

Quels défis et perspectives pour l'utilisation de la fixation biologique de l'azote en agriculture ?

FICHE QUESTIONS SUR... n° 05.01.Q04

Mots clés : # azote - # symbiose - # légumineuses - # agriculture durable - # biotechnologies

L'azote est un élément essentiel pour le développement des plantes ; mais ceci se traduit par l'utilisation massive d'engrais azotés pour soutenir la productivité agricole. Les conséquences environnementales – liées au mode de production des engrais ainsi qu'à leur fuite dans l'environnement – posent donc la question de la durabilité du modèle agricole actuel.

Une alternative écologique à ces engrais consiste à promouvoir l'utilisation des plantes légumineuses (pois, soja, féverole, haricot, luzerne, trèfle...) qui ont la capacité d'établir une symbiose avec des bactéries fixatrices d'azote, les rhizobia. Les initiatives menées actuellement consistent à intégrer les légumineuses dans les rotations agricoles, et à améliorer leurs performances agronomiques en tirant profit des connaissances acquises sur la symbiose.

Enfin, des approches biotechnologiques visent à transférer les capacités symbiotiques des légumineuses à d'autres familles de plantes cultivées comme les céréales, questionnant l'acceptabilité de ces approches par le grand public.

L'addiction de l'agriculture à l'azote

La croissance des plantes dépend de la disponibilité dans le sol d'azote sous une forme utilisable. L'azote est l'un des éléments les plus abondants, constituant près de 80 % de l'atmosphère où il est présent sous forme de molécule de diazote gazeux (N_2), chimiquement très stable et inutilisable par la plupart des organismes vivants. *A contrario*, les formes utilisables d'azote sont assez rares dans la biosphère, notamment dans les systèmes agricoles.

Surgi au tournant du XX^e siècle, le procédé Haber-Bosch a été une invention majeure, une merveille d'ingénierie des procédés chimiques, qui a permis la production massive d'engrais azotés à partir de N_2 . Depuis sa découverte, ce procédé a été déployé à une échelle mondiale, tirant les rendements agricoles à des niveaux jamais atteints auparavant. Le procédé Haber-Bosch est sans doute l'une des inventions qui a le plus contribué à la spectaculaire croissance démographique mondiale du XX^e siècle.

Au début du XXI^e siècle, la consommation mondiale d'engrais azotés s'élève à près de 130 millions de tonnes par an, et leur utilisation massive a des conséquences dramatiques pour l'environnement, dont :

- la pollution des nappes phréatiques et des eaux de surface par suraccumulation de nitrates, conduisant à l'eutrophisation des cours d'eau et à des marées vertes sur les côtes ;
- l'émission de gaz à effet de serre, provenant notamment :
 - de la consommation massive d'énergie fossile (1 à 2 % de la consommation annuelle mondiale) nécessaires à la production, au transport et à l'épandage des engrais azotés ;
 - du relargage d'oxyde nitreux (N_2O) par les sols engraisés ;
 - de l'émission de méthane (décomposition des algues suite aux marées vertes, conditions hydromorphes).

De plus, les engrais azotés coûtent cher et ne sont pas toujours accessibles pour les petits producteurs des pays en développement dont les rendements restent alors faibles.

Bien que la dépendance planétaire vis-à-vis du procédé Haber-Bosch soit loin de s'estomper à court terme, il devient de plus en plus urgent de développer d'autres pratiques agricoles plus respectueuses de l'environnement et plus durables. Une partie de la solution se trouve sans doute dans l'utilisation innovante de la fixation biologique de l'azote.

Fixation symbiotique de l'azote : pierre angulaire d'une future agriculture durable

Pour les mêmes raisons qu'en chimie industrielle, la fixation biologique de l'azote est très difficile à réaliser et très consommatrice d'énergie : ni les plantes ni animaux n'ont acquis la capacité à cliver la triple liaison du N₂. Toutefois, certaines bactéries et archées disposent de l'enzyme nitrogénase, capable de réduire le N₂ en ammoniac.

