

Calcaire et Calcium chez les plantes

Jean-Georges Barth¹

Introduction

Le mot calcaire désigne des roches sédimentaires constituées majoritairement de carbonate de calcium (au moins 50 % de CaCO_3), un composé minéral du carbone. En dehors des roches, le calcaire est partout présent : il se trouve en concentration faible dans l'eau² et dans l'air sous forme d'aérosols (Perakis & Sinkhorn 2006, Perakis et al. 2013) en quantité très faible, voire infinitésimale (Benesch & Wilde 1983, Steiner 10-6-1924-GA 327). Du calcium est aussi apporté à la terre sous forme de poussières météoritiques. Cet apport est quantitativement négligeable. Il a lieu sous la forme d'achondrites, dont la teneur en calcium est variable, faible ou nulle, mais qui peut dépasser 5 % (Gounelle, 2017).

Font partie des roches calcaires, le carbonate double de calcium et de magnésium (dolomite) et le carbonate de magnésium (magnésite) (fig. 1) (Benesch & Wilde 1983, Bouillard 2016). Steiner inclut dans la notion de calcaire des substances alcalines de sodium et de potassium (Steiner 7-6-1924-GA 327), ainsi que les phosphates (apatites) (Steiner & Wegman GA 27) et les sulfates (gypse) (Steiner 5-7-1924-GA 317). Dans le cours aux agriculteurs, Steiner (13-6-1924-GA 327) élargit implicitement la notion de calcaire à des dérivés organiques tel que l'oxalate de calcium (whewellite = CaOx , $1\text{H}_2\text{O}$) ; cette interprétation est confirmée par Benesch et Wilde (1983). L'oxalate de calcium est une forme rare dans le monde minéral, mais abondante chez la plante³ (Bouillard 2016) (encadrés 1 et 2).

Le calcaire résulte principalement de l'activité d'êtres vivants (roche biogène) et constitue un dépôt insoluble⁴ et inerte qui s'accumule après leur mort. Son attaque par des acides libère dans le milieu du calcium soluble dans l'eau, libre, mobile qui peut être entraîné dans le courant de la vie où il redevient actif. Ces deux aspects alternent et se présentent comme les termes d'une oscillation entre la vie et la mort (Bouillard 2016, Steiner 17-2-1923-GA 349).

Le travail envisagé se propose de mettre en évidence quelques aspects du génie du calcaire chez les plantes sur la base des propositions de Steiner et du savoir universitaire. Il s'agit notamment de vérifier chez la plante l'existence de cette oscillation entre dépôt inerte et activité biologique, de préciser le rôle de la plante dans la genèse de la roche calcaire, de rechercher la correspondance entre la plante et les facteurs édaphiques de son biotope, de donner un aperçu sur les rôles biologiques du calcaire et du calcium, notamment dans les phénomènes de signalisation calcique et de la reproduction sexuée, mais encore dans la gestion des stress abiotiques et biotiques.

¹ Adresse (courriel) : jean-georges.barth@ gmail.com

² L'eau potable peut contenir jusqu'à 900 mg de calcium par litre.

³ Dans la conférence du 13-6-1924 du cours aux agriculteurs (GA 327), Steiner recommande l'utilisation de calcium tel qu'on le trouve dans l'écorce de chêne ; or le calcium ne s'y trouve que sous forme d'oxalate de calcium particulièrement insoluble (solubilité dans l'eau à 18°C = 6 mg/l), une propriété commune au carbonate de calcium (calcaire). Quant aux effets biologiques, Steiner attribue dans ce passage les mêmes propriétés au calcium et au calcaire.

⁴ La solubilité du carbonate de calcium dans l'eau est de 14 mg / l à 20°C sous une pression de 1013 hPa.



Figure 1. De gauche à droite, exemples de cristaux de calcite, d'aragonite et de dolomite (avec sidérite)

Encadré 1- Calcaire et calcium dans le domaine inorganique

Le calcium est le cinquième élément le plus abondant de la croûte terrestre après l'oxygène (46 %), le silicium (28 %), l'aluminium (8 %) et le fer (5 %). Il représente environ 3,5 % de ses constituants. Il n'apparaît jamais sous forme native. Il est séquestré dans des roches magmatiques plutoniques ou volcaniques et dans les roches sédimentaires (Goguel 1959, Gehlig 1994). Le calcium ne devient disponible qu'après avoir été libéré dans le milieu par l'érosion.

Parmi les roches sédimentaires, on trouve des roches dites biochimiques comme les carbonates de calcium (calcaires), les phosphates de calcium (fluoro-, chloro-, ou hydroxyapatites) ou des évaporites comme les sulfates de calcium (gypse). Elles représentent 1,6 % de la croûte terrestre. Le calcaire (CaCO₃) sous forme de calcite, à lui seul, en représente environ 1,5 %. La répartition entre « silice » et « calcaire » semble équilibrée ; en réalité, les roches sédimentaires ne se trouvent qu'en surface, alors qu'en profondeur, la croûte terrestre (jusqu'à environ 35 km d'épaisseur au niveau continental) est majoritairement composée de silice et de silicates (Goguel 1959, Benesch & Wilde 1983, Gargaud et al. 2009, Bouillard 2016, Johnsen 2016).

Les structures cristallines du calcaire (CaCO₃) sont très diversifiées : on en connaît de très nombreuses formes qui appartiennent à trois groupes, celui de la calcite, celui de l'aragonite et celui de la dolomite (figure 1). Calcite et aragonite en constituent les éléments principaux. La diversité des formes de la calcite est expliquée par la proportion plus ou moins importante d'impuretés constituées par d'autres alcalinoterreux (Mg, Sr, Ba) ou par des métaux de toutes sortes (Mn, Fe, Zn, Co, Pb, Cu, Al, Ni, V, Cr, Mo) (Bouillard 2016, Johnsen 2016).

On retient de cette brève description du « calcaire » sa grande variabilité chimique et morphologique (Benesch & Wilde 1983).

Encadré 2- Eléments de chimie du calcium et du calcaire (Huheey et al. 1997)

Le calcium peut être obtenu par électrolyse du fluorure de calcium, mais plus couramment par réduction sous vide de la chaux (CaO) par de la poudre d'aluminium.

Le calcium est un réducteur très puissant, c'est pourquoi on l'utilise comme désoxydant (calciothermie) en métallurgie du chrome, du thorium, de l'uranium, du zirconium. En présence d'oxygène, il brûle avec une flamme jaune-orange ; il se forme de la chaux vive (CaO) qui avec de l'eau se transforme en chaux éteinte (hydroxyde de calcium, Ca(OH)₂). Sa réaction violente avec l'eau produit directement de la chaux éteinte.

L'hydroxyde de calcium (Ca(OH)₂) est une base de force moyenne qui réagit avec les acides ; avec l'acide carbonique (H₂CO₃), un acide faible, il se forme du bicarbonate de calcium (Ca(HCO₃)₂) soluble ou du carbonate (CaCO₃) insoluble. Lorsque la température baisse, l'eau en contact avec l'air s'enrichit en CO₂ ; l'acide carbonique formé réagit avec le carbonate et produit du bicarbonate de calcium selon les réactions :



La réaction inverse se produit lorsque la température de l'air ou de l'eau augmente :



D'une façon générale, le carbonate et le bicarbonate de calcium réagissent avec de très nombreux acides, dont le pKa est < à 5,1 (HA), comme l'acide nitrique (HNO₃) ou l'acide sulfurique (H₂SO₄).



L'intense réactivité avec l'oxygène, l'eau et les acides constituent des aspects de ce que Steiner appelle l'avidité du calcaire (Steiner 11-6-1924-GA 327).

Flore des sols calcaires

Plantes calcicoles et plantes calcifuges

Les éléments du milieu sont à l'origine d'habitats très divers que les plantes peuvent occuper selon leur amplitude écologique, si bien qu'il est souvent difficile d'observer une ligne de démarcation claire entre espèces calcicoles et calcifuges ou basiphiles et acidiphiles. La géographie des habitats, les facteurs édaphiques (roche-mère, acidité, richesse en bases, type d'humus, porosité, aération, etc.), l'activité biologique des sols (bactéries, champignons, microfaune, vertébrés et invertébrés très divers), les conditions climatiques (eau, précipitations, sécheresse, chaleur, altitude), la présence d'autres espèces de plantes (compétition) et les conséquences des activités humaines (élevage, engrais chimiques, pluies acides, pollution) constituent autant de paramètres influençant l'habitat des plantes.

Cependant, certaines plantes habitent uniquement des sols de substrats siliceux et acides ou ont une affinité exclusive pour des sols de substrats calcaires. On remarque que vers les limites géographiques ou altitudinales de l'aire de répartition des espèces, leur préférence pour un type de sol donné est souvent plus nette⁵. Il en est de même aux stades initiaux du cycle de la plante (germination, plantule) où les conditions chimiques peuvent être déterminantes par rapport aux autres influences. C'est ainsi que les graines de plantes acidiphiles connaissent un taux de germination très faible sur sol calcaire et réciproquement pour les graines de plantes calcicoles.

Les plantes strictement calcifuges peuvent se développer dans un sol dont la teneur en calcium est majoritaire par rapport aux autres minéraux essentiels, à condition que la concentration totale en nutriments minéraux soit faible. Ces plantes sont incapables de réguler l'absorption de calcium qu'elles prélèvent du sol de préférence aux autres cations. En revanche, les plantes calcicoles comme l'origan (*Origanum vulgare*, Lamiaceae) recherchent les sols pauvres en nutriments où elles trouvent du calcium en quantité ; elles sont capables de contrôler l'absorption du calcium. Il s'ensuit que leur teneur tissulaire en calcium est du même ordre de grandeur que celle des plantes calcifuges. Par conséquent ce que l'on a attribué à un caractère silicicole est en fait l'expression d'une préférence pour des sols pauvres en calcium, comme le sont les sols acides sur substrat siliceux.

Enfin, en milieu naturel, des espèces ou sous-espèces très voisines se distinguent par leur préférence marquée pour le calcaire ou la silice : ces espèces sont dites **vicariantes écologiques**. Ainsi, *Gentiana acaulis* (G. de Koch), une espèce calcifuge acidiphile, est la vicariante de *G. clusii*, calcicole. Il en est de même d'*Achillea erba-rotta* subsp. *moschata* et d'*Achillea atrata* ou de *Rhododendron ferruginum* et de *R. hirsutum*, les premières de chaque paire étant acidiphiles, les secondes calcicoles.

Quelques exemples décrits ci-dessous illustrent la diversité des caractéristiques édaphiques de l'habitat des plantes (encadré 3) (Salisbury 1920 ; Simpson 1938, Rorison 1960, Jefferies & Willis 1964, Jefferies & Willis 1964a ; Clarkson 1965 ; Rameau 1993 ; Wenk & Dawson 2007 ; Rameau et al. 2008, Ducerf 2008 ; Bahr et al. 2012 ; Labidi et al. 2012 ; McCormick & Gibble 2014 ; Ducerf 2015 et 2017 ; Bothe 2015).

⁵ Le hêtre, habituel des pentes et des prairies calcaires, prospère également sur des sols bien drainés, siliceux, sableux, graveleux, mais craint l'engorgement. Les exigences du hêtre sont d'autant plus prononcées qu'il s'approche de la limite de son aire de répartition : dans le sud de la France (Cévennes) le hêtre préfère des sols dépourvus de calcaire, tandis que dans le nord de la France et au Danemark son exigence pour un sol calcaire est plus marquée ; il y est alors presque exclusivement calcicole (Salisbury 1920).

Les substrats et les sols calcaires

Le plus souvent, il ne pousse rien sur les roches calcaires, contrairement aux roches siliceuses, sur lesquelles on trouve des algues, des mousses et des lichens. La roche calcaire est hostile à la vie (fig. 2A et 2D).

L'acide carbonique, contenu dans la neige ou dans l'eau de pluie, érode lentement la roche, dissout le calcaire (encadré 2, réactions 1 et 2) et génère des reliefs particuliers, karsts, lapiaz ou causses (fig. 2D), dolines, grottes, cavités (fig. 2C) et rivières souterraines (fig. 2B), stalagmites et stalactites). Les roches calcaires sont fissurées ; l'eau de pluie s'y infiltre rapidement et disparaît dans leurs profondeurs.

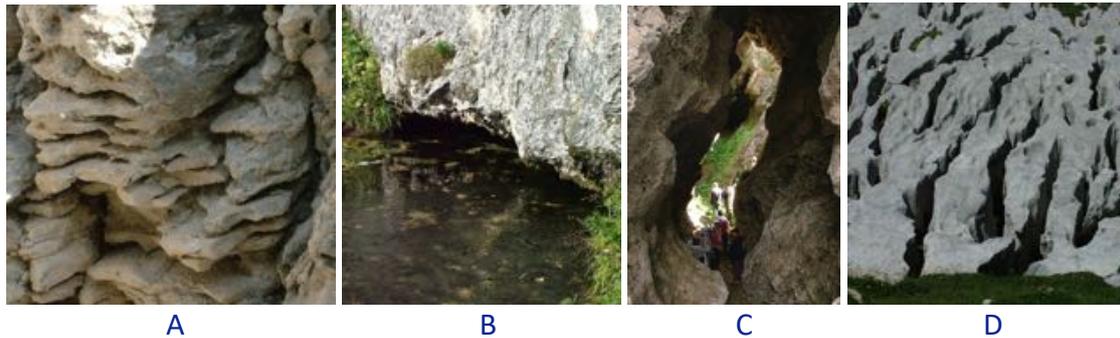


Figure 2. L'empilement de couches (A), les rivières souterraines (B), les grottes (C) et les crevasses (D) sont caractéristiques des massifs calcaires.

