

EXTRAIT DE

# PHYTOMA

La Défense des Végétaux





Ph. Goëmar

# tester

## Contre la chlorose ferrique activer la physiologie de la nutrition en fer

Avec le Filtrat d'algues GA 142, deux voies d'actions  
révélées en laboratoire, et des résultats au vignoble

Mickaël Euzen\*, Aude Bernardon Méry\*\* et Jean-Marie Joubert\*\*\*

**Le fer est un oligo-élément indispensable aux êtres vivants par son action directe sur des processus métaboliques et enzymatiques fondamentaux. Quand il vient à manquer aux plantes, celles-ci souffrent de chlorose ferrique. Et cela se produit parfois en présence de fer car les plantes n'arrivent pas à l'absorber. Ainsi, sur la vigne, les apports de fer au sol sous forme assimilable coûtent très cher et les apports par voie foliaire ne sont efficaces qu'avant l'apparition de la chlorose. Et si l'on ajoutait, à des apports foliaires, un composé stimulant l'absorption du fer du sol ? Cela a été tenté avec du filtrat d'algues. En effet, des essais en laboratoire avaient montré que ce filtrat agit sur des mécanismes activant l'absorption du fer. Récit des travaux, du laboratoire au vignoble.**

### La bibliographie

de cet article (5 références) est disponible auprès de ses auteurs.

\* Assistant Ingénieur Laboratoire de physiologie et de pathologie Végétale Goëmar, Saint-Pol-de-Léon.

\*\* Ingénieur développement Goëmar.

\*\*\* Directeur développement, Goëmar.

Correspondance : Paul Héry. paul.hery@goemar.com

**L**e fer est utile aux plantes à plusieurs titres. Il est par exemple un élément-clé du centre réactionnel de la ferrédoxine, enzyme qui joue un rôle important lors de la réduction des nitrates et des sulfates. Le fer est aussi présent dans les cytochromes qui participent à la respiration. Il agit sur le cycle de la photosynthèse au niveau des photosystèmes I et II. Une carence en fer a donc un impact direct sur la photosynthèse (symptômes de chlorose) et donc le rendement (Molassiotis *et al.*, 2006).

Or cet élément métallique est peu disponible pour les plantes car il est largement fixé aux particules minérales et organiques du sol sous la forme ferrique, Fe<sup>3+</sup>. Ce phénomène de carence peut être particulièrement prononcé chez les plantes poussant dans un sol calcaire. Surmonter la faible disponibilité en fer dans le sol par l'apport de fertilisants n'est pas facile car il s'agit d'un problème de disponibilité et non d'abondance.

### Stratégies d'absorption du fer chez les plantes

Il y a deux types de stratégies d'absorption du fer chez les plantes (Mori, 1999 ; Schmidt, 2003).

Les dicotylédones et les monocotylédones non graminées solubilisent le fer du sol en réduisant le fer ferrique Fe<sup>3+</sup> en fer ferreux Fe<sup>2+</sup> pour ensuite l'absorber au travers de la membrane des cellules racinaires, c'est la stratégie I.

Les graminées, elles, absorbent le fer sous forme de Fe<sup>3+</sup> lié à un chélateur (Guérinot et Yi, 1994), c'est la stratégie II. Cette stratégie étant la plus efficace, ce sont surtout les plantes dépendant de la stratégie I, comme la vigne, qui souffrent du manque de fer absorbable.

Pour être absorbé par les racines des plantes de stratégie I, le fer fixé au sol sous forme ferrique doit être transformé en fer ferreux, Fe<sup>2+</sup>. L'enzyme Fe<sup>3+</sup>-chélate-réductase NADH-dépendante (EC 1.16.1.7) se charge de cette pre-

mière étape. Cette enzyme, localisée dans la membrane plasmique des cellules de l'épiderme racinaire, est activée notamment en cas de manque de fer dans la plante. Le fer ferreux produit dans l'espace racinaire est ensuite pris en charge par un transporteur membranaire spécifique, le transporteur IRT1 (Iron Regulated Transporter). Celui-ci permet le passage du fer de la rhizosphère jusqu'à l'intérieur des cellules racinaires pour son utilisation. L'activité de ce transporteur est essentielle pour l'absorption de fer chez les plantes utilisant la stratégie I (Eckhardt *et al.*, 2001).

