

# Fixation biologique du diazote

La **fixation biologique de l'azote** (ou diazotrophie) est un processus qui permet à un organisme de produire (indirectement) des substances protéiques à partir de l'azote gazeux présent dans l'atmosphère et l'environnement.

C'est le processus de réduction enzymatique de  $N_2$  (azote moléculaire) en azote ammoniacal, ou ammoniac ( $NH_3$ ) : cette forme de N combiné, appelée intermédiaire-clé, représente la fin de la réaction de fixation et le début de l'incorporation de l'azote fixé dans le squelette carboné. Dans le système biologique fixateur de  $N_2$  les conditions optimales de la catalyse biologique correspondent à une pression de 0,2 à 1,0 atm de  $N_2$  et une température de 30–35 °C, alors que les conditions de la catalyse chimique sont très sévères : pression de 250-1000 atm de  $N_2$  et température de 450 °C<sup>[1]</sup>.

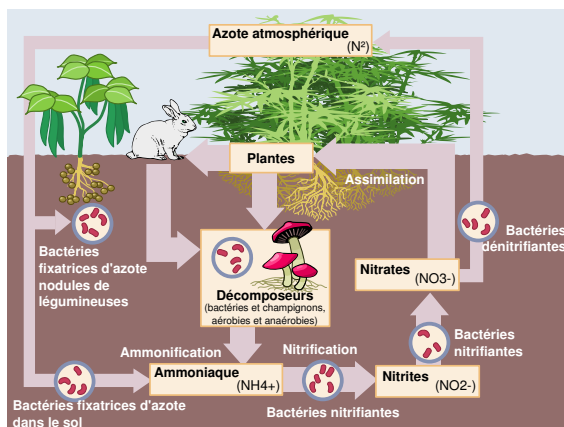
gnons mycorrhiziens pouvaient fixer  $N_2$ . On sait maintenant que la propriété de fixer  $N_2$  est strictement limitée aux procaryotes<sup>[2],[3]</sup> et n'a jamais été montrée chez les champignons filamenteux. La fixation de  $N_2$  mesurée par la réduction de l'acétylène ( $C_2H_2$ ) en éthylène ( $C_2H_4$  ou  $CH_2=CH_2$ ) par une racine mycorrhizée ne devrait pas être imputée au champignon lui-même mais aux bactéries associées de la mycorrhizosphère. Cette activité de fixation de  $N_2$  est d'ailleurs encore plus importante dans la litière forestière que dans la mycorrhizosphère elle-même<sup>[4]</sup>.

Ces organismes procaryotes produisent une enzyme, la **nitrogénase**, qui permet de réaliser la synthèse de l'ammoniac par une réaction de réduction fortement endothermique :



dans les conditions du sol, à l'opposé des 450 °C des procédés industriels qui requièrent aussi une pression moyenne de l'ordre de 400 atmosphères. L'ammoniac est ensuite transformé en acides aminés utilisables par les plantes.

## 1 Généralités



Cycle de l'azote dans le sol

Ce processus est comparable à celui de la photosynthèse qui permet de produire des substances glucidiques à partir du dioxyde de carbone ( $CO_2$ ) de l'atmosphère. Mais, alors que la photosynthèse est le fait de tous les végétaux (sauf les végétaux saprophytes), la fixation de l'azote ambiant n'est réalisée que par certaines espèces de bactéries et d'algues cyanophycées. Toutefois, de nombreuses plantes, principalement de la famille des *Fabacées* (légumineuses), la réalisent de façon indirecte, en symbiose avec des bactéries de leur rhizosphère, qui se localisent généralement dans des nodosités situées sur leurs racines.

Jusqu'à une date récente, on admettait que les champi-

## 2 Les bactéries fixatrices d'azote

Sur Terre, il existe des bactéries *libres* qui vivent dans le sol et assurent la fixation de l'azote, soit seules, soit en symbiose avec d'autres bactéries. Ce sont principalement :

- des bactéries aérobies : *Azotobacter*, *Azomonas* ;
- des bactéries anaérobies : *Clostridium*, *Citrobacter*...