Le calcium (Ca^{++}) libéré par l'érosion est impliqué dans la constitution des complexes argilo-humiques produisant des agrégats grumeleux dont la taille et la solidité sont influencées par la quantité de calcium disponible. Ces agrégats stabilisent la structure du sol, favorisent l'élargissement de ses pores, sa perméabilité à l'eau et à l'air ainsi que son réchauffement printanier ; ils favorisent le développement du système racinaire.



Figure 3. De gauche à droite, *Laserpitium halleri* (Apiaceae), *Jasione montana* (Campanulaceae) et *Erica cinerea* (Ericaceae) sont des plantes des substrats siliceux.



Figure 4. L'arnica (*Arnica montana*, Asteraceae) peut aussi se développer sur des schistes contenant du calcaire à condition que leur teneur en silice soit importante ; le rhododendron ferrugineux (*Rhododendron ferrugineum*, Ericaceae) prospère sur un humus brut acide, quel que soit le substrat, siliceux ou calcaire.

Encadré 3. Diversité édaphique des habitats des plantes : quelques exemples

Le **laser de Haller** (*Laserpitium halleri*, Apiaceae) et le **buplèvre étoilé** (*Bupleurum stellatum*, Apiaceae) sont des espèces héliophiles et indicatrices de sols acides (**acidiphile**) de l'étage subalpin et alpin, fréquentes sur **substrat siliceux** (Reduron 2008) (fig. 3).

La **jasione des montagnes** (*Jasione montana*, Campanulaceae ; fig. 3) et la **raiponce hémisphérique** (*Phyteuma hemisphaericum*, Campanulaceae) sont des plantes typiques des **sols acides (silice)**, la première de l'étage collinéen jusqu'à l'étage subalpin et la seconde de l'étage subalpin jusqu'à l'étage nival. La **bruyère cendrée** (*Erica cinerea*, Ericaceae ; fig. 3) et la **bruyère commune** (*Calluna vulgaris*, Ericaceae) sont des plantes typiquement acidiphiles (silice) des plaines jusqu'en montagne (Rameau et al. 1993 ; Aeschmann et al 2004).

Le **saule à oreillettes** (*Salix aurita* (Salicaceae) est une espèce subboréale acidiphile et hygrophile des sols tourbeux et alluviaux (Rameau 1993).

L'**arnica** (*Arnica montana*, Asteraceae ; fig. 4) est une orophyte héliophile et calcifuge des sols à humus acide des substrats **siliceux (acidiphile à large spectre)**. Mais on la rencontre aussi sur des substrats schisteux contenant du calcaire, mais riches en silice. L'explication de ce paradoxe pourrait se trouver dans la démonstration expérimentale que la silice, ajoutée au milieu de culture, réduit l'absorption du calcium et sa teneur tissulaire, favorisant ainsi la croissance de la plante. Cet effet antagoniste de silice et calcaire (Steiner 29-3-1920-GA 312 et 10 et 11-6-1924-GA 327) a été démontré pour de nombreuses plantes de grande culture et pourrait expliquer aussi que des plantes comme *Arnica montana* puissent se rencontrer sur des schistes calcaires riches en silice (Ma et Takashi, cités par Epstein, 1994 ; Mehrabanjoubani et al., 2015 ; Diederich & Riggers 2003 ; Barth 2019).

Le **rhododendron ferrugineux** (*Rhododendron ferruginum*, Ericaceae ; fig. 4) est une espèce acidiphile des ubacs subalpins et alpins qui se développe sur un **humus brut acide**, résultat du blocage de la décomposition de la matière organique du fait de l'altitude, accumulé sur des substrats calcaires ou siliceux. En revanche le **rhododendron cilié** (*Rh. hirsutum*) ne se rencontre que sur les ubacs subalpins à substrats calcaires (Rameau et al. 1993).

La **scabieuse à feuilles de graminée** (*Lomelosia graminifolia*, Caprifoliaceae ; fig. 5) est typique des montagnes calcaires (Aeschmann et al. 2004) ; il en est de même de la **germandrée des Pyrénées** (*Teucrium pyrenaicum*, Lamiaceae ; fig. 5), du **daphné des Alpes** (*Daphne alpina*, Thymeleaceae ; Fig. 5) ou du **daphné caméléé** (*D. cneorum*) des plantes calcicoles rencontrées communément jusqu'à l'étage subalpin des Pyrénées ou des Alpes du sud. Le **genêt occidental** (*Genista hispanica*, Fabaceae) est une plante calcicole des collines et des montagnes franco-ibériques jusqu'à 1400 m, tandis que le **rosier pimprenelle** (*Rosa spinosissima*, Rosaceae ; fig. 5) se rencontre des collines jusqu'aux étages subalpins calcaires (Rameau 1993 ; Dumé et al. 2018).

La **trinie glauque** (*Trinia glauca*, Apiaceae) est indicatrice de **sols très secs riches en bases** ; elle est souvent calcicole, mais se trouve aussi sur des substrats basaltiques ou cristallins ; elle a été décrite comme calcicole thermique (Reduron 2008).

Le **buis** (*Buxus sempervirens* Buxaceae) est une espèce supraméditerranéenne thermophile et xérophile habituelle des substrats calcaires, rencontrée également sur des argiles et des rochers siliceux, jusqu'à 1600 m d'altitude (Rameau et al 1993).

La **grande gentiane** (*Gentiana lutea*, Gentianaceae) a un comportement différent selon les régions et l'altitude : en montagne elle se caractérise par une très large amplitude écologique, allant de sols acides (Hautes Vosges) à basiques (Jura).

En revanche, de nombreuses **espèces généralistes** sont indifférentes à la nature du sol comme le **genévrier commun** (*Juniperus communis* L. subsp. *communis*, Cupressaceae), une espèce pionnière à très large amplitude que l'on trouve sur des sols de toute nature, de très acides à basiques (calcaires). D'autres plantes, comme *Calendula officinalis* (Asteraceae), *Oenothera biennis* (Onagraceae), *Nardus stricta* (Poaceae) et beaucoup d'autres, herbacées ou ligneuses sont indifférentes à la nature du substrat (Rameau et al. 1993, Rameau et al. 2008 ; Dumé et al. 2018).



Figure 5. De gauche à droite, *Lomelosia graminifolia* (Caprifoliaceae), *Teucrium pyrenaicum* (Lamiaceae), *Daphne alpina* (Thymeleaceae), *Rosa spinosissima* (Rosaceae), des plantes typiquement calcicoles.

Les sols des substrats calcaires sont minces, de 10 à 20 cm seulement d'épaisseur, et pauvres en nutriments (humus). Ils sont principalement constitués de carbonate de calcium (CaCO₃), parfois associé à du carbonate de magnésium (sols dolomitiques). Ils sont caractérisés par une plus forte proportion de sels solubles et par leur neutralité voire leur alcalinité (jusqu'à pH = 8,5). Dans des sols fortement basiques (pH 8 et davantage), le carbonate de calcium précipite autour des particules organiques, contrarie l'activité des micro-organismes, freine la formation et la minéralisation de l'humus, réduit la disponibilité de l'azote, du fer et du phosphore.

Ces sols réfléchissent fortement la lumière solaire. La fraction réfléchie des radiations solaires incidentes (albédo) est fonction de la nature du calcaire. Le calcaire blanc réfléchit les rayons incidents presque entièrement. Sur ces sols, la plante est donc soumise à la fois aux radiations incidentes et réfléchies, de telle sorte qu'en plein été, à environ 15 cm au-dessus d'un sol, la température peut atteindre 50 à 60°C (fig. 6).

Les plantes des sols de ces substrats calcaires doivent donc se débrouiller avec la **sécheresse, la chaleur et la pauvreté en nutriments**. Ces facteurs réduisent les performances de la plante et limitent la production de la biomasse (Bothe 2015) ; ils favorisent une flore diversifiée composée fréquemment de plantes annuelles, de géophytes et de chaméphytes suffrutescents* ou encore d'arbustes. Ceci explique aussi, que comparé à d'autres substrats géologiques, la flore d'un massif calcaire se caractérise schématiquement sous nos latitudes, par la précocité printanière et par l'achèvement fin juin de la plupart des cycles végétaux (Benesch & Wilde 1983, Chytry et al. 2010, Collin-Bellier et al. 2010, Bahr et al. 2012, Atkinson 2014, Bothe 2015).



Figure 6. La roche calcaire réfléchit la lumière ; les plantes qu'on y rencontre poussent dans des sols formés dans des trous de la roche. Sur ce cliché au premier plan *Allium schoenoprasum* (Amaryllidaceae) une plante généraliste* et en arrière-plan *Achillea atrata* (Asteraceae) une plante calcicole (lapiatz du col du Sanetsch, Suisse).

Les espèces de plantes qui recherchent des substrats riches en carbonate de calcium sont appelées **calcaricoles**. Le plantain moyen (*Plantago media*, Plantaginaceae) en est un exemple ; mais paradoxalement ces plantes n'ont pas besoin de l'élément calcium et peuvent pousser sur d'autres substrats à condition qu'ils soient basiques.

Des espèces habituelles des sols riches en calcium (**espèces calcicoles**) peuvent, dans les régions méditerranéennes, également habiter des sols de toute nature, à condition qu'ils soient chauds et secs ; ces espèces sont appelées **calcicoles thermiques**. D'autres plantes dites **calcicoles chimiques**, comme la mercuriale vivace (*Mercurialis perennis*, Euphorbiaceae), réclament des sols riches en sels minéraux, contenant souvent du calcium en abondance. Le calcium ne leur est cependant pas nécessaire, car elles peuvent se développer sur d'autres substrats que le calcaire (Collin-Bellier et al. 2010).

La roche-mère en **calcaire dur** (cf. calcaire lutétien) résiste aux acides produits par les êtres vivants du sol, si bien que le sol contient moins ou très peu de calcium et permet l'installation d'espèces acidiphiles. La luzule blanche (*Luzula nivea*, Juncaceae) est souvent citée en exemple. La même chose est observée dans des régions à forte pluviosité, où le calcium (Ca^{++}) libéré de la roche-mère peut être entraîné dans les profondeurs du milieu ou en être éliminé par lessivage des eaux de pluie.

Cet aperçu très succinct laisse entrevoir la grande diversité des sols des stations* calcaires et des conditions particulières offertes aux plantes ; il s'enrichit encore de la diversité des roches-mères, comme la craie, le tuffeau, la dolomie, les schistes argilocalcaires, les marnes, le gypse, de l'association avec d'autres roches (argile) et de l'influence des conditions climatiques générales ou locales. Toutes ces données montrent que l'appellation de plante calcicole doit être éclairée par la diversité des conditions édaphiques, trophiques et hydriques d'un biotope particulier (Leurquin 2010, Escudero et al. 2015).

Amendement calcaire

Effets positifs : le pouvoir tampon du calcaire

La roche-mère calcaire ou d'autres substrats riches en carbonates se comportent comme un tampon vis-à-vis des acides apportés par les pluies ou produits par les exsudats racinaires des plantes, par la dégradation de la litière ou par les processus respiratoires des êtres vivants du sol, bactéries, champignons, algues et invertébrés (encadré 2, réactions 1 et 2). L'interaction de ces acides avec l'anion carbonate maintient neutre ou alcalin le milieu, ce qui préserve la plante de leurs effets délétères.

L'amendement calcaire a pour objectif de réduire l'acidité des sols et d'atteindre des valeurs de pH comprises entre 6 et 6,5 (encadré 2, réaction 4a et 4b) ; ceci favorise la croissance et le rendement de nombreuses plantes cultivées, améliore l'absorption de l'eau et augmente la teneur en azote de leurs tissus. La neutralisation favorise moins les champignons que les bactéries du sol, notamment les rhizobiums fixateurs d'azote chez les Fabaceae. En outre, la neutralité obtenue stimule le développement de la faune du sol, notamment des lombrics ; ces derniers contribuent à réduire l'acidité du sol qui passe à travers leur corps. Les sols acides représentent une proportion considérable (environ 36 %) des terres cultivées ; c'est dire l'importance que peut avoir l'amendement calcaire (encadré 4) (Salisbury 1920, Atkinson 2014, Rothwell & Dodd 2014, Bothe 2015).