Certaines plantes ont tiré bénéfice de la fixation biologique de l'azote, en mettant en place des interactions symbiotiques avec ces bactéries diazotrophes. Les taxons végétaux concernés sont relativement rares et comprennent en particulier la majorité des plantes appartenant à la famille des Légumineuses, qui forment une symbiose avec un groupe de bactéries diazotrophes appartenant aux α - et β -protéobactéries, collectivement appelées rhizobia.

Un autre groupe de plantes – dites plantes actinorhiziennes – établit une symbiose fixatrice d'azote avec des bactéries du genre *Frankia*, appartenant aux actinobactéries (groupe non-apparenté aux rhizobia). Les plantes actinorhiziennes représentent un petit nombre d'espèces appartenant à trois ordres des Angiospermes : les Fagales, les Cucurbitales et les Rosales ; ces ordres sont apparentés à l'ordre des Fabales ou *Leguminosae*.

Dans ces différents cas, l'interaction entre les partenaires végétaux et bactériens mène à la formation d'un nouvel organe végétal : la nodosité. Cet organe héberge les bactéries symbiotiques, qui vont y fixer l'azote atmosphérique et transférer l'ammonium à la plante qui l'utilisera pour sa croissance ; l'azote fourni par ces bactéries au sein des nodosités satisfait totalement les besoins en azote de la plante.

Par ailleurs, un grand nombre d'espèces bactériennes, dont certains rhizobia ainsi que des bactéries appartenant aux genres *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Herbaspirillum* ou *Gluconacetobacter*, sont connues pour fixer l'azote atmosphérique en plus ou moins étroite relation avec les plantes, comme colonisateurs épi- ou endophytes. Ces associations contribuent à la nutrition azotée des plantes hôtes de manière très inégale, bien plus faible que celle des symbioses des Légumineuses et des plantes actinorhiziennes.

Ingénierie de la fixation d'azote : les trois stratégies en cours d'exploration

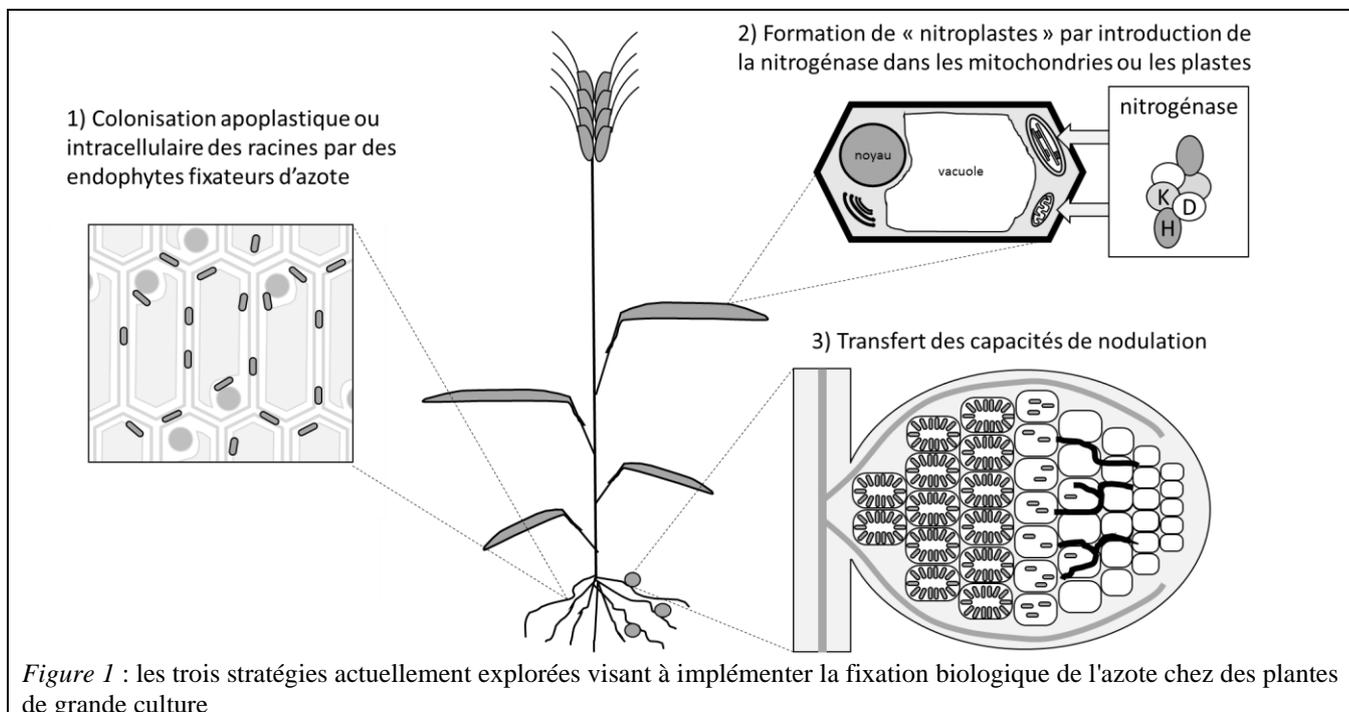
Outre l'amélioration des performances symbiotiques des légumineuses par l'amélioration variétale et la promotion des légumineuses dans les schémas de rotations culturales, l'extension de la capacité à fixer l'azote à des plantes cultivées comme les céréales est un objectif ambitieux affiché par la communauté scientifique travaillant sur des symbioses fixatrices d'azote.