D'autres bactéries vivent en symbiose avec des plantes :

- *Rhizobium* : légumineuses (fabacées) ;
- l'actinomycète *Frankia* : diverses espèces d'angiospermes, essentiellement arbres et arbustes, notamment les aulnes, l'argousier, les *Casuarinaceae* et le *Myrica gale*.

Dans les Océans, ce sont les *Cyanobacteria* qui fixent le diazote. Il en existe deux types :

- Les cyanobactéries dites "filamenteuses", telles que *Trichodesmium* sp., qui vivent en colonie.

- Les cyanobactéries unicellulaires, appelées UCYN, qui peuvent vivre libre ou en symbiose avec certaines espèces du phytoplancton.

### 3 Le cas des légumineuses

Les différentes espèces de bactéries *rhizobiums*, qui sont capables d'infecter les racines des légumineuses (famille des Fabacées), sont spécifiques de certaines plantes-hôtes. Ainsi *Rhizobium phaseoli* infecte les haricots (*Phaseolus* sp).

Les bactéries provoquent la formation de **nodosités** sur les racines en pénétrant par les poils racinaires, et se transforment en « bactéroïdes » de plus grande taille. Les nodosités sont le siège d'une activité symbiotique dans laquelle la plante fournit les sucres et l'énergie issus de la **photosynthèse**, et bénéficie en retour des **acides aminés** qui y sont produits.

Cette activité peut produire annuellement jusqu'à 300 kg d'azote à l'hectare, qui se retrouvent en partie dans les récoltes exportées (protéines des graines et fourrages) et en partie dans le sol, utilisable par les cultures suivantes.

Au niveau mondial, on estime à 100 millions de tonnes par an la masse d'azote ainsi fixé, soit le même ordre de grandeur de la production d'azote de l'industrie chimique.

### 4 Dialogue Fabacées Rhizobiacés

La formation des **nodules racinaires** met en jeu un dialogue moléculaire complexe entre la plante-hôte et les **rhizobiacés**.

La plante sécrète des signaux de type **flavonoïdes**, **bétaïnes**. La perception de ces signaux par la bactérie induit l'expression de nombreux gènes bactériens, dont une centaine sont connus. Les plus étudiés sont les gènes **nod** (ou bien **nol** et **noe**). Les gènes **Nod D** expriment des protéines régulatrices en réponse aux inducteurs végétaux. Une fois activées les protéines **Nod D** se fixent sur des séquences **nod-box**, promoteur des gènes **nod** de structure et activent leur transcription. Ces gènes produisent des **facteurs Nod** essentiels dans l'établissement de la symbiose.

Les **facteurs NOD** activent une voie de signalisation faisant intervenir une série de gènes de la plante-hôte, et provoquent finalement des modifications morphologiques et cytologiques de la racine, pour aboutir à la formation des **nodules**.

#### 4.1 La voie de signalisation NOD

De nombreux gènes ont été identifiés chez le pois (*Pisum sativum*), le lotier (*Lotus japonica*) et la luzerne faux-

tribule (*Medicago truncatula*). Ce sont tous des récepteurs **SYMRK** (symbiosis receptor like kinase), possédant un domaine kinase côté intracellulaire (**RLK**, Receptor like kinase) et des motifs riches en **LysM** (interaction avec les facteurs **NOD**) côté extracellulaire. Les gènes sont appelés **Nfr** (Nod factor receptor) ou **Sym** (symbiosis genes). Il pourrait y avoir deux types de récepteurs, un contrôlant l'infection de la racine par la bactérie, l'autre permettant la courbure des **poils absorbants**.

Quelques dizaines de secondes après l'application des facteurs **Nod**, on observe un influx rapide de **calcium** qui induit une **dépolarisation** de la membrane plasmique entraînant la courbure et la déformation de **poils absorbants**.

Dix minutes après des oscillations périodiques et transitoires de la concentration de **calcium cytosolique** se produisent à proximité de la région pérucléaire. Ces oscillations calciques (**calcium spiking**) sont dues à deux **protéines membranaires DMI1** et **DMI2**. Ce dernier est un récepteur de type **RKL** (receptor like kinase) présentant trois domaines riches en **Leucine(LRR)**.