Encadré 4– Amendement calcique des sols acides et culture du haricot

Le haricot (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) préfère les sols calcaires (Aeschmann et al. 2004) : il est sensible à la carence calcique qui se manifeste par la diminution de la croissance et la nécrose des apex racinaires et caulinaires. Lorsque le sol est acide, l'amendement par du calcaire est utile pour assurer l'alimentation satisfaisante de la plante en calcium et neutraliser l'acidité du sol ainsi que les effets toxiques de l'aluminium (Al ; voir ci-dessous). En faisant passer le pH du sol d'environ 5 à 6, le rendement double : le nombre de graines et de gousses par plante et la biomasse des parties aériennes et souterraines augmentent. Le calcium s'accumule dans les feuilles et les graines proportionnellement à la teneur en calcium dans le milieu de culture. Ces effets positifs sont observés jusqu'à des teneurs en calcium dans le milieu de culture de 5 mM (Rothwell & Dodd 2014, Domingues et al. 20).

Effets négatifs : alcalinisation du milieu et excès de calcium disponible

De nombreux facteurs de stress abiotiques (salinité, fongicides, pollution) ont un effet négatif sur la formation des mycorhizes*. L'enrichissement du milieu de culture en carbonate de calcium provoque son alcalinisation, laquelle constitue le facteur le plus important de perturbation du cycle du champignon. Les perturbations portent sur les étapes présymbiotiques (germination de la spore, allongement des hyphes) et symbiotiques (vitesse de colonisation des racines, développement extraracinaire des hyphes, sporulation). Bien que le cycle du champignon ne soit pas complètement empêché et qu'un certain niveau de symbiose soit possible, la biomasse produite est réduite⁶ (Salisbury 1920, Labidi et al. 2012).

Habituellement la concentration en calcium de la rhizosphère dépasse celle nécessaire pour assurer un développement satisfaisant des plantes. C'est pourquoi les modalités d'utilisation d'un amendement calcaire doivent être précisées en fonction de la nature du sol et de l'espèce de plante cultivée, calcicole, neutrocline* ou acidocline⁷, en sachant que le Ca⁺⁺ est impliqué dans la conductance stomatique* et par conséquent dans la globalité des échanges gazeux et de l'assimilation qui en dépendent. L'augmentation de la disponibilité en calcium dans la rhizosphère peut réduire l'absorption du CO₂, diminuer la biomasse et la croissance (Atkinson 2014).

Bio-minéralisations calciques chez la plante et processus de carbonatation

Bio-minéraux ou minéralisation dans le monde vivant

On observe de nombreux dépôts minéraux chez les êtres vivants, parmi lesquels, principalement les dépôts siliceux et calciques. Pour leur formation, ces bio-minéraux nécessitent une matrice plus ou moins complexe de nature mucopolysaccharidique* ou protéique sur laquelle les minéraux viennent se fixer ; les produits formés dans ces conditions ont des propriétés physiques supérieures à celles des minéraux purs du monde inorganique ou obtenus en laboratoire : par exemple, une perle d'huître (aragonite) est environ 300 fois plus dure que l'aragonite minérale (Mann 2001).

⁶ Ces faits ont été établis expérimentalement sur un champignon (*Rhizofagus irregularis*) responsable de mycorhizes arbusculaires de la chicorée (*Cichorium intybus*, Asteraceae) (Labidi et al. 2012).

⁷ Chez les plantes de tourbières, l'enrichissement en carbonate de calcium de leur milieu de culture entraîne d'importantes perturbations physiologiques, car ces plantes acidiphiles sont incapables de réguler la concentration intracellulaire de calcium et de bicarbonate. Ces perturbations concernent l'équilibre osmotique et l'activité d'enzymes ; elles se répercutent sur la diminution de la croissance des racines et des pousses ainsi que sur la diminution de l'absorption de nutriments. Le brunissement important des feuilles témoigne du stress induit par le calcium. En outre, le pouvoir de germination des semences est diminué, le taux de mortalité des plantules augmente et leur croissance est ralentie (McCormick & Gibble 2014).

Les biominéraux calciques sont observés dans tous les groupes d'Eucaryotes, unicellulaires, pluricellulaires, protistes (Foraminifères), algues⁸, plantes, animaux invertébrés ou vertébrés, mais aussi chez les bactéries (Prokaryotes)⁹ (Bauer et al. 2011). Ils constituent les éléments du squelette des éponges calcaires ou l'exosquelette des animaux inférieurs (Cnidaires¹⁰, Mollusques, Crustacés¹¹) sous forme de carbonate (calcite et aragonite) ; ils constituent aussi l'endosquelette des vertébrés majoritairement sous forme d'apatites. C'est pourquoi ces dérivés calciques occupent une place particulière parmi les biominéraux.

Les minéralisations calciques chez les plantes

D'une façon générale, tous les êtres vivants photosynthétiques terrestres ou marins, des bactéries aux plantes en passant par les algues unicellulaires, produisent en masse des biominéraux calciques. Parmi eux le carbonate de calcium (CaCO_3) et la whewellite (oxalate de calcium monohydraté, $\text{CaOx}, 1\text{H}_2\text{O}$; fig. 7), laquelle compte parmi les plus importants minéraux produits sur terre (Stephens 2012)¹².

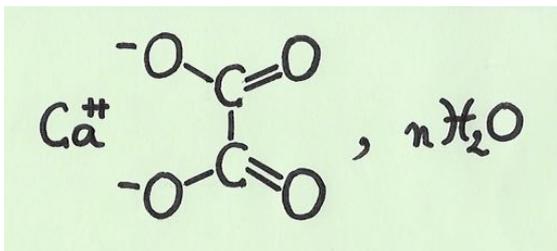


Figure 7. Formule développée de l'oxalate de calcium ; n = 1 (whewellite) ; n = 2 (weddelite).

⁸ **Les Coccolithophores** parmi lesquels principalement *Emiliana heuxlei*, sont des constituants essentiels du phytoplancton marin. Les coccolithes qu'ils élaborent sont des squelettes de calcite, qui à la mort des cellules sédimentent sur les fonds marins où le CO_2 est donc séquestré. Pour cette raison, ces algues jouent un rôle majeur dans les équilibres climatiques en réduisant la masse du gaz carbonique atmosphérique (Gehlig 1994, Mann 2001).

⁹ **Les stromatolites** constituent les formations calcaires les plus anciennes connues : les premiers datent d'il y a 2,15 à 2,7 milliards d'années, mais ils se forment encore aujourd'hui. Ce sont des structures sédimentaires laminées formées principalement par des cyanobactéries photosynthétiques. Le bicarbonate de calcium dissout dans l'eau du milieu est fixé sur une matrice mucilagineuse excrétée par les bactéries, puis transformé en CaCO_3 (cf. encadré 2, réaction 3). Les particules piégées forment une croûte solide, appelée lamine cyanobactérienne. Avec le temps se forme un empilement de croûtes minéralisées, dans lesquelles le CO_2 est séquestré en grande quantité (Amaudric du Chaffaut 2008, Gargaud et al. 2009).

¹⁰ **Les coraux et les madrépores** (Anthozoaires) constituent des colonies de polypes vivant en symbiose avec des algues photosynthétiques (Dinoflagellées) dans des eaux peu profondes des zones tropicales. Le développement des colonies conduit à l'accumulation massive de calcaire. La masse produite est telle qu'elle conduit à la subsidence des structures géologiques sous-jacentes et à la formation d'atolls ou de récif-barrière. Les squelettes calcaires produits constituent une forme de séquestration du CO_2 et de ce fait contribuent à la régulation climatique (Grassé & Doumène 1993, Campbell & Rice 2004, Birkeland 2015, Hubbard 2015, Muller-Parker et al. 2015).

¹¹ **L'écrevisse à pattes rouges** (*Astacus astacus*) un crustacé d'eau douce renouvelle à chaque mue sa carapace chitineuse imprégnée de calcite. Avant cette mue, l'écrevisse dissout le calcaire de sa carapace et l'accumule sous forme de gastrolites dans la paroi de l'estomac. En moins de 4 semaines, ces dépôts de calcaire sont entièrement utilisés pour consolider la nouvelle carapace. Les « pierres » de l'écrevisse sont utilisées en association avec du silex dans la prophylaxie des calculs rénaux (Lapis cancri) (Cukerzis 1984, IAAP 2017).

¹² **La whewellite** est aussi présente chez de nombreux animaux et chez l'homme. Chez ce dernier on la trouve dans des situations pathologiques sous forme de dépôts **extracellulaires** comme les calculs rénaux. Les champignons et les lichens produisent également de la whewellite, la plupart du temps vers l'extérieur le long des hyphes* du mycélium. La whewellite produite par les lichens peut endommager les matériaux des bâtiments, mais dans certains cas elle a un effet protecteur, par exemple, lorsqu'une patine riche en whewellite s'est formée sur des peintures pariétales préhistoriques (Stephens 2012).

Chez les plantes, les minéralisations calciques les plus fréquentes sont constituées de dépôts d'oxalate de calcium ou de carbonate de calcium amorphe ou cristallisé, ce dernier principalement sous forme de calcite, d'aragonite, voire de vaterite. Les dépôts calciques ont lieu le plus souvent dans des cellules spécialisées dispersées dans les tissus : il s'agit des idioblastes, où se dépose le CaOx et des lithocystes, dans lesquels le CaCO₃ forme des cystolithes (fig. 8).

Les carbonates se rencontrent chez les Bryophytes, les Fougères et les Angiospermes, où ils ont été décrits chez les Moraceae, les Acanthaceae, les Cannabaceae et les Urticaceae. D'autres carbonates (de magnésium ou de strontium) mais aussi des sulfates et des phosphates (de calcium, de strontium ou de baryum) sont observés chez quelques groupes de plantes, notamment du genre *Acacia* (Franceschi & Nakata 2005, Faheed et al. 2012, Meyer et al. 2013, He et al. 2014).

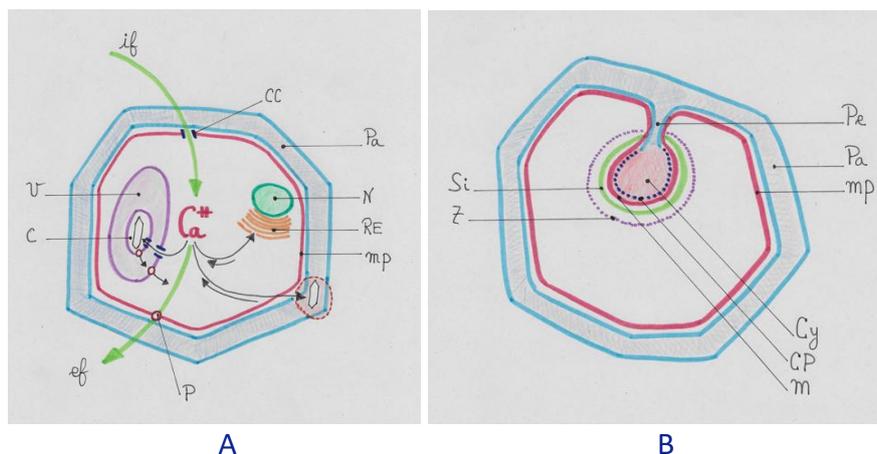


Figure 8. Représentation schématique d'un idioblaste (A) et d'un lithocyste (B).

C : chambre intravacuolaire ; CC : canal calcique ; CP : cellulose, pectine ; Cy : cystolithe ; ef : efflux calcique ; if : influx calcique ; m : membrane ; mp : membrane plasmatique ; N : noyau ; P : pompe ou transporteur à calcium ; Pa : paroi (apoplasme*) ; Pe : pédoncule ; RE : réticulum endoplasmique* ; Si : silice ; Z : extension future du cystolithe.

La whewellite est globalement le minéral largement dominant chez les plantes, bien que certaines n'en produisent pas. Elle est fréquemment associée à de la weddelite (CaOx dihydraté) moins stable. Les dépôts de CaOx peuvent représenter jusqu'à 80 % du poids sec de la plante et jusqu'à 90 % du calcium total (Franceschi & Nakata 2005, Bauer et al. 2011). Selon les familles, la production de CaOx est constitutive ou inductible. On connaît encore d'autres cristaux de dérivés organiques du calcium comme le citrate, le tartrate et le malate. Ces biominéraux organiques se trouvent dans tous les groupes de plantes, mais ils sont particulièrement abondants chez les Angiospermes et les Gymnospermes (encadré 5) (Epstein 1994, Mann 2001, Hopkins 2003, Franceschi & Nakata 2005, Meyer et al. 2013, He et al. 2014, Raman et al. 20014).

La diversité morphologique des cristaux de CaOx est très grande. On en observe 5 types principaux : des prismes ou des tétraèdres qui peuvent s'agréger en druse, des cristaux aciculaires isolés (styloïde ; du grec *stylos*, colonne) ou groupés (raphides ; du grec *raphis*, aiguille) ainsi que de petits cristaux anguleux constituant du sable. On connaît actuellement 6 types différents de raphides (Franceschi & Nakata 2005, Faheed et al. 2012, Raman et al. 2014). Les raphides sont les formes les plus répandues parmi les Monocotylédones, tandis que les druses le sont davantage chez les Dicotylédones.