Cela permettrait – après la révolution verte des années 1930-1960 – de déclencher une nouvelle révolution agricole et d'entrevoir une agriculture réellement durable d'un point de vue environnemental.

Cet objectif (déjà énoncé depuis un siècle) devient de plus en plus réaliste avec :

- l'avancement des connaissances relatives à la génétique et à la biochimie de la nitrogénase et de son activité ;
- des nouvelles découvertes au sujet des événements d'organogenèse et d'infection des nodosités ;
- l'idée selon laquelle les rhizobactéries fixatrices d'azote (des bactéries colonisant la rhizosphère) et les bactéries endophytes (colonisant les tissus végétaux) sont largement répandues.

À partir de ces connaissances, et grâce aux avancées techniques dans le domaine de la génomique et de la biologie synthétique, trois stratégies sont actuellement poursuivies à l'échelle internationale, afin de produire des plantes cultivées obtenant leur azote de la fixation biologique (voir *figure 1*).



Ces trois stratégies sont :

- Les souches endophytes diazotrophes, colonisant les racines des plantes, pourront être testées pour leur contribution à la nutrition azotée de l'hôte ; à défaut de résultats probants, les souches endophytes capables de coloniser efficacement les tissus de l'hôte pourraient être utilisées comme châssis pour l'introduction de gènes de fixation d'azote. Jusqu'à présent les endophytes caractérisés sont exclusivement extracellulaires (apoplastiques), mais il est possible qu'existent certaines bactéries capables de coloniser les cellules végétales de façon intracellulaire.
- La reconstitution de la voie métabolique de la fixation biologique de l'azote, par introduction dans les plastés et/ou les mitochondries des gènes codant la nitrogénase, permettrait de générer des nitroplastés fixateurs d'azote.
- L'introduction des gènes contrôlant la formation et le fonctionnement de nodosités pourrait permettre la mise en place de nodosités fixatrices d'azote sur les systèmes racinaires de plantes de grande culture.

Parmi ces trois stratégies, celle reposant sur l'utilisation d'endophytes semble être la plus à même de produire des résultats à court terme. Cette approche consiste à améliorer la fixation d'azote par des endophytes diazotrophes ou à utiliser une bactérie qui colonise très efficacement les plantes et chez laquelle on exprime les gènes de fixation de l'azote provenant d'une bactérie diazotrophe. Certaines souches sont déjà disponibles pour des essais sur des plantes de grande culture. Toutefois, il est attendu que l'impact réel de cette approche sur la nutrition azotée sera limité.