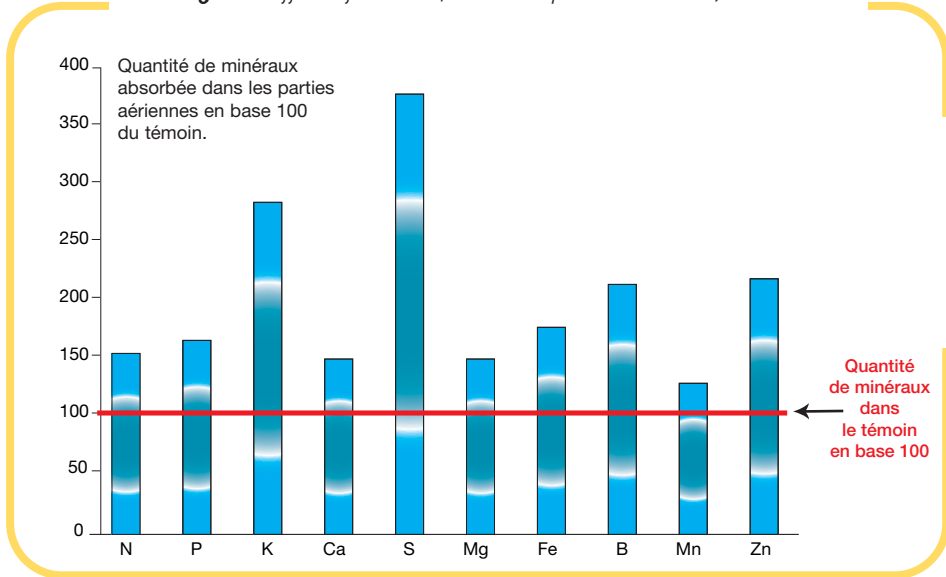
### Quel rapport avec le filtrat d'algues ?

Une expérimentation préliminaire réalisée sous conditions contrôlées en 2007 sur tomate, a permis d'établir une vision globale de l'effet du filtrat d'algues GA 142 sur l'absorption par les plantes des principaux minéraux d'intérêt agronomique (Figure 1). Dans les conditions de cet essai, la réponse est très marquée pour chaque élément. Elle se situe dans une fourchette proche de 50 % à plus de 350 % d'augmentation d'éléments absorbés par la plante suite à la pulvérisation du filtrat.

Deux articles dans *Phytoma*, en septembre 2005 (N° 585) et octobre 2006 (N° 597) identifiaient des mécanismes d'action responsables de l'effet sur la nutrition azotée et phosphatée. Il s'agit d'une stimulation de la biosynthèse par les plantes d'enzymes participant aux mécanismes actifs de captage des éléments du sol. Dans la poursuite de cette démarche, l'objectif de cette étude est de déterminer le mode d'action du filtrat d'algues sur l'absorption du fer chez la tomate.

Pour cela, nous avons mis en place des outils de biochimie et de biologie moléculaire nécessaires à la mise en évidence des effets du filtrat GA 142 sur l'activité ferrique réductase et sur l'expression du gène (*LeIRT1*) codant pour le transporteur IRT1.

Figure 1 - Effet du filtrat GA 142 sur l'absorption des minéraux, modèle tomate.



## Effet sur l'activité de la ferrique chélate réductase

Les plants de tomates sont mis en culture sur un milieu hydroponique ne contenant que la forme ferrique du fer. Ils sont traités avec le filtrat d'algues dilué 500 fois. Des analyses du milieu sont réalisées après 48, 72 ou 96 heures pour évaluer la quantité de fer ferreux transformé en fer ferreux par l'activité des racines. La figure 2 montre que 72 heures après traitement, la quantité moyenne en Fe<sup>2+</sup> dans les échantillons traités par le filtrat d'algues est plus de trois fois supérieure à celle obtenue dans les témoins. Après 96 heures, la différence reste notable. Cet effet très sensible témoigne d'une augmentation importante, suite au traitement avec le filtrat d'algues, de l'activité de la ferrique chélate réductase, seule responsable possible de la transformation de la forme ferrique du fer en fer ferreux.

## Effet sur l'expression du gène *LeIRT1*

La démarche suivie en biologie moléculaire a pour objectif de déterminer si le filtrat d'algues a un effet sur l'expression du gène *LeIRT1* dans les racines de plants de tomates. La figure 3 représente les images de l'expression des gènes *LeIRT1* et actine mesurée par RT-PCR semi-quantitative pour chaque plante prélevée, dans les deux essais. La mesure de l'expression du gène de l'actine, qui est constante chez les végétaux, permet de calibrer l'échantillonnage et vérifier que les différences observées

ne sont pas dues à des variations de quantité de matériel végétal analysée.