Les raphides n'ont jamais pu être produites *in vitro*, ce qui implique l'influence de constituants et de fonctions cellulaires sur la morphologie cristalline. Dans les idioblastes, les cristaux sont déposés dans des « chambres », des espaces intravacuolaires limités par des membranes. La nucléation, la croissance, la morphologie et les dimensions des cristaux sont contrôlées par les caractéristiques chimiques de la chambre de cristallisation, comme le rapport des concentrations de calcium et d'acide oxalique, la composition de ses membranes, la structure et les fonctions chimiques des macromolécules et des protéines qu'elle contient. Les idioblastes font la synthèse de l'acide oxalique¹³, tandis que leur appareil de Golgi* est impliqué dans le transport vers la vacuole d'une protéine constituant la matrice des cristaux (Mann 2001, Franceschi & Nakata 2005, Le et al. 2010, Bauer et al. 2011, Serdar & Demiray 2012, Raman et al. 2014). Ces minéralisations sont contrôlées par les entrées (influx) et les sorties (efflux) de calcium. Les entrées sont assurées par des canaux calciques* plus ou moins spécifiques ; ils sont plus nombreux ou plus actifs chez les cellules accumulant ces minéraux que chez les cellules ordinaires. Ces phénomènes sont génétiquement contrôlés : des mutations peuvent aller dans le sens d'une accumulation exagérée ou insuffisante (Franceschi & Nakata 2005, Stephens 2012, Pinto & Ferreira 2015).

Encadré 5 - Quelques exemples de plantes productrices d'oxalate de calcium

L'Iroko, un arbre de Côte d'Ivoire (*Milicia excelsa*, Moraceae) prospère sur des sols acides et stocke le CO₂ sous forme de cristaux d'oxalate de calcium en très grandes quantités dans son tronc et ses tissus. Cette accumulation peut être telle que le tronc est quasiment pétrifié et que son sciage devient très difficile. La décomposition de l'oxalate de calcium des organes morts de l'arbre enrichit le sol en carbonate de calcium et ce faisant contribue à l'augmentation du pH du milieu ; les carbonates formés ultérieurement en sont stabilisés. Le phénomène est quantitativement important (Stephens 2012, He et al. 2014).

Pendant leur croissance, les Cactaceae, comme le figuier de Barbarie (*Opuntia ficus-indica*) ou le cactus saguaro (*Carnegiea gigantea*), fabriquent de l'oxalate de calcium en quantités importantes qui se transforme en calcite lors de la décomposition des plantes ou de leurs organes morts (Stephens 2012, Bothe 2015).

La whewellite est présente dans le feuillage de **nombreuses espèces** (4% du poids sec chez la tomate, 3,3% chez le pommier, 4,3% chez le pêcher, 3,7% chez l'épinard, etc.). La plupart des feuilles citées contiennent aussi de la weddellite. L'épinard contient en plus de l'oxalate de magnésium (glushinskite). Les idioblastes du mésophylle* des feuilles de la laitue d'eau (*Pistia stratiotes*, Araceae, Alismatale) accumulent de CaOx en grandes quantités [Stephens 2012].

L'oxalate de calcium et le chêne. Chez les chênes (*Quercus macranthera*, *Q. aucheri*, *Q. cerris*, *Q. petraea*, Fagaceae), les cristaux d'oxalate de calcium sont localisés dans des vacuoles de cellules unisériées* du parenchyme* des tiges formant de longues chaînes et contenant des cristaux très compacts de forme et de taille variables, prismatiques, tétragonaux ou rhomboïdaux. On trouve également des cristaux aciculaires, isolés ou en raphides dans des éléments de vaisseaux conducteurs du bois d'été (bois final) où ils sont adhérents à la paroi. Parfois il s'agit de sable, constitué de petits cristaux compacts (*Q. aucheri*). Chez le chêne sessile (*Q. petraea*) on trouve encore, dans les mêmes territoires que le CaOx, des granules amorphes contenant 66% de fer et du soufre (0,65%) du calcium (0,59%) et du silicium (0,57%) (Serdar & Demiray 2012).

Les cristaux de CaOx peuvent se rencontrer dans tous les tissus, végétatifs, génératifs, les organes de stockage, les tissus photosynthétiques ou non photosynthétiques et les organes en développement, graine et ses téguments (Domingues et al. 2016). La distribution des cristaux dans les tissus ou les organes et leur type morphologique sont spécifiques d'espèce (déterminés génétiquement) (Franceschi & Nakata 2005, Serdar & Demiray 2012).

¹³ Selon les auteurs, l'acide oxalique est formé à partir de l'ascorbique (vitamine C) (Franceschi & Nakata 2005) ou du système glycolate / glyoxylate. La formation de ces derniers précurseurs est indépendante de la photorespiration (Le et al. 2010).

Les conditions du milieu de vie des plantes, comme l'aridité ou la teneur en calcium du sol, influencent l'abondance des dépôts, mais pas leur morphologie¹⁴ (Brown et al. 2013 ; Dauer & Perakis 2014).

Les dépôts extracellulaires (dépôts apoplasmiques) sont courants, notamment chez les Gymnospermes où ils se produisent dans n'importe quelle couche de la paroi de la plupart des types cellulaires. Chez les Angiospermes ces dépôts ont lieu dans l'apoplasme de cellules spécialisées appelées astéroscléréides. Ces dépôts sont régulés génétiquement.

En dehors de ces localisations, le calcium se trouve encore, associé à des protéines, dans d'autres compartiments cellulaires, comme le réticulum endoplasmique*, les mitochondries* ou les chloroplastes* (Dayod et al. 2010, Franceschi & Nakata 2005).

Dégradation de l'oxalate de calcium et processus de carbonatation

Dans les forêts tempérées, le calcium fixé pendant la vie de la plante sous forme de combinaisons avec la pectine de la paroi ou sous forme d'oxalate de calcium est libéré par décomposition de la litière par des bactéries et des champignons. L'oxalate de calcium, qui est quasi insoluble dans les tissus morts de la plante, est transformé en bicarbonate soluble, ce qui permet au calcium d'être réintroduit dans un cycle de vie. L'oxalate de calcium joue un rôle de réservoir de calcium à long terme dans les écosystèmes soumis à des stress induits par l'acidification des sites (encadré 6) ou par le prélèvement répété de bois (Dauer & Perakis 2014).

Dans les milieux arides, à la mort de la plante, la whewellite accumulée dans ses organes peut être minéralisée en bicarbonate de calcium puis en carbonate (calcite) sous l'influence de décomposeurs (bactéries, champignons). Globalement, la moitié du carbone de l'oxalate est dégradé en CO₂, l'autre moitié reste séquestrée sous forme de carbonate, une forme minérale qui a l'avantage de séjourner plus longtemps dans le sol que la matière organique¹⁵. De nombreux facteurs influencent le processus de carbonatation parmi lesquels les nutriments, la salinité, la température, les conditions des dépôts. L'accumulation de calcaire peut même être observée sur des supports granitiques, là où on ne l'attendait pas (voir ci-dessus encadré 5). La carbonatation de CaOx influence le cycle du carbone et du calcium et a des conséquences climatiques importantes (Stephens 2012, He et al. 2014, Bothe 2015) (encadré 6). Le phénomène peut se résumer par le schéma suivant :

CO₂ de l'air (photosynthèse) → acide oxalique + calcium du sol → oxalate de calcium → mort de la plante et décomposition → libération de CO₂ et accumulation de carbonate de calcium dans le sol

¹⁴ Ces observations ont été faites sur *Acacia* sp. et sur le pin de Douglas.

¹⁵ La dégradation de la whewellite après la mort de la plante ou de ses organes explique qu'elle soit rare dans les documents de l'histoire géologique ; on peut la trouver dans les stations thermales de basse température en contact avec des schistes graphitiques, des roches carbonées d'origine végétale. Le carbonate de calcium et l'oxalate sont des marqueurs de la présence passée de la vie et, pour cette raison, sont rangés parmi les roches biochimiques (Bouillard 2016).

Encadré 6 - Calcaire et climat

La séquestration du CO₂ dans la roche calcaire est plus durable que celle dans la matière végétale produite par photosynthèse. En effet, après la mort de la plante, le CO₂ est restitué plus ou moins rapidement à l'atmosphère, selon la vitesse de dégradation de la matière organique par les décomposeurs (bactéries, champignons) et les consommateurs (animaux et homme). La formation du calcaire joue donc un rôle majeur dans la régulation climatique.

Mais l'acidification du milieu perturbe le développement normal de la plante et la formation normale des exosquelettes (Birkeland 2015, Muller-Parker et al. 2015) ou celle des coccolithes calcaires et ce faisant menace la survie de nombreux organismes vivants et met en danger la stabilité climatique. La dégradation du milieu constitue une menace pour la plante, pour sa physiologie, notamment pour sa fonction générative et corrélativement pour la qualité et le rendement des cultures.

Le calcium actif chez la plante

Le calcium est un macronutriment* essentiel impliqué dans la stabilisation de la membrane et la consolidation de la paroi. C'est aussi un élément ubiquitaire impliqué comme second messenger* dans de nombreux phénomènes de signalisation (signature calcique), bien que son stockage dans les tissus et les cellules soit hétérogène (Gilliham et al. 2011).

L'homéostasie calcique : régulation de la concentration cellulaire en calcium

Apports d'eau et de calcium à la plante

Le transport de l'eau et des solutés vers les tissus se fait principalement par les voies apoplasmique et symplasmique*. Le transport à longue distance du calcium et de l'eau à travers les tissus de la plante suit principalement la voie apoplasmique. Ceci signifie que la fourniture du calcium aux tissus est étroitement reliée à la transpiration*. Le calcium (Ca⁺⁺) contribue à la régulation de ce flux d'eau à travers la plante par ses effets sur la structure de la paroi (apoplasme), par son influence sur la conductance stomatique (ouverture / fermeture des stomates) et par ses effets dans le cytosol ([Ca⁺⁺]_{cyto}) sur le fonctionnement des aquaporines*(AQPs) et des canaux calciques (symplasme) (Dayod et al. 2010, Gilliham et al. 2011, Atkinson 2014, Bothe 2015).

Plusieurs dispositifs restreignent les mouvements du calcium, comme la bande de Caspary au niveau de l'endoderme* des racines ou les dispositifs anioniques de l'apoplasme cellulaire permettant la fixation du calcium (voir ci-dessus) (Dayod et al. 2010, Gilliham et al. 2011, Atkinson 2014, Bothe 2015). En outre, certaines plantes des sols calcaires sont capables d'excréter sur les marges foliaires, sur les limbes ou les trichomes* de leurs feuilles, le calcium absorbé en excès sous forme d'oxalate (Dayod et al. 2010) ou de carbonate de calcium (*Saxifraga paniculata*, *Saxifraga caesia*, Saxifragaceae ; fig. 9 ; Bothe 2015, Thomas et al. 2016).



Figure 9. Dépôts blancs de carbonate de calcium sur les marges foliaires de *Saxifraga paniculata* (Saxifragaceae).

Concentration du calcium dans le cytosol

En général, la concentration en calcium libre (Ca^{++}) du cytosol* de la cellule au repos est voisine de $0,1 \mu\text{M}$ (micromole/L). Cette concentration est fonction de nombreux facteurs, dont ceux caractéristiques du milieu (pH du sol, disponibilité en calcium) et ceux caractéristiques de l'espèce, génétiquement déterminés. Le calcium libre en excès dans le cytoplasme cellulaire perturbe le transport d'énergie en précipitant les phosphates ; il perturbe aussi le métabolisme des protéines phosphorylées ainsi que les processus de signalisation calcique. Le calcium en excès entre en compétition avec le magnésium des sites actifs* enzymatiques, ce qui peut altérer les fonctions correspondantes. A cela s'ajoute que lors des événements de signalisation calcique (voir ci-dessous), la concentration en calcium peut transitoirement dépasser $1 \mu\text{M}$. C'est pourquoi elle fait l'objet d'une régulation très stricte pour éviter les incidences négatives sur la croissance et ses effets toxiques sur la cellule (Franceschi & Nakata 2005, Dayod et al. 2010, Bauer et al. 2011, Gilliam et al. 2011, Stephens 2012, Atkinson 2014, He et al. 2014).

Aperçu sur la régulation de la concentration calcique du cytosol

Au niveau cytoplasmique, l'excès de calcium est éliminé activement du milieu sous forme de dérivés calciques insolubles, le plus souvent cristallisés, inactifs du point de vue osmotique et physiologique, parmi lesquels l'oxalate de calcium est le plus important. Le carbonate et d'autres sels insolubles de calcium (sulfate chez *Acacia* sp.) contribuent aussi à cette régulation (voir ci-dessus biominéralisations et fig. 8). La capacité de régulation de chaque idioblaste est limitée ; la densité de ces cellules spécialisées augmente avec celle de la teneur en calcium du milieu de culture. Le calcium est également stocké dans les organelles de la cellule (mitochondries, réticulum endoplasmique) où il est fortement lié à des protéines de haute affinité. Dans l'apoplasme et la vacuole, le calcium est présent à des concentrations millimolaires, c'est-à-dire des teneurs de plusieurs ordres de grandeur supérieures à celles du cytoplasme au repos (Tuteja & Mahajan 2007, Bauer et al. 2011, Gilliam et al. 2011, Franceschi & Nakata 2005, He et al. 2014, Pinto & Ferreira 2015).