À l'inverse, et compte tenu de la complexité d'ingénierie génétique nécessaire, on peut s'attendre à ce que les deux autres stratégies ne portent leurs fruits qu'à long terme. Effectivement, une de ces stratégies – faire produire le complexe nitrogénase directement par les plantes – nécessite le transfert d'une petite vingtaine de gènes bactériens et leur expression dans les chloroplastes ou les mitochondries. De plus, la voie métabolique ainsi reconstruite doit s'intégrer dans les réseaux métaboliques préexistants chez la plante.

Le dernier scénario – qui consiste à introduire la capacité de nodulation chez des plantes d'intérêt agronomique – est aussi complexe que le précédent, et nécessite le transfert de multiples gènes. Néanmoins, la nodulation reposant sur un grand nombre de mécanismes utilisés aussi pour la mycorhization arbusculaire – un autre type de symbiose, existant chez une très large majorité des plantes – signifie que certaines fonctions sont déjà présentes chez ces plantes, et donc que la stratégie d'ingénierie génétique de la nodulation pourrait être simplifiée en tirant parti des voies de signalisations préexistantes.

Finalement, quelles que soient les solutions envisagées, elles reposent toutes sur l'utilisation d'*organismes génétiquement modifiés*¹, végétaux et/ou bactériens, tandis que dans l'état actuel, l'opinion publique reste largement opposée à toute forme d'application d'OGMs au champ. Donc un dernier verrou à lever, pour étendre la fixation biologique de l'azote vers les grandes cultures, sera d'obtenir l'acceptation de ces nouvelles cultures par le grand public.

Ce qu'il faut retenir :

L'agriculture moderne consomme de très grandes quantités d'engrais azotés de synthèse, dont le bilan écologique est alarmant.

Certaines familles de plantes mettent en place une symbiose fixatrice d'azote atmosphérique avec des bactéries du sol, ce qui les affranchit de tout besoin en engrais.

L'amélioration génétique des légumineuses et leur promotion dans les rotations agricoles sont des voies d'amélioration de la durabilité de l'agriculture.

Les connaissances fondamentales acquises sur cette symbiose permettent d'envisager le transfert de la fixation biologique de l'azote à des plantes de grandes cultures comme les céréales.

Pour en savoir plus :

- B. ALUNNI, P. MERGAERT : *Défis et perspectives pour l'utilisation de la fixation biologique de l'azote en agriculture*, in "Les sols et la vie souterraine - Des enjeux majeurs en agroécologie", J.-F. Briat et D. Job (coord.), Quae. Chapitre 15. [ISBN 978-2-7592-2651-1]. 2017
- L. CURATTI, L.-M. RUBIO : *Challenges to develop nitrogen-fixing cereals by direct nif-gene transfer*, Plant Science 225, 2014
- B.-A. GEDDES, M.-H. RYU, F. MUS, A. GARCIA COSTAS, J.-W. PETERS, C.-A. VOIGT, P. POOLE : *Use of plant colonizing bacteria as chassis for transfer of N₂-fixation to cereals*, Current Opinion in Biotechnology 32, 2015
- C. ROGERS, G.-E. OLDROYD : *Synthetic biology approaches to engineering the nitrogen symbiosis in cereals*, Journal of Experimental Botany 65 (8), 2014
- C. SANTI, D. BOGUSZ, C. FRANCHE : *Biological nitrogen fixation in non-legume plants*, Annals of Botany 111 (5), 2013
- V. SMIL : *Enriching the Earth. Fritz Haber, Carl Bosch, and the Transformation of World Food Production*, The MIT Press, Cambridge, Massachusetts, 2001
- J.-I. SPRENT : *Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation*, New Phytologist 174 (1), 2007

¹ abrégé en : OGMs