Dans chaque modalité, les intensités de bandes, correspondant à chacune des 5 plantes prélevées, sont relativement proches. De même, on n'observe pas de différence pour l'actine entre le témoin et la modalité filtrat. Les résultats sont donc reproductibles et les écarts observés pour le gène *LeIRT1* imputables à l'apport de filtrat.

Pour les deux essais, les bandes correspondant à l'expression du gène *LeIRT1* sont plus intenses pour les échantillons traités avec le filtrat que pour les témoins. Le calcul des rapports des intensités de bandes *irt/act* le confirme (Figure 4). Il montre que les gènes *LeIRT1* des plants traités sont deux fois plus induits que ceux des plants témoins. L'expression du gène *LeIRT1* impliqué dans l'absorption du fer par les racines est donc deux fois plus intense dans les plants traités que dans les témoins.

Ces résultats montrent que l'augmentation de la quantité de fer observée dans des plantes

Figure 2 - Mesure de l'effet du filtrat GA 142 sur l'activité ferrique réductase.

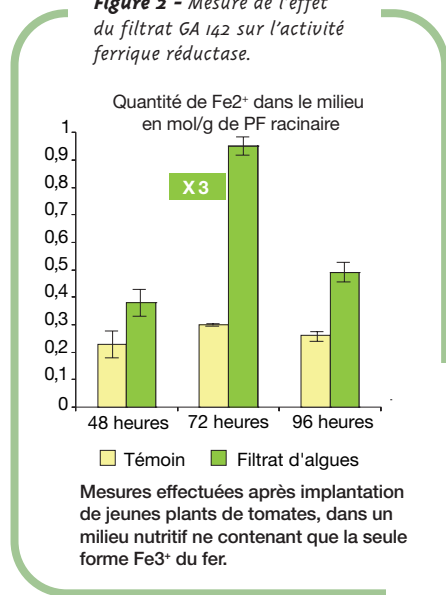
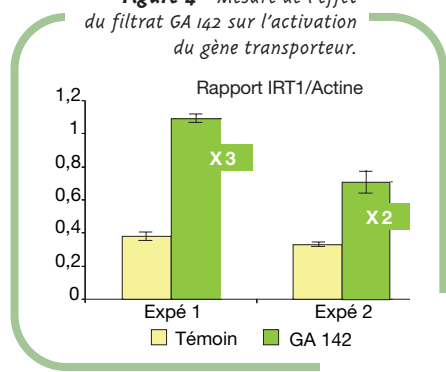


Figure 4 - Mesure de l'effet du filtrat GA 142 sur l'activation du gène transporteur.



traitées par le filtrat d'algues s'explique par l'activation des deux mécanismes mis en place par les plantes pour capter le fer du sol : l'enzyme ferrique chélate réductase et le gène transporteur du fer ferreux. Après l'azote et le phosphore, c'est la troisième voie de la physiologie de la nutrition des plantes pour laquelle le filtrat GA 142 peut être qualifié de Physio Activateur.

## Essais au vignoble

L'acquisition de ces résultats au laboratoire a permis de définir le projet d'une solution agronomique originale. En effet, s'il existe divers modes d'apport de fer aux plantes, ils n'ont pas résolu tout le problème notamment en vigne. Le plus efficace, l'apport de chélates de fer au sol, est onéreux, trop pour être envisageable dans certaines situations. Quant aux apports de fer par voie foliaire, leur efficacité n'est observée que s'ils sont préventifs, avant l'apparition des symptômes de chlorose. L'idée a donc germé d'associer le filtrat GA 142, pour ses effets sur les mécanismes actifs de la nutrition en fer, à des apports directs de fer par voie foliaire.

### Trois essais en 2007

Trois essais ont été conduits dans ce sens au vignoble en 2007. Leur objectif est de tester l'association du filtrat GA 142 à du fer en appli-

Figure 3 - Mesure de l'effet du filtrat GA 142 Goëmar sur l'activation du gène transporteur.