Flux d'eau et oscillation du calcium cytoplasmique

Lorsque la concentration en calcium dans le cytosol baisse suffisamment, les aquaporines (AQPs) et les canaux calciques sont activés permettant l'entrée de l'eau et du calcium dans le cytoplasme. Mais les flux d'eau et de calcium sont séparés : l'eau passe par les AQPs et se répand de cellule en cellule par la voie symplasmique (conductivité hydraulique*), tandis que le calcium passe par les canaux calciques ; l'augmentation de sa teneur dans le cytosol est également alimentée à partir des stocks cellulaires de calcium ainsi que ceux de la vacuole.

La teneur en calcium du cytosol qui résulte de ces flux devient telle qu'elle provoque la fermeture des aquaporines (AQPs) et inactive les canaux calciques en même temps que les transporteurs (antiports* $\text{Ca}^{++}/\text{H}^{+}$) et pompes à calcium (Ca-ATPases) des membranes cytoplasmiques et de la vacuole (tonoplaste) assurent son efflux vers l'apoplasme et la vacuole dans laquelle il est stocké sous forme d'oxalate (CaOx). L'eau et le calcium, ne pouvant plus rentrer dans la cellule, s'accumulent dans l'apoplasme. Il s'ensuit une nouvelle baisse de la concentration en calcium du cytosol et le cycle recommence. La concentration en calcium du cytosol est par conséquent **oscillante** (Tuteja & Mahajan 2007, Gilliam et al. 2011, Bothe 2015).

Conclusion

La teneur en calcium d'une plante est corrélée avec l'importance des échanges ioniques, la capacité des racines à mobiliser le calcium du sol, le flux de sève ascendante, autrement dit la transpiration et la capacité à séquestrer le calcium dans des compartiments particuliers. Les mouvements du calcium sont liés à ceux de l'eau, non seulement au niveau cellulaire, mais aussi au niveau de la plante entière par l'influence qu'il exerce sur la conductance stomatique et la transpiration* qui en dépend.

Les carences en calcium

Lorsque le calcaire est faiblement présent dans le sol, les plantes ont tendance à produire des tiges grêles ou sinueuses à la manière des plantes grimpantes ; leurs fleurs s'ouvrent, mais restent stériles et ne fournissent guère de substances nutritives (graines). En revanche, lorsque le « calcaire » est actif dans le sol, la floraison est abondante et diversifiée (Steiner 10-6-1924-GA 327).

Quand la carence calcique existe, elle diminue le taux de germination des graines, ralentit la croissance des plantules et diminue la productivité des plantes herbacées et des arbres, réduit la teneur en chlorophylle des feuilles, réduit les activités photosynthétiques et antioxydantes. La carence en calcium perturbe le développement et la résistance de la paroi, fragilise la membrane et l'intégrité cellulaire ; les apex racinaires, foliaires et les fleurs se nécrosent, les fruits ramollissent et pourrissent (pourriture apicale). Le déficit calcique induit le dépérissement ; la résistance au froid des aiguilles de conifères diminue. Il perturbe la signalisation calcique qui régit de nombreux phénomènes cellulaires essentiels. La carence en calcium affaiblit la tolérance des plantes aux stress biotiques* et abiotiques* et amoindrit la qualité des plantes et le rendement des cultures (Driscoll et al. 2001, Ricles & Miller 2005, Tuteja & Nahajan 2007, Dayod et al. 2010, Liu et al. 2011, Atkinson 2014, He et al. 2014, Du et al. 2017).

En cas de carence calcique ou de besoins accrus, du calcium peut être libéré préférentiellement de l'apoplasme, mais aussi de la vacuole ou des organelles de la cellule où il est stocké. Dans la vacuole, les cristaux déjà formés se réduisent ou disparaissent en libérant le calcium nécessaire, sous l'effet d'une activité enzymatique ; celle-ci est absente de la vacuole lorsque l'alimentation calcique est satisfaisante (Franceschi & Nakata 2005, Tuteja & Nahajan 2007, Bauer et al. 2011).

Les origines et les mécanismes de constitution de la carence calcique sont très divers et peuvent se rapporter schématiquement à des causes physiologiques ou environnementales (encadrés 7 à 9) (Hopkins 2003, Dayod et al. 2010, Bauer et al. 2011, Bothe 2015, Pinto & Ferreira 2015). Il est à noter que la teneur tissulaire excessive en CaOx des plantes peut également conduire au ralentissement de leur croissance, à la diminution de leur productivité voir à la nécrose foliaire (voir ci-dessous ; Bothe 2015).

Encadré 7. Causes physiologiques de la carence calcique

Les tissus les plus sensibles à une carence calcique sont ceux à faible flux de transpiration, alimentés principalement par la sève élaborée, comme les fruits. La sévérité des carences est corrélée avec la faiblesse de la transpiration dans les organes correspondants : c'est moins la teneur en calcium du sol que son transport qui est responsable des symptômes de carence.

Les transporteurs du calcium sont plus ou moins spécifiques, ce qui rend possible l'absorption racinaire d'éléments physiologiques ou toxiques ayant des caractéristiques similaires à celle du calcium. Des compétitions peuvent en résulter, défavorables à l'absorption du calcium au profit d'autres éléments, générant éventuellement des carences ou des effets toxiques.

La carence calcique peut être induite par la surexpression des transporteurs de la membrane vacuolaire (tonoplaste) : de ce fait davantage de calcium actif est soustrait du cytosol par sa précipitation accrue dans la vacuole, sous forme d'oxalate insoluble.

L'augmentation de la teneur en CO₂ de l'atmosphère, la sécheresse ainsi que l'augmentation de la salinité réduisent la conductance stomatique, ce qui a pour conséquence la diminution de la transpiration et de la concentration tissulaire du calcium. Cet effet est fonction de l'espèce, des cultivars et de l'organe des plantes. Par exemple, chez les feuilles et les grains du blé, on observe une diminution de la teneur en calcium de 7,5 % et de 15 % respectivement lorsque la teneur atmosphérique en CO₂ est doublée. Par conséquent, les changements climatiques, liés à l'augmentation de la teneur atmosphérique en CO₂, pourront avoir une incidence négative sur les phénomènes de transpiration et sur l'alimentation en calcium des plantes et corrélativement sur leur santé et la qualité des récoltes (Tuteja & Nahajan 2007, Dayod et al. 2010, He et al. 2014).

Encadré 8. Causes environnementales des carences calciques

L'acidité (H⁺) induite par des acides forts, lorsqu'elle est importante, déplace les cations* basiques (Ca, Mg et K) de leur combinaison avec les micelles des complexes argilo-humiques (encadré 2, réactions 4a et 4b). Le lessivage par l'eau entraîne ces éléments hors du sol : ces cations sont donc perdus pour l'écosystème, les plantes et les arbres. Le calcium est l'élément le plus sensible à l'effet de l'acidité : c'est le premier élément à être perdu. Les effets biologiques de cette perte sont observables dès que les capacités tampons du sol et les apports (érosion de la roche-mère, apports atmosphériques) sont dépassés (encadré 9).

A cela s'ajoute que lorsque la neutralisation par des bases est diminuée, les acides organiques ont tendance à mobiliser l'aluminium et à former des complexes déposés dans les horizons inférieurs du sol, dans lesquels l'aluminium est peu soluble. Lorsque l'acidification par des acides forts est sévère, l'aluminium est mobilisé à partir de ces complexes organiques ce qui conduit à intoxiquer la plante et à interférer dans l'absorption des cations basiques, notamment du calcium. Il en est de même du manganèse.

L'acidification du sol induit le déclin des espèces calcicoles au profit d'espèces généralistes ou calcifuges (acidiphiles), qui éventuellement y sont indifférentes et deviennent fortement compétitives. Les effets négatifs des pluies acides sur les plantes sensibles peuvent être corrigés par l'apport de calcaire (Driscoll et al. 2001, Ricles & Miller 2005, Liu et al. 2011, Perakis & Sinkhorn 2011, Bahr et al. 2012, Perakis et al. 2013, Bothe 2015, Du et al. 2017).

Encadré 9 – Acidification du sol

L'acidité du sol est générée par l'activité biologique des sols et par la respiration des organes souterrains des plantes (cf. ci-dessus) mais aussi par les pluies acides ou par les produits acides résultant de la dégradation des dérivés azotés minéraux excédentaires par rapport aux besoins des plantes (voir ci-dessous).

Les pluies acides apportent des acides nitriques et sulfuriques (acides forts), formés au contact des oxydes volatiles d'azote et de soufre avec la vapeur d'eau. Ces oxydes sont **d'origine naturelle** (orages, incendies) mais sont générés surtout par les **activités humaines**, agricoles et industrielles (oxydes d'azote volatiles par réduction des nitrates des engrais azotés, oxydes d'azote et de soufre produits par des combustions de toutes sortes et par certaines installations électriques). Elles sont responsables de l'acidification de l'eau de pluie, des rivières, des lacs et du sol.

L'apport d'azote aux cultures est assuré par la fixation biologique (voir ci-dessous), la fumure, notamment la fumure chimique et par la pollution (NO_x). L'augmentation modérée de la teneur en azote du sol stimule la croissance et l'absorption du calcium.

Lorsque cette teneur dépasse les besoins des plantes, c'est-à-dire lorsque l'azote s'accumule dans le sol, la croissance est également stimulée, mais corrélativement la demande en calcium augmente. Cette accumulation favorise la mise en réserve de N et de P dans la matière organique du sol, mais en même temps favorise l'affaiblissement des réserves en cations alcalins (Ca, Mg, K). La perte principalement de calcium (mais aussi de Mg et de K) est due à l'importance des processus de nitrification et d'acidification subséquente (jusqu'à des pH de l'eau du sol voisin de 4), ce qui entraîne son élimination par lessivage (eaux de pluie). Ces pertes sont facilitées par l'exposition des stations aux pluies acides et par les pratiques forestières comme la récolte du bois. La carence calcique se constitue, malgré le recyclage du calcium des oxalates de la litière ou de ceux produits par les racines et les champignons du sol. Alors que P et K sont facilement résorbés à partir du feuillage sénescents et redistribués dans la plante pour satisfaire aux demandes, le recyclage du Mg est plus faible et celui du Ca est minimal. Il en résulte que le calcium devient l'élément limitant de la croissance et non le phosphore (Perakis et al. 2006, Perakis & Sinkhorn 2011, Bahr et al. 2012, Perakis et al. 2013).

Rôles biologiques du « calcaire »

Résistance au stress biotique

Les effets dissuasifs sur les herbivores ou sur les insectes perceurs d'écorce résultent des propriétés physiques des cristaux de CaOx, accumulés dans les cellules matures. De grands cristaux (raphides et styloïdes) dissuadent les grands herbivores ; les insectes ou leurs larves (chenilles) le sont par l'effet abrasif sur les mandibules de petits cristaux prismatiques (cf. noctuelle exigüe, *Sporoptera exigua* ; Nakata 2015). L'accumulation de CaOx est constitutive (conifères, lis du Neguev, etc.) ou inductible par le broutage (*Sida rhombifolia*, Malvaceae tropicale) (encadré 10) (He et al. 2014).

L'apport correct de calcaire renforce la résistance des plantes aux maladies parasitaires, probablement en renforçant la paroi cellulaire ou en renforçant d'autres systèmes de défense encore inconnus. Cet effet bénéfique n'est pas constaté chez les plantes acidiphiles (calcifuges) (Dayod et al. 2010). C'est pourquoi on envisage de modifier par transgénèse des plantes de grande culture (maïs, canola) de telle sorte qu'elles accumulent davantage d'oxalate de calcium (CaOx) et deviennent ainsi plus résistantes vis-à-vis des herbivores. L'enrichissement en CaOx a pu être obtenu en laboratoire avec différentes plantes, parmi lesquelles l'arabette des dames (*Arabidopsis thaliana*, Brassicaceae) (voir ci-dessous « le calcium consolide la paroi cellulaire » ; Nakata 2015).

Certaines plantes accumulent des substances toxiques dans les mêmes cellules que celles contenant les raphides ou les styloïdes d'oxalate de calcium ; ces derniers facilitent l'écoulement des toxiques lors du contact avec l'herbivore. A titre d'exemple, on peut citer une Euphorbiaceae mexicaine, *Tragia ramosa*, pourvue de nombreux poils urticants

contenant des styloïdes de CaOx ; au contact avec l'animal la pointe du poil se rompt, les cristaux peuvent percer la peau des brouteurs et faciliter l'écoulement, le long d'une rainure du cristal, d'une toxine urticante de la base du poil vers les tissus de l'herbivore (Stephens 2012 ; Nakata 2015).

Chez l'homme, la consommation de certaines Araceae peut occasionner dans la bouche et le pharynx des œdèmes accompagnés de brûlure et de dysphagie ; ces troubles sont rapportés aux raphides de CaOx qu'elles contiennent (Nakata 2015). On observe également des dermatites de contact chez les horticulteurs qui manipulent des jonquilles (*Narcissus jonquilla* ou *N. pseudonarcissus*, Amaryllidaceae) ou des agaves (*Agave* sp. Asparagaceae) ; elles sont attribuées aux cristaux de CaOx et à d'autres substances toxiques que contiennent ces plantes (Nakata 2015).