La réponse à ces oscillations est due au gène **DMI3** codant une protéine kinase **calmoduline** et **calcium** dépendante. Cette protéine perçoit les variations de concentration en **calcium** à la fois par liaison à des **calmodulines** liées au **calcium** et au **calcium libre**. **DMI3** est activé par l'auto-phosphorylation de son domaine kinase. De plus, **DMI3** exerce un **retrocontrôle négatif** sur **DMI1** et **DMI2**, et donc sur les oscillations calciques.

**DMI3** active l'expression des gènes **ENOD** (early noduline genes, gènes à nodulines précoces), protéines produites par la plante pendant les premières étapes de la symbiose, (comme la **leghémoglobine**) impliquées dans l'infection et l'**organogenèse** des **nodules** activant la division des cellules **corticales**. Cependant les substrats intermédiaires de **DMI3** ne sont pas encore bien déterminés.

## 5 Évolution des symbioses fixatrices d'azote

### 5.1 Origine et apparition

Il semblerait que les **rhizobiacées** ont recruté la voie de signalisation des **mycorhizes** et que l'**organogénèse** du nodule soit dérivée du programme génétique de l'**organogénèse** des racines secondaires. Les **endosymbioses fixatrices d'azote** seraient apparues il y a 65 millions d'années<sup>[réf. souhaitée]</sup>. L'ancêtre commun à toutes ces espèces aurait développé une **endosymbiose bactérienne**, grâce à une certaine **prédisposition** à l'**organogénèse nodulaire** (la formation de nodules étant un détournement du programme génétique de formation des racines secondaires). Il est probable que la capacité à former des **nodosités** soit apparue plusieurs fois et indépendamment au cours de l'évolution. Cette aptitude a aussi été perdue plu-

sieurs fois, par exemple pour l'adaptation à des sols plus fertiles. Cela permet d'expliquer la présence de plantes sans nodules à l'intérieur du clade des plantes à nodules.

## 5.2 Spécificité

Deux « forces de sélection » antagonistes pourraient rendre compte de la spécificité des symbioses fixatrices d'azote. La première, positive, est l'augmentation du taux d'azote fixé par la plante hôte colonisée par le micro-organisme fixateur d'azote. La seconde, négative, est l'invasion de la plante hôte par un pathogène non productif. De plus une spécificité faible semble se rencontrer dans les genres de plantes primitives, alors que la spécificité des symbiotes augmente au cours de l'évolution. Au niveau moléculaire on peut définir trois niveaux de spécificité lors du dialogue plante hôte rhizobium. Les gènes Nod sont portés par un plasmide bactérien. Des transferts horizontaux de gènes peuvent alors s'effectuer, ce qui transfère également les spectres d'hôtes. Ceci explique l'interaction entre des espèces de bactéries éloignées évolutivement et des plantes hôtes proches, et inversement. Ainsi il y a une coévolution entre les gènes de la symbiose et les plantes hôtes, et non entre les rhizobiacées et les plantes hôtes.

## 6 Autres plantes à la rhizosphère fixatrice d'azote

De nombreuses plantes ont des associations similaires :

- *Allocasuarina* ainsi que d'autres genres de la famille des *Casuarinaceae*
- *Alnus* ou Aulne (famille des *Betulaceae*)
- *Azolla* (famille des *Azollaceae*)
- *Casuarina* (famille des *Casuarinaceae*)
- *Ceanothus* (famille des *Rhamnaceae*)
- *Cercocarpus* (famille des *Rosaceae*)
- Cycadacée (famille des *Cycadaceae*)
- *Elaeagnus umbellata* (famille des *Elaeagnaceae*)
- *Gunnera* (famille des *Gunneraceae*)
- *Lobaria* - *Lobaria cuneifolia* (L.) Haw. ; nom retenu : *Saxifraga cuneifolia* subsp. *cuneifolia*<sup>[6]</sup>, Désespoir-du-peintre, Saxifrage à feuilles en coin (famille des *Saxifragaceae*) avec certains lichens.
- *Myrica* (famille des *Myricaceae*)
- *Purshia tridentata* (angl. antelope bitterbrush) (famille des *Rosaceae*)