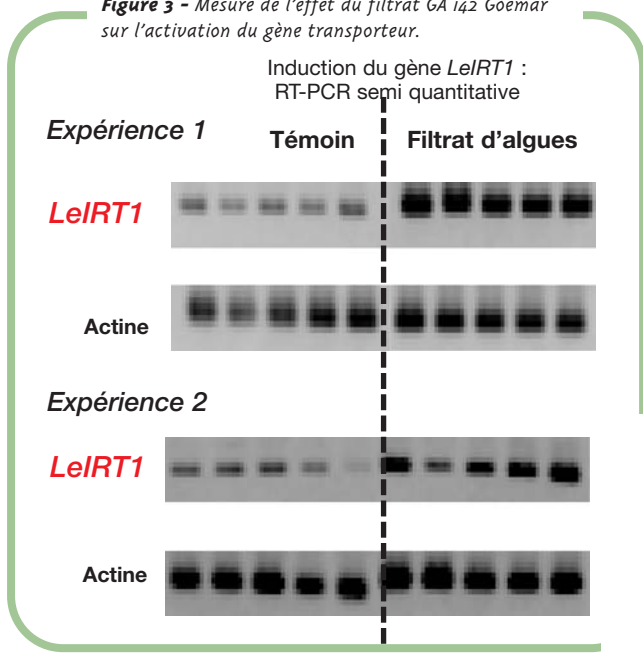
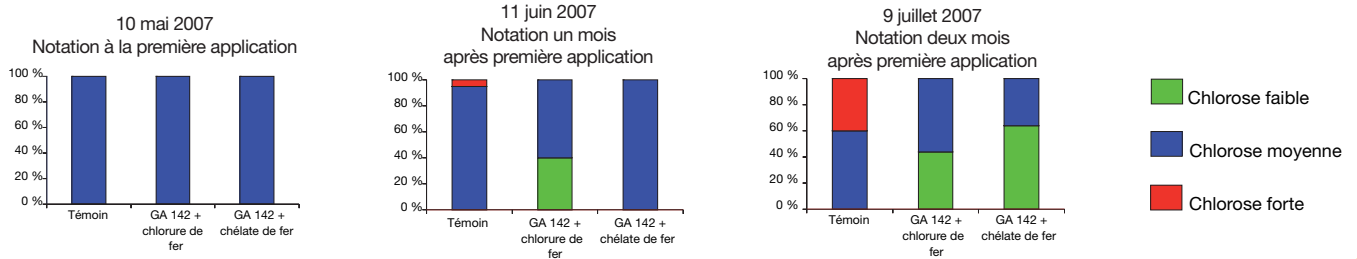


Figure 5 - Essai du Bordelais, notations en pourcentages de ceps par classe de chlorose.



cation curative contre la chlorose ferrique. En parallèle, la question de la meilleure forme de fer à associer a été testée. En effet, si de nombreuses sources bibliographiques existent sur les différentes formes de fer et leur efficacité en application foliaire, elles sont parfois contradictoires et ne présentent pas de comparatif tranché.

Le dispositif suivait la méthode CEB N°68, avec trois modalités : témoin, filtrat GA 142 associé à du chlorure de fer et le même filtrat associé à du chélate de fer EDTA. Les parcelles ont été sélectionnées pour leur régularité dans l'expression de la chlorose chaque année. À l'apparition des symptômes, les parcelles ont été cartographiées et 20 ceps par modalité retenus pour les notations, afin de s'assurer de l'homogénéité de l'intensité de la chlorose dans chacune d'elles avant l'application des traitements. Six applications espacées de 10 jours ont alors eu lieu.

Les notations de suivi de l'évolution de la chlorose ont été réalisées, selon une grille de notation de 0 à 10 par ordre croissant d'intensité des symptômes, sur les 20 ceps présélectionnés de chaque modalité. Absence de symptôme = 0 et mort du cep = 10. Les notations ont eu lieu tous les 10 jours après la première application des produits.

Pour faciliter la lecture, les symptômes ont été regroupés en trois classes : chlorose faible de 0 à 3, moyenne de 4 à 6, forte de 7 à 10.

## Résultats

Parmi les trois situations, Bordeaux, Champagne et Anjou, la parcelle de Bordeaux a montré une aggravation des symptômes de chlorose dans le témoin en cours d'essai. En Champagne et en Anjou, les symptômes de chlorose ont spontanément disparu dans les témoins. Seul l'essai de Bordeaux est donc pertinent pour tirer des enseignements.

Le suivi de l'évolution de la chlorose dans les 3 modalités de la parcelle de Bordeaux, montre, à partir d'une situation homogène de chlorose moyenne, un effet des deux associations dès trois semaines après la première application.

On observe, figure 5, un mois après la première application, que les symptômes s'aggravent dans le témoin ; ils diminuent pour l'association GA 142 + chlorure de fer et se stabilisent pour l'association GA 142 + chélate de fer.