Résistance aux stress abiotique

Comme la silice (SiO₂), l'oxalate de calcium (CaOx) et le carbonate de calcium (CaCO₃) peuvent atténuer la toxicité de l'aluminium et des métaux lourds par co-précipitation ou co-cristallisation (He et al. 2014). Ceci a été observé pour de nombreuses espèces de grande culture. Mais pour d'autres plantes, le phénomène est variable selon l'espèce et le métal considérés¹⁶ (Faheed et al. 2012).

L'accumulation vacuolaire de l'oxalate de calcium et la co-précipitation d'oxalate de calcium et d'éléments toxiques ont lieu dans des tissus éloignés de ceux réalisant la photosynthèse ; les outils photosynthétiques sont donc préservés de leur influence toxique. En dehors des idioblastes, les principales cellules tolérantes concernées par ces dépôts sont celles de l'épiderme et des gaines vasculaires. Lorsque le niveau toxique est important et que les possibilités d'isolement dans les territoires tolérants sont épuisées, la photosynthèse est menacée (Pinto & Ferreira 2015).

Encadré 10 – « Calcaire » et résistance au stress biotique

On observe une diminution de la concentration en calcium libre (Ca⁺⁺) et en acide oxalique (Ox) chez des mutants d'une espèce de luzerne (*Medicago truncatula*, Fabaceae), qui forment peu ou pas de cristaux, ou des cristaux de forme et de taille anormales. Ces plantes sont sensibles aux attaques d'insectes broyeur et de leurs larves. On constate que les feuilles du lis du Néguev (*Pancratium sickenbergeri*, Amaryllidaceae) sont d'autant plus broutées par la gazelle dorcas que leur teneur en CaOx est faible, ce qui est le cas des jeunes pousses (He et al. 2014).

Certains conifères l'accumulation de l'oxalate de calcium dans leur phloème secondaire, les protège des insectes perceurs d'écorce. En revanche le chancre du mélèze (*Larix decidua*, Pinaceae) est aggravé sur les sols crayeux [Salsbury 1920].

L'amendement par du calcaire de sols acides empêche ou réduit la sévérité de maladies, comme l'hernie du chou ou l'hétérosporiose de l'Iris (Salsbury 1920, Dayod 2010).

Utilisation de la lumière

Les biominéralisations calciques des feuilles de diverses espèces de pépéromie (*Peperomia* sp., Piperaceae), des plantes tropicales de milieux ombragés, ont un rôle particulier dans la captation de la lumière. Curieusement, le tissu palissadique* de leurs

¹⁶ La betterave (*Beta vulgaris*, Amaranthaceae), le soja (*Glycine canescens*, Fabaceae), les haricots (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) et la tomate (*Solanum lycopersicon*, Solanaceae) sont des plantes où la co-cristallisation avec le CaOx foliaire a été observée (He et al. 2014). En revanche des Malvaceae, (la corète potagère, *Corchorus olitorius* et la mauve à petites fleurs, *Malva parviflora*), cultivées dans un milieu hydroponique additionné de métaux lourds, ne les incorporent pas dans leurs cristaux de CaOx (Faheed et al. 2012).

feuilles est plus riche en CaOx que les idioblastes des épidermes où il s'accumule habituellement. La vacuole de chaque cellule du tissu palissadique contient une druse de CaOx dont le rôle n'est pas de réguler la concentration en calcium (fig. 10).

Chez *Peperomia glabella* on observe que la taille et la position de la druse dans les cellules palissadiques est influencée par l'intensité lumineuse.

- Lorsque la lumière est intense, les druses sont situées à la partie supérieure des cellules palissadiques et leur taille diminue ; dans cette position, elles dissipent et refoulent l'excès de lumière par réflexion. Ce faisant les cristaux de CaOx protègent les chloroplastes adaptés à l'ombre, des dommages causés par l'excès de lumière.
- Lorsque l'intensité lumineuse est faible, les druses sont placées dans la moitié inférieure de la cellule palissadique, favorisant la distribution et l'utilisation optimale de la lumière parvenue aux feuilles en faible quantité.

Chez d'autres espèces de plantes comme le figuier à petits fruits (*Ficus microcarpa*, Moraceae) qui comportent des minéralisations de carbonate et d'oxalate de calcium, l'indice de réfraction des cystolithes (CaCO_3) et des druses (CaOx) des cellules foliaires est significativement plus élevé que celui des cellules avoisinantes. Les cystolithes et les druses sont donc capables de disperser la lumière et ce faisant permettent l'utilisation satisfaisante de la lumière incidente.

Ces observations limitées indiquent que les biominéraux calciques, notamment le CaOx, peuvent être impliqués dans les processus photosynthétiques des plantes terrestres. La question est de savoir si cette propriété est générale et fonctionnellement importante (He et al. 2014).

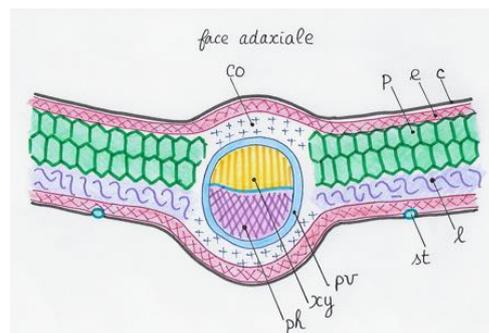


Figure 10. Représentation schématique des tissus du limbe foliaires (coupe transversale).

c : cuticule ; co : collenchyme ; e : épiderme ; l : tissu lacuneux ; p : parenchyme palissadique ; ph : phloème ; pv : gaine périvasculaire ; st : stomate ; xy : xylème

Rôles biologiques du calcium actif

Le calcium consolide la paroi cellulaire

La matrice extracellulaire (MEC) est le constituant majeur de l'apoplasme pariétal. Il s'agit d'une structure poreuse dont les composants sont sécrétés par la cellule adjacente. Sa composition structurale change en fonction du territoire de la plante et de son âge ; elle influence les échanges de liquides et de gaz avec la cellule, mais aussi la mobilité des solutés et leur fixation. La matrice de la paroi primaire est constituée de protéines (peroxydases, pectine-estérase, extensines ou hydroxyproline-rich-glyco-proteins¹⁷) et de 3 classes d'une large gamme de glycanes* interconnectés. On y trouve différentes pectines hydrophiles, des

¹⁷ Remarque : la richesse du collagène humain en proline et hydroxyproline (21 %) est caractéristique de son rôle structurel (Murray et al. 2013).

arabinanes, des homogalacturonane (HGA), des rhamnogalacturonane (RG)¹⁸. Ces pectines constituent un gel dans lequel baignent des microfibrilles de cellulose (β (1,4)-glucane) et des « filins » d'hémicelluloses (xyloglucane, arabinoxyane, mannanes).

Les homogalacturonanes sont produits par la cellule sous forme apolaire d'esters méthylés et acétylés ; dans la paroi ils subiront une dé-estérification progressive par une pectine-méthyl-estérase ou une pectine acétyl-estérase ; la conséquence en est la mise au jour des fonctions carboxyliques des résidus uroniques* qui pourront fixer le calcium de l'espace apoplasmique. Le calcium se comporte comme un agent de réticulation entre les groupements adjacents des chaînes d'homogalacturonanes : la matrice devient un gel rigide (fig. 11).

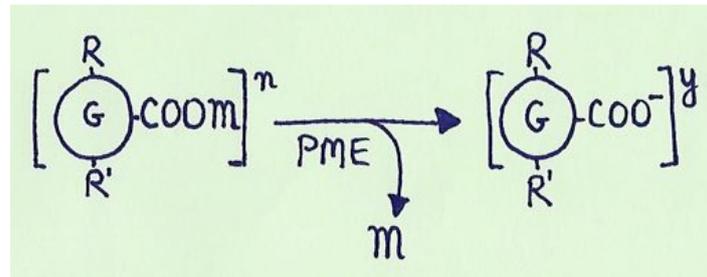


Figure 11. Représentation schématique de la réaction de dé-estérification de l'homogalacturonane. G : résidu d'acide galacturonique ; PME : pectine-méthyle-estérase ; M : groupement méthyle ou acétyle ; y peut être différent de n selon le nombre de fonctions ester hydrolysées.

Les parois de cellules jeunes sont minces, pauvres en calcium et contiennent des pectines dé-estérifiées en proportion faible, ce qui explique qu'elles soient plus ou moins solubles, poreuses, élastiques et susceptibles d'allongement permettant aux phénomènes de croissance de se dérouler dans de bonnes conditions¹⁹. En revanche, en vieillissant, la matrice extracellulaire accumule le calcium sur ses pectines dé-estérifiées devenues plus abondantes : la paroi devient épaisse, dure et rigide, elle perd son élasticité, sa porosité et sa capacité à s'allonger²⁰. Il s'est constitué une sorte de squelette autour de la cellule (Dayod et al. 2010, Gilliham et al. 2011, Meyer et al. 2013).

La structure de la matrice extracellulaire induite par le Ca^{++} conditionnent les modalités de transport de l'eau et du calcium ainsi que le stockage de cet élément dans les tissus de la plante. Des changements de cette structure surviennent non seulement au cours de la croissance, mais encore en réponse à des stress (déshydratation, salinité, froid) (Gilliham et al. 2011). Les effets des stress comme ceux de la salinité (NaCl) sont plus nets en cas de carence calcique. Le sodium peut se lier à la pectine, mais est incapable d'en produire la réticulation. Le calcium disponible en quantité suffisante permet une certaine tolérance au sel : en effet, il ralentit l'entrée du sodium (Na^+) et entre en compétition avec lui pour les

¹⁸ La teneur en pectine des céréales est plus faible que chez de nombreuses Dicotylédones : la capacité d'échange cationique (CEC) et la teneur en calcium des tissus sont plus faibles, mais les graminées sont riches en silice (Gilliham et al. 2011).

¹⁹ Il est à remarquer que les dépôts apoplasmiques de calcium empêchent l'élongation des cellules et corrélativement entravent la croissance. On constate que pendant les périodes de croissance, les dépôts se produisent préférentiellement dans les idioblastes et non dans l'apoplasme, permettant ainsi un développement normal (Franceschi & Nakata 2005).

²⁰ Il est à noter que l'augmentation expérimentale de la concentration en calcium dans l'apoplasme favorise l'activité de la pectine-méthyl-estérase, l'augmentation de la teneur en calcium de la paroi, son épaissement et la diminution de son extensibilité. Inversement, l'abaissement expérimental de la concentration en calcium dans l'apoplasme, diminue l'activité de la pectine-méthyl-estérase et la proportion de HGA non-méthylé, diminue l'épaisseur de la paroi, mais augmente son extensibilité (Dayod et al. 2010).

résidus acides des pectines de la paroi. Ceci permet de comprendre que l'apport satisfaisant de calcium puisse contribuer à corriger l'affaiblissement de la paroi dû à l'excès de sel (Dayod et al. 2010).

Calcium et fruit

Principalement au début de la phase de maturation, le fruit en formation est alimenté en calcium par le flux de la sève élaborée, lequel est corrélé à celui de la sève ascendante (voir plus haut). Le ramollissement du fruit à maturité est expliqué par la réduction de la turgescence des cellules du mésocarpe* et par l'affaiblissement des parois cellulaires conséquence de la carence calcique locale et résultat de la diminution du flux de sève. Cette explication semble renforcée par le fait que 1) l'application externe de calcium augmente la durée de conservation de certaines récoltes en retardant la maturation et le ramollissement des fruits, 2) la modification par transgénèse de différentes plantes cultivées permet d'augmenter la teneur en calcium de leur tissus, racines, tubercules ou fruits. La durée de conservation de ces derniers peut être notablement prolongée. On explique ces phénomènes par le renforcement de la paroi primaire et de la lamelle médiane*, par la diminution de la transpiration, des phénomènes respiratoires et de la production d'éthylène et au niveau du fruit. Ces méthodes ont l'inconvénient de réduire la croissance, de ralentir la fructification, de réduire la fertilité et dans certains cas de produire des nécroses foliaires (Dayod et al. 2010).

La signalisation calcique

Le calcium est l'un des seconds messagers très fréquemment impliqués dans les phénomènes de signalisation cellulaire. On parle de la signalisation calcique ou de la signature calcique, qui est observée partout dans le monde vivant. Elle est constituée par l'augmentation transitoire de la concentration en calcium du cytosol, qui se produit sous forme de **pics, d'ondes ou d'oscillations**, caractérisées par leur **amplitude**, leur **fréquence** et leur **cinétique de propagation** : ces oscillations déterminent la spécificité de la réponse à des stimuli de toutes sortes qui se lient aux récepteurs membranaires. La signature calcique varie en fonction du type cellulaire ou tissulaire ; sa caractéristique est d'être furtive et éphémère, ce qui rend difficile l'étude des mécanismes à l'œuvre.