- *Robinia pseudoacacia*, *Leucaena leucocephala* (famille des *Fabaceae*)
- *Shepherdia argentea* (angl. silver buffaloberry) (famille des *Elaeagnaceae*)

## 7 Références

- [1] R.W.F. Hardy, E.Jr. Knight. 1968. *The biochemistry and postulated mechanisms of N<sub>2</sub> fixation*. In "Progress in Phytochemistry" (L. Reinhold, ed.), 387-469. Cité dans "Mycorrhizes et fixation d'azote" du 25 avril 1978 ; Y. Dommergues, O.R.S.T.O.M.
- [2] G.D. Bowen 1973. *Mineral nutrition of ectomycorrhizae. Ectomycorrhizae. Their Ecology and Physiology*. G.C. Marks and T.T. Kozlowski, ed., Academic Press, New York and London, 151-197. Cité dans Dommergues 1978.
- [3] J.R. Postgate. 1974. *Evolution within nitrogen-fixing systems*. Symposia of the Society for General Microbiology, 24, 263-292. Cité dans Dommergues 1978.
- [4] W.B. Silvester, K.J. Bennett. 1973. *Acetylene reduction by roots and associated soil of new zealand conifers*. Soil Biol. Biochem, 5, 111-179. Cité dans Dommergues 1978
- [5] Duhoux et Nicole 2004 (Dunod)
- [6] Tela-Botanica

## 8 Voir aussi

- Cycle de l'azote

•  Portail de la biochimie

•  Portail de l'agriculture et l'agronomie

•  Portail de la botanique

## 9 Sources, contributeurs et licences du texte et de l'image

### 9.1 Texte

- **Fixation biologique du diazote** *Source* : [http://fr.wikipedia.org/wiki/Fixation\\_biologique\\_du\\_diazote?oldid=111783273](http://fr.wikipedia.org/wiki/Fixation_biologique_du_diazote?oldid=111783273) *Contributeurs* : Abrahami, Yohan, Spedona, Fafnir, Spooky, MedBot, Phe-bot, Pixeltoo, K!roman, Erasmus, En rouge, Chobot, RobotE, Callisto, Robot-Quistnix, Cæruleum, YurikBot, Omolu, Eskimbot, Moez, TED, Le gorille, Elapied, Pld, Rominandreu, Basicdesign, Rhadamante, Thij!bot, Rémi, VonTasha, Drtissot, Idioma-bot, VolkovBot, Chicobot, BotMultichill, SieBot, Jijipowa, Dhatier, Pyqou, Ir4ubot, DragonBot, BOTarate, ZetudBot, Ggal, CarsracBot, Herr Satz, Lucas-bot, GrouchoBot, Archimëa, ArthurBot, Xqbot, RibotBOT, KamikazeBot, EmausBot, Titlutin, YFdyh-bot, Addbot, Alex45300, Ghju Grigri, Bu180 et Anonyme : 17

### 9.2 Images

- **Fichier:Cycle\_azote\_fr.svg** *Source* : [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d3/Cycle\\_azote\\_fr.svg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d3/Cycle_azote_fr.svg) *Licence* : CC-BY-SA-3.0 *Contributeurs* : ? *Artiste d'origine* : ?
- **Fichier:Hemoglobin.jpg** *Source* : <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/19/Hemoglobin.jpg> *Licence* : CC-BY-SA-3.0 *Contributeurs* : ? *Artiste d'origine* : ?
- **Fichier:Icône\_botanique01.png** *Source* : [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8b/Icône\\_botanique01.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/8/8b/Icône_botanique01.png) *Licence* : CC-BY-SA-3.0 *Contributeurs* : Transferred from fr.wikipedia ; transfer was stated to be made by User:Jacopo Werther. *Artiste d'origine* : Original uploader was Pixeltoo at fr.wikipedia
- **Fichier:Tractor\_icon.svg** *Source* : [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b5/Tractor\\_icon.svg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b5/Tractor_icon.svg) *Licence* : CC BY-SA 3.0 *Contributeurs* : Travail personnel *Artiste d'origine* : Spedona

### 9.3 Licence du contenu

- Creative Commons Attribution-Share Alike 3.0