Pour cette dernière modalité, il s'agit en fait d'une diminution de symptômes masquée par le regroupement des classes de notation. En effet, la classe des ceps avec une note de 4 augmente de 20 à 40 %, et celle des ceps avec une note de 5 diminue de 70 à 50 %.

Toujours figure 5, deux mois après la première application, l'aggravation de la chlorose se poursuit dans le témoin, et les symptômes continuent à réduire pour les deux modalités d'association Physio Activateur/fer.

## Résumé

Le fer est un minéral fondamental impliqué dans de nombreux mécanismes de la physiologie des plantes. Les symptômes de carence en fer, ou chlorose ferrique, sont particulièrement observés en sol calcaire, chez la vigne et les arbres fruitiers. Ceux-ci ont mis en place au cours de l'évolution, des mécanismes actifs pour capter et absorber le fer du sol.

Des travaux en laboratoire (sur tomate) démontrent le rôle actif du filtrat d'algues GA 142 sur ces mécanismes : activation de l'enzyme ferrique réductase et du gène transporteur *LeIRT1*.

Au vignoble, l'association du filtrat GA 142 à différentes formes de fer a montré un effet marqué sur la chlorose ferrique. Ceci ouvre

la voie à la mise au point d'une spécialité originale et efficace pour la nutrition en fer des plantes cultivées.

**Mots-clés :** fer, chlorose ferrique, nutrition, physioactivateur, filtrat GA 142, tomate, vigne.

## Summary

### STIMULATING THE PHYSIOLOGY OF IRON NUTRITION WITH AN ALGAE FILTRATE

Iron is absolutely essential to the physiology of plants. Symptoms of iron shortage, known as ferric chlorosis, are particularly observed in calcareous soil and on grapevines and fruit trees.

Laboratory studies (on tomato) show the key role played by algae filtrate GA 142 on the active mechanisms that enable plants to catch and absorb iron from the soil: activation of the reductase ferric enzyme and the transporter gene *LeIRT1*.

In vineyards, the association of filtrate GA 142 with different forms of iron has produced a clear effect on ferric chlorosis. This raises hopes of the possibility of creating an original and effective product for the iron nutrition of cultivated plants.

Ces observations valident la stratégie d'association du filtrat avec du fer pour la lutte contre la chlorose ferrique. Le fait que l'essai se soit déroulé dans un contexte curatif renforce la valeur du constat. Il est en revanche difficile de trancher sur la meilleure forme de fer pour l'association. Les observations suggèrent que l'action du chlorure serait plus rapide et celle du chélate plus intense.

## 2008 : vers un ménage à trois ?

Dans la poursuite du projet de mise au point d'une solution originale et très performante dans la lutte contre la chlorose ferrique, 2008 fait l'objet de travaux complémentaires notamment sur les formes d'association. L'hypothèse d'un ménage à trois semble très séduisante, Physio Activateur-chlorure de fer-chélate de fer. Quatre essais sont actuellement en place sur ce thème ainsi que plusieurs pistes d'élargissement des applications agronomiques, sur prunier d'ente, pommier, poirier et kiwi.

Cette campagne d'essais devra permettre de valider la formulation définitive d'un nouveau Physio Activateur et de le rendre disponible pour les agriculteurs dès le printemps 2009.

## Conclusion

Les analyses effectuées sur modèle tomate montrent un effet marqué du filtrat d'algues GA 142 sur l'absorption par les plantes des principaux minéraux d'intérêt agronomique. Les travaux menés pour comprendre les mécanismes mis en œuvre montrent que ce filtrat active les voies physiologiques mises en place par les plantes pour se nourrir ; principalement ce qui pourrait être qualifié d'enzymes de la nutrition.

Aujourd'hui, les modes d'action sur trois voies nutritionnelles majeures sont identifiés : la nutrition azotée, phosphatée et ferrique. Dans le cas de la nutrition en fer, l'originalité réside dans le fait que le mode d'action est double : action sur l'enzyme ferrique réductase qui rend assimilable le fer du sol, et action sur le gène transporteur *LeIRT1* qui fait pénétrer le fer dans la plante. Le rôle physio actif du filtrat d'algues GA 142 s'enrichit donc de deux nouvelles voies d'activation.

En pratique, au vignoble, l'association de ce filtrat à l'apport de fer par voie foliaire permet, dans un contexte curatif, la réduction significative des symptômes de chlorose ferrique. L'étude actuellement en cours des meilleures formes de fer candidates à cette association laisse entrevoir une solution très originale et très efficace pour lutter contre une carence souvent difficile à maîtriser.