Chez les plantes on connaît un dispositif voisin de celui de la protéine G des mammifères (encadré 11). Il est constitué de récepteurs transmembranaires spécifiques et de protéines solubles dans le cytosol appartenant à la grande famille dite des **petites GTPases** à cause leurs petites dimensions. De cette famille font partie les **ROPs (Rho-like Of Plants)** (Craddock et al. 2012, Himschoot et al. 2015). Ces ROPs se trouvent dans le cytosol sous forme inactive ; elles deviennent actives lorsqu'elles sont liées à la membrane plasmique et initient alors la cascade d'évènements biochimiques correspondants. Chaque étape de la genèse des évènements initiés par un éliciteur, via le récepteur et les GTPases actives, est régie par des promoteurs ou des inhibiteurs ou encore des systèmes de rétrocontrôle. Le calcium joue le rôle de coordonnateur des évènements.

Des effecteurs biochimiques et cellulaires très divers sont mis à contribution dans les phénomènes de signalisation calcique, comme les tensions membranaires, la réorganisation dynamique du cytosquelette (actine et microtubules), les espèces oxygénées réactives, les oxydes d'azote et les phénomènes de régulation des entrées (influx) et des sorties (efflux de calcium) (encadré 12 ; fig. 12 et 17) (Himschoot et al. 2015, Zhu 2016).

Encadré 11. Le système récepteur-protéine G

Un des dispositifs biochimiques dont se sert la signalisation cellulaire chez les animaux et chez l'homme, est celui des **récepteurs transmembranaires** couplés au système de la **protéine G** qui lui est attachée (G comme guanosine triphosphatase = GTPases), dont l'activation conduit à la séquence « **perception, transduction, réponse** ». Ces récepteurs constituent la famille la plus importante de récepteurs transmembranaires chez les mammifères. Chez l'Homme on a pu identifier plusieurs centaines de récepteurs spécifiques de ligands* exogènes (olfactifs ou gustatifs, virus) et endogènes (hormones ou neurotransmetteurs). Alfred Gilman et Martin Rodbell, des biochimistes américains, ont reçu le prix Nobel de physiologie et de médecine en 1994 pour leur découverte²¹.

Lorsqu'elles sont actives, les GTPases assurent 2 fonctions :

- celle d'initier la transduction du signal grâce à une cascade d'évènements biochimiques, éventuellement très localisés dans un territoire de la cellule, où le calcium apparaît comme un élément crucial de coordonnateur des phénomènes et
 - celle de dégrader le GTP (guanosine triphosphate) qu'elles ont dû préalablement fixer pour devenir actives.
- Les GTPases fonctionnent par conséquent comme des interrupteurs biochimiques : leur activation est rapidement suivie de leur inactivation. **Les cascades de signalisation sont de ce fait des phénomènes oscillants.**

Le calcium ne transmet pas directement d'information structurelle. Le signal calcique doit être détecté, décodé et communiqué à des effecteurs de la réponse cellulaire. Ceci est réalisé par un ensemble complexe de protéines fixant le calcium, les unes à activité enzymatique (*calcium dependant protein kinase* : CDPK), les autres sans activité enzymatique, comme la calmoduline et des protéines apparentées. Elles sont impliquées, seules ou combinées entre elles, dans des cascades d'évènements biochimiques et produisent leurs effets sur leurs cibles, soit directement, soit par le détour du noyau et de l'activation ou de l'inhibition de gènes. La transduction du signal nécessite la coordination temporelle et spatiale de tous les acteurs du processus de signalisation (Tuteja & Mahajan 2007, McAinsh & Pittman 2009, Bauer et al. 2011, Mazars et al. 2011, Craddock 2012, Himschoot et al 2015, Zhu 2016).

Une seconde exposition de la plante à un éliciteur ne modifie plus la concentration cytosolique du calcium pendant un certain temps (parfois plusieurs heures) après une stimulation initiale. La signature calcique est modifiée par une première expérience : par ses effets, un premier éliciteur antagoniste d'un second rend ce dernier inefficace. Ceci implique une sorte de dialogue entre les cascades de signalisation et une capacité de mémorisation de la plante (Tuteja & Mahajan 2007, Suty 2015a, Suty 2015b).

Chez la plante, la signalisation calcique est impliquée dans de **nombreux aspects** de son **développement** et de sa **physiologie**, comme la division et la morphogenèse cellulaires, la croissance polarisée (cf. tube pollinique, poil absorbant) ou les mouvements stomatiques. Les processus de signalisation calcique sont déclenchés en réponse à des stimuli physiologiques (lumière, concentration en CO₂, phytohormones, contact), à des éliciteurs* pathogènes ou encore à des stress abiotiques (salinité, chaleur, froid, sécheresse).

²¹ Selon Steiner (Steiner GA 93a 4-10-1905, Steiner GA 156-13-12-1914, Simonis 1975), l'homme possède dispersés dans chaque organe du corps des organes de perception du goût. Le dysfonctionnement ou l'altération de ceux d'un organe explique la survenue de pathologies correspondantes. Une diététique appropriée et l'utilisation de plantes médicinales spécifiques permettront de rétablir cette faculté et corrélativement le fonctionnement normal de l'organe. Aujourd'hui cette notion s'applique non seulement aux récepteurs du goût, mais aussi à ceux de l'olfaction, dispersés dans les organes (Augereau 2008).

Encadré 12. Courants coordonnés d'influx et d'efflux de calcium

Les phénomènes de signalisation calcique sont la conséquence de courants contraires, mais coordonnés d'influx de Ca^{2+} à travers des canaux calciques, plutôt passifs, et d'efflux grâce à des pompes et des transporteurs. L'influx de calcium dans le cytosol se produit à partir de l'apoplasme, à travers la membrane plasmique ou à partir des organelles intracellulaires (vacuole, mitochondries, chloroplastes, système réticulo-endoplasmique). L'élimination du calcium du cytosol (efflux) se produit en sens inverse grâce à 2 groupes de protéines essentielles, les calcium-ATPases (dépense d'énergie) et des antiports du type $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$. Les Ca-ATPases sont caractérisées par leurs hautes affinité et spécificité pour le calcium. Les antiports ont une faible affinité pour le calcium ; ils sont capables de débarrasser rapidement le Ca^{2+} du milieu, mais aussi de transporter d'autres métaux. Le contrôle des mécanismes d'influx et d'efflux est essentiel pour former et moduler la signature calcique et pour contenir la concentration du Ca^{2+} dans des limites compatibles avec la vie de la cellule, entre **concentration calcique de base** et **concentration toxique**, voire **létale** pour la cellule.

Ces signalisations calciques concernent aussi les dialogues biochimiques entre la plante et certaines bactéries fixatrices d'azote atmosphérique.

Comme exemples de signalisation calcique, ne sont envisagés ici que les mouvements stomatiques, la croissance du tube pollinique et les phénomènes de nodulation chez les Fabaceae (Franceschi & Nakata 2005, Tuteja & Mahajan 2007 Dayod et al. 2010, Bauer et al. 2011, Craddock et al. 2012, Charpentier & Oldroyd 2013, Himschoot et al. 2015, Study 2015a, Zhu 2015).

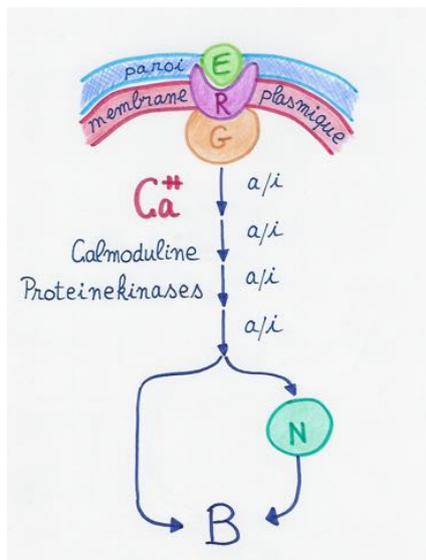


Figure 12. Schéma de la réception (R) et de la transduction d'un signal (E) conduisant à un effet biologique (B) directement ou par l'intermédiaire du noyau (N) où le calcium joue un rôle important de modulateur ; les événements de la séquence de transduction sont régulés par des activateurs (a) et des inhibiteurs (i).

Mouvements stomatiques

Les stomates sont les lieux d'échanges du gaz carbonique²², de la vapeur d'eau (transpiration) et de l'oxygène produit par la photolyse* de l'eau (fig. 13). La vapeur d'eau et l'oxygène utilisent le même trajet de diffusion que le CO_2 , mais en sens inverse, ce qui signifie que la plante ne peut absorber de CO_2 sans perte d'eau. On estime que 90 % du CO_2 et de l'eau échangés passent par les stomates et que 95 % de l'eau absorbée est évaporée²³. Le drainage par les feuilles de la sève brute est donc la voie la plus importante du flux d'eau du

²² Des gaz toxiques peuvent pénétrer dans la plante par les stomates.

²³ En été, un arbre perd 200 à 400 litres d'eau par jour cependant qu'une forêt d'un km^2 évapore 2500 m^3 d'eau.

sol vers l'atmosphère. Ceci souligne l'importance d'une régulation pour contrôler ces échanges.

La transpiration est principalement contrôlée par le gradient de potentiel hydrique (différence d'humidité entre l'intérieur et l'extérieur de la feuille) et par l'ouverture ou la fermeture des stomates, qui fonctionnent comme des valves hydrauliques. Ces mouvements sont influencés par de nombreux facteurs externes comme la teneur de l'air en CO₂, la teneur en calcium de la rhizosphère, la température, la lumière, l'obscurité et l'humidité ou des facteurs internes comme l'hydratation de la feuille, la teneur en CO₂ de la chambre sous-stomatique ou par l'acide abscissique* (ABA) (Hopkins 2003, Mansfield et al. 1990 Meyer et al. 2013).

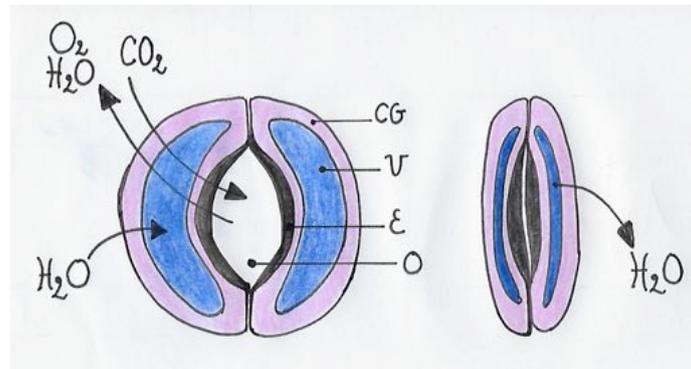


Figure 13. Schéma de stomate ouvert (à gauche) ou fermé (à droite). L'ouverture de l'ostiole est le résultat d'une entrée d'eau dans la vacuole des cellules de garde : elle est favorisée par la lumière bleue et par la faible teneur en CO₂ des tissus lacunaires de la feuille. La fermeture de l'ostiole résulte de la sortie d'eau de la vacuole des cellules de garde ; elle est induite par l'obscurité et par le stress hydrique (d'après Meyer et al. 2013). CG : cellule de garde ; E : épaissement de la paroi de la cellule de garde ; O : ostiole.

Chez les plantes à métabolisme en C₃, les signaux de lumière bleue perçus par le cryptochrome* et une faible teneur en CO₂ dans la chambre sous-stomatique favorisent l'ouverture matinale des stomates. En fin d'après-midi, l'horloge circadienne et l'obscurité induisent leur fermeture. L'ouverture des stomates permet l'absorption diurne du CO₂, tandis que leur fermeture la nuit permet de conserver l'eau. En cours de journée, la dimension de l'ostiole change constamment pour optimiser le rapport entre captation du CO₂ et perte en eau, en fonction des conditions instantanées du milieu (teneur en CO₂ du tissu lacunaire, humidité ou sécheresse, vent) (Mansfield et al. 1990, Hopkins 2003, Meyer et al. 2013).

L'ouverture des stomates résulte de la déformation asymétrique des **cellules de garde** provoquée par l'augmentation de leur turgescence. Celle-ci est initiée par des pompes à protons des membranes plasmique et vacuolaire, ce qui entraîne l'augmentation de la teneur de la vacuole en potassium, chlore, malate et saccharose ; le mouvement de ces électrolytes et de ces substances organiques s'accompagne d'un flux d'eau.

La fermeture des stomates est le résultat d'un efflux général d'ions, de saccharose et d'eau de la vacuole des cellules de garde. Ce processus peut être initié par la liaison de l'acide abscissique (ABA) avec son récepteur membranaire lors d'un stress hydrique (sécheresse). La transduction du signal implique l'entrée du **calcium (second messenger)** dans la cellule de garde et conduit à la sortie d'eau²⁴.

La teneur en calcium du cytosol doit être faible pour permettre l'ouverture du stomate ; en effet, le calcium à lui seul, lorsque sa concentration cytoplasmique est élevée, peut provoquer directement la fermeture stomatique en activant des protéine-kinases

²⁴ Des phénomènes de signalisation calcique semblables régissent d'autres mouvements comme ceux de veille et de sommeil des folioles de Fabaceae ou d'Oxalidaceae (nasties) (Hopkins 2003).

calcium dépendantes (Mansfield 1990, Hopkins 2003, Dayod et al. 2010, Meyer et al. 2013). On observe aussi que, la concentration en calcium du milieu de culture est directement corrélée, d'une part, avec le profil des oscillations (fréquence et amplitude) de la concentration cytoplasmique en calcium des cellules de garde et d'autre part, avec le degré d'ouverture des stomates (Mansfield 1990, McAinsh & Pittmann 2009, Dayod et al. 2010, Webb & Robertson 2011, Meyer et al. 2013).

