Marchive C. Nikovics K, ToA., Lepiniec L et Baud S (2014). Transcriptional regulation of fatty acid production in higher plants: Molecular bases and biotechnological outcomes. *Eur. J. Lipid Sci. Technol*, **116** :1-12.

Marfak A. (2003) Radiolyse gamma des flavonoides. etude de leur reactivite avec les radicaux issus des alcools : formation de depsides. these de doctorat. Universite de Limoges (France) 199 P.

Martin A, Lee J, Kichey T, Gerentes D, Zivy M, Tatout C, Dubois F, Balliau T, Valot B, Davanture M, Tercé- Laforgue T, Quilleré I, Coque M, Gallais A, Gonzalez-Moro MB, Bethencourt L, Habash DZ, Lea PJ, Charcosset A, Perez P, Murigneux A, Sakakibara H, Edwards KJ, Hirel B. (2006). Two cytosolic glutamine synthetase isoforms of maize are specifically involved in the control of grain production. *Plant Cell* **18**: 3252-3274.

Maurel C, Verdoucq L., Luu D-T., Santoni V. (2008). Plant aquaporins : membrane channels with multiple integrated functions. *Annu. Rev. Plant Biol.* **59**: 595–624.

Mazliak P (1974). *Physiologie végétale. Nutrition et métabolisme.* Ed. Hermann. Collection Méthodes. Paris, 349P.

Meyer C and Stitt M. (2001). Nitrate reduction and signalling. In : P Lea, JF Morot-Gaudry (Eds), *Plant. Nitrogen*. INRA Springer Verlag : 37- 59.

Moreno-Pérez AJ, Venegas-Calero M, Vaistij FE, Salas JJ, Larson TR, Garcés R, Graham IA and Martínez-Force E (2012). Reduced expression of FatA thioesterases in *Arabidopsis* affects the oil content and fatty acid composition of the seeds. *Planta* **235**: 629-639.

Morot-Gaudry JF, Job D and Lea P (2001). *Amino acid metabolism in Plant Nitrogen*, P Lea and JF Morot- Gaudry Eds, INRA-Springer p 167-211.

Morot-Gaudry, M Orsel, C Diaz, F Daniel-Vedele, C MasclauxDaubresse (2007). Absorption et assimilation du nitrate et recyclage de l'azote organique chez les plantes : intérêt pour le colza. *OCL (oléagineux, corps gras, lipides)* **13**: 393-402.

Morot-Gaudry J.F. (2013), *Biologie Végétale I- Nutrition et Métabolisme*, Editions Dunod, Paris, 240 P.

Morot-Gaudry J.F. (2013). Mineral nutrition of plants: molecular aspects Conference Paper. *Académie d'agriculture de France*. pp :1-25

Mu J, Tan H, Zheng Q, Fu F, Liang Y, Zhang J, Yang X, Wang T, Chong K, Wang X-J, and Zuo J (2008). LEAFY COTYLEDON1 is a key regulator of fatty acid biosynthesis in Arabidopsis. *Plant Physiol* 148: 1042-1054.

Munns R, James RA, Xu B, Athman A, Conn SJ, Jordans C, Byrt CS, Ray A, Hare A, Tyerman SD, Tester M, Plett D, and Gilliham M. (2012). Wheat grain yield on saline soils is improved by an ancestral Na⁺ transporter gene. *Nature Biotechnology* 28: 149-156.

N

Nabors M. (2008). *Biologie végétale*. Ed. Nouveaux Horizons, Etats unis.591p

O

Oliver AE, Leprince O, Wolkers WF, Hinch DK, Heyer AG, Crowe JH. (2001). Non-disaccharide-based mechanisms of protection during drying. *Cryobiology* 43: 151-167.

Omont H. (2010). Contributions de la production d'huile de palme au développement durable. *Problématique générale, controverses*. OCL. Oléagineux corps gras lipids 17: 362-367.

P

Pasapula V., Shen G., Kuppu S., Paez-Valencia J., Mendoza M., Hou P., Chen J., Qiu X., Zhu L., Zhang X., Auld D., Blumwald E., Zhang H., Gaxiola R., Payton P.(2011). Expression of an Arabidopsis vacuolar H⁺-pyrophosphatase gene (AVP1) in cotton improves drought-and salt tolerance and increases fibre yield in the field conditions. *Plant Biotechnol. J.* 1: 88-99.

Péret B, Guowei L Gi, Zhao J, Band LR, Voß U, Postaire O, Luu D-T, Da Ines O, Casimiro I, Lucas M, Wells DM, Lazzerini L, Nacry P, King JR, Jensen OE, Schäffner AR, Maurel C & Malcolm J. Bennett MJ. (2012). Auxin regulates aquaporin function to facilitate lateral root emergence. *Nature Cell Biology*,14: 991-998.

Pouvreau B, Baud S, Vernoud V, Morin V, Gendrot G, Py C, Pichon JP, Rouster J, Paul W, Rogowsky PM (2011). Duplicate maize Wrinkled1 transcription factors activate target genes involved in seed oil biosynthesis. *Plant Physiol.* 156: 674-686.

R

Rawlyer A, Arpagaus R, Braendle R (2002). Impact of oxygen stress and energy availability on membrane stability of plant cells. *Ann Bot* 90: 499–507.

Richardson AE, Barea J-M, McNeill AM and Prigent-Combaret C. (2009). Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms *Plant Soil* 321: 305-339.

Robert D. & Catesson A. M. (1990). *Organisation Végétative Biologie Végétale Tome 2*. Ed. Doin, Paris, 356p.

Roche J. (2005). Composition de la graine de tournesol (*Helianthus annuus* L.) sous l'effet conjugué des contraintes agri-environnementales et des potentiels variétaux. Thèse de Doctorat. École Doctorale : Sciences des Procédés. Toulouse (France). 298P

Ruuska SA, Girke T, Benning C and Ohlrogge JB. (2002). Contrapuntal networks of gene expression during *Arabidopsis* seed filling. *Plant Cell* 14: 1191-1206.

S

Sanyal A, Linder CR. (2013). Plasticity and constraints on fatty acid composition in the phospholipids and triacylglycerols of *Arabidopsis* accessions grown at different temperatures. *BMC Plant Biology* 13: 63.

Sanyal A, Lenoir J, O'Neill C, Dubois F, Decocq G. (2018). Intraspecific and interspecific adaptive latitudinal cline in Brassicaceae seed oil traits. *American Journal of Botany* 105: 85–94.

Shen B, Allen WB, Zheng P, Li C, Glassman K, Ranch J, Nubel D, Tarczynski MC. (2010). Expression of ZmLEC1 and ZmWRI1 increases seed oil production in maize. *Plant Physiol.* 153: 980-987.

Shockey JM, Gidda SK, Chapital DC, Kuan J-C, Dhanoa PK, Bland JM, Rothstein SJ, Mullen RT and Dyer JM. (2006). Tung Tree DGAT1 and DGAT2 Have Non redundant Functions in Triacylglycerol Biosynthesis and Are Localized to Different Subdomains of the Endoplasmic Reticulum. *Plant Cell* 18: 2294-2313.

T

Tranbarger TJ, Dussert S, Joet T, Argout X, Summo M, Champion A, Cros D, Omoro A, Nouy B, and Morcillo F. (2011). Regulatory Mechanisms Underlying Oil Palm Fruit Mesocarp Maturation, Ripening, and Functional Specialization in Lipid and Carotenoid Metabolism. *Plant Physiol* 156: 1-21.

Trèmollières A. (1998) *Les lipides végétaux*. Ed. De Boeck et Larcier s.a. Paris, 115 P.

V

Very A-A. and Sentenac H. (2003). Molecular mechanisms and regulation of K⁺ transport in higher plants *Annu. Rev. Plant Biol.* 54: 575–603.

W

Walters C, Pammenter NW, Berjak P, Crane J. (2001). Desiccation damage, accelerated ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds. *Seed Sci Res* 11: 135–148.

Z

Zimmer N., Cordesse R. (1996). Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. *Productions Animales*, 9 (3) :167-179.

Biblio Net

¹ :<https://fertilisation-edu.fr/cycles-bio-geo-chimiques/le-cycle-de-l-azote-n.html>

²:https://ressources.unisciel.fr/photosynthese/co/grain_31.html#:~:text=La%20diff%C3%A9rence%20principale%20entre%20les,Fig.

³<https://www.alloprof.qc.ca/fr/eleves/bv/sciences/le-cycle-du-carbone-s1335>

⁴<https://admin.fortrainjobs.com/uploads/Nature/Fleuriste/docs/Cours-BP-Fleuriste-Respiration-vegetale.pdf>

⁵ <https://fac.umc.edu.dz/snv/faculte/becol/2020/Pr-LABBANI-Lipides-Cours.pdf>

⁶<https://www.bmglabtech.com/en/blog/what-is-protein-nitration/>