Ce qui précède explique que l'**amendement calcique** induise la réduction de la **conductance stomatique** lorsque la concentration xylémique de calcium atteint un certain seuil, très variable selon les espèces. Ceci est observé chez le haricot (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae), dont la concentration en calcium de la sève xylémique augmente lorsque la disponibilité en calcium échangeable du milieu de culture est doublée. Mais dans les mêmes conditions de culture, la réduction de la conductance stomatique est également observée chez le petit pois (*Lathyrus oleraceus*, Fabaceae), alors que la concentration xylémique de calcium reste inchangée. Ceci signifie qu'une substance encore inconnue, autre que le calcium, est responsable de la diminution de la conductance stomatique chez le petit pois et pourrait l'être également chez d'autres plantes même si la concentration en calcium de leur sève xylémique est augmentée²⁵ (Atkinson 2014, Rothwell & Dodd 2014).

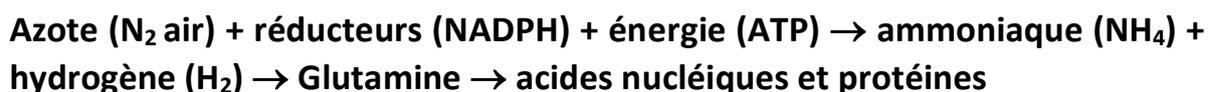
Calcium et fixation biologique de l'azote

Selon Steiner, d'étroites relations s'établissent entre l'azote de l'air et le « calcaire » du sol, résultant du fait qu'au moment de sa séparation de la terre, le soleil a laissé en héritage le « calcaire » et l'azote respectivement à la terre et à l'air. Ceci explique que le « calcaire » du sol manifeste un besoin d'azote, de la même manière que le poumon a besoin d'O₂ ; il est tributaire d'une sorte d'inspiration d'azote. Cette inspiration est réalisée par les Fabaceae ; ce phénomène est lié au cycle annuel du soleil (Steiner 11-6-1924-GA 327).

Aujourd'hui on sait que les associations symbiotiques* des nodosités racinaires entre certaines bactéries du sol (rhizobiums) et les racines de la plupart des Fabaceae ou d'un petit nombre de plantes d'autres familles permettent la fixation biologique de l'azote. La formation de ces nodosités résulte d'un véritable dialogue biochimique entre la plante et les rhizobiums et nécessite la mise à contribution de mécanismes de signalisation calciques dans les bactéries et dans les poils absorbants de la racine de la plante (encadré 13 ; fig. 14) (Charpentier & Oldroyd 2013, Meyer et al. 2013, Suty 2015b).

Les bactéries de ces nodosités assurent la transformation de l'azote atmosphérique en ammonium, la forme la plus réduite de l'azote, qui donne avec l'**α-cétoglutarate** du glutamate, un pivot métabolique essentiel pour la synthèse des dérivés azotés nécessaires à la vie des plantes (acides nucléiques, protéines). Leur nitrogénase, l'enzyme qui catalyse cette réduction, n'est active que si le milieu est pauvre en oxygène et dispose de beaucoup d'énergie (ATP) ainsi que de substances réductrices, à savoir des dérivés hydrogénés.

La réaction est schématiquement la suivante :



²⁵ L'**amendement calcaire** réduit la biomasse produite par différentes plantes ayant une préférence pour les sols calcaires comme le haricot (*Phaseolus vulgaris*), la coronille (*Securigera varia*) ou par des plantes indifférentes à la nature du sol comme le petit pois (*Lathyrus oleraceus*), la luzerne (*Medicago sativa*) ou le sorgho (*Sorghum sudanense*, Poaceae). La réduction de la biomasse résulte de la diminution significative de la conductance stomatique et des processus d'assimilation (Atkinson 2014).

ou du point de vue phénoménologique :

Azote (privation de vie) → ammonium (toxique pour la vie) → Glutamine → acides nucléiques et protéines (instruments de la vie)

Encadré 13 - La signalisation calcique dans la formation des nodosités racinaires de Fabaceae

La formation des nodosités n'est pas encore complètement élucidée. Elle débute par l'émission par la plante de signaux chimiques (parmi lesquels des flavonoïdes) qui exercent un chimiotactisme positif sur des rhizobiums du sol et se fixent sur des récepteurs bactériens spécifiques. Il s'ensuit l'activation de gènes portés par des plasmides* bactériens et la libération dans le milieu de facteurs de nodulation, des substances voisines de la chitine (lipochito-oligosaccharide). Ceux-ci sont reconnus par des récepteurs spécifiques de la membrane cellulaire du poil absorbant de la plante (luzerne par exemple). Cette fixation génère une cascade de signalisation calcique, la régulation coordonnée de nombreux gènes conduisant aux modifications cytologiques, histologiques et morphologiques de la racine permettant l'organisation de nodules infectieux fixateurs d'azote atmosphérique. Des oscillations calciques se produisent dans une région proche du noyau.

Le même phénomène est à l'œuvre pour la formation des mycorhizes arbusculaires. Les outils utilisés sont les mêmes mais les oscillations calciques conduisant aux mycorhizes arbusculaires sont caractérisées par une fréquence plus grande et par une amplitude plus faible que les oscillations induites par le facteur Nod (McAinsh & Pittman 2009, Charpentier & Oldroyd 2013, Singh et al. 2014, Suty 2015b).

Il est intéressant de remarquer que, la réaction produit aussi de l'hydrogène en quantité importante. L'hydrogène produit, peut être réutilisé dans une nouvelle réaction de réduction de l'azote (Meyer et al. 2013). La fixation biologique de l'azote atmosphérique peut se résumer de façon imagée à une inspiration d'azote atmosphérique et à une expiration d'hydrogène. Le processus est très important : en effet on estime qu'il fournit à l'échelle de la planète au moins autant d'azote assimilable que tous les engrais azotés chimiques utilisés annuellement : c'est dire l'importance du calcium au service de ce phénomène (Suty 2015b).



Figure 14. Quelques exemples de nodosités racinaires de Fabaceae. De gauche à droite : *Lupinus angustifolius* (lupin à feuilles étroites), *Phaseolus vulgaris* (haricot commun), *Lathyrus sylvestris* (gesse des bois), *Trifolium arvense* (trèfle des champs) et *Onobrychis viciifolia* (sainfoin).

Calcaire, calcium et fonction générative

Chez les Spermaphytes, la reproduction sexuée conduit à la formation d'une graine, une forme d'existence remarquable de la plante. Sa formation nécessite la coordination des fonctions de différentes parties spécialisées de la fleur, dont la fonction pollinique. Lorsque le pollen atterrit sur le stigmate de la fleur, il germe, forme le tube pollinique (Tp) qui traverse les tissus du stigmate et conduit les gamètes mâles jusqu'au sac embryonnaire* où ils fusionnent avec l'oosphère et les noyaux centraux (fig. 15 & 16). La graine elle-même n'est pas le témoin de la fécondité de la plante ; celle-ci s'exprime seulement lors de sa germination (Steiner 10-6-1924-GA 327). Fonction pollinique et germination de la graine sont influencées par le « calcaire » et le calcium. La fonction pollinique comporte deux aspects principaux : la dispersion du pollen suivie de sa germination et la croissance du tube pollinique.

Oxalate de calcium (CaOx) et dispersion du pollen

Lorsque le pollen du piment d'Espelette (*Capsicum annuum*, Solanaceae) est mûr, le calcium contenu dans le cytoplasme et la paroi des cellules de la zone de déhiscence (stomium*) des sacs polliniques et est systématiquement éliminé vers le milieu extracellulaire et inactivé sous forme de CaOx insoluble. Ceci conduit à l'affaiblissement des tissus et à leur dégradation, suivi de la libération et de la dispersion du pollen (fig. 15).

Le calcium est indispensable pour la germination et la croissance du tube pollinique. Le calcium est fourni à partir de l'oxalate de calcium transporté par le pollen ou produit par le stigmate. Chez le pétunia (*Petunia hybrida*, Solanaceae) l'oxalate provient de la dégradation de la paroi des cellules du stomium. Ce phénomène a été mis en évidence chez d'autres Solanaceae, comme le tabac (*Nicotiana* sp.) et chez des plantes d'autres familles. La question se pose de savoir si la fonction du CaOx, observée chez quelques espèces, est une généralité pour les plantes à fleurs (Steiner 14-6-192-GA 327, Tuteja & Mahajan 2007, Bauer et al. 2011, He et al. 2014).

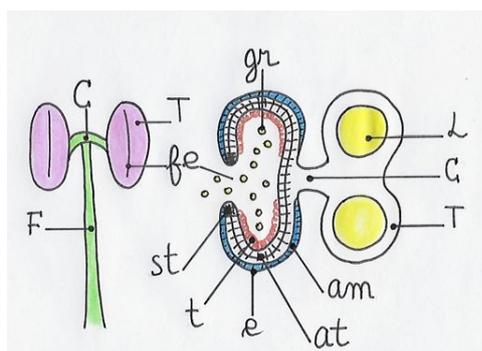


Figure 15. Représentation schématique d'une étamine et de la coupe transversale de l'anthere.
am : assise mécanique ; at : assise transitoire ; C : connectif ; e : épiderme ; fe : zone de déhiscence ; F : filet de l'étamine ; gr : grain de pollen ; L : loge (microsporange) ; st : stomium ; t : tapetum ; T : thèque.

Calcium et croissance polarisée du tube pollinique

La polarité est une propriété fondamentale de la cellule. Chez la plante, elle concerne par exemple, la formation du zygote* et de l'embryon (fig. 16), la croissance des poils absorbants des racines ou celle du **tube pollinique** (Tp)²⁶. La genèse et le maintien de la

²⁶ La fonction du Tp est de transporter les 2 gamètes mâles jusqu'au sac embryonnaire ; la fusion de l'un avec l'oosphère conduit à la formation de l'embryon, celle du second avec les noyaux centraux génère un tissu triploïde nourricier, l'albumen* (figure 16). Il a été montré que la croissance des poils absorbants et du Tp sont

croissance polarisée du Tp (encore appelée croissance apicale ou croissance unidirectionnelle) sont gouvernés par des processus cellulaires complexes et des réseaux de signalisation, où le Ca^{++} apparaît comme un élément essentiel de leur régulation²⁷. Il s'agit d'un phénomène oscillant. Selon les espèces, la vitesse de croissance est comprise entre 1 $\mu\text{m}/\text{min}$ à ≤ 1 mm/min et la période de l'oscillation de croissance se situe entre 20 à 80 s (Jamin & Jang 2011, Craddock 2012, Himschoot et al. 2015).

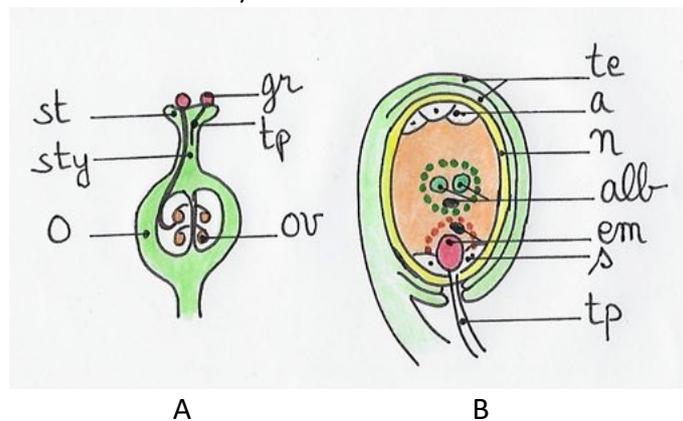


Figure 16. Représentation schématique de la croissance du Tp et de la double fécondation : la fusion du premier gamète mâle avec le gamète femelle donne naissance à l'embryon (em), la fusion du second avec les 2 noyaux centraux donne naissance à l'albumen (alb), le tissu nourricier de la jeune plantule après la germination (d'après Meyer et al. 2013).

A – ovaire (O) contenant les ovules (ov), surmonté du style (sty) et du stigmate (st) ; les grains de pollen (gr) ont germé et les tubes polliniques (tp) se développent en direction des ovules.

B – le Tp a libéré les gamètes dans le sac embryonnaire de l'ovule (a : antipodines ; n : nucelle ; s : synergides ; te : téguments).

La croissance du Tp est rendue possible par la diminution des tensions de la membrane cytoplasmique et par la diminution de la robustesse de la paroi cellulaire : une phase de progression est rapidement suivie de contention et de consolidation. Elle met en jeu de nombreux facteurs indispensables, parmi lesquels de petites GTPases (ROP1), les effecteurs qu'elles génèrent (protéines RIC3 et RIC4), le gradient de concentration apical de calcium (signal spatiotemporel), la dynamique de l'actine-F du cytosquelette, les voies de signalisation dépendant des lipides, le trafic vésiculaire et la modification de la paroi (encadré 14).

La germination du pollen et la croissance du Tp nécessitent que la concentration de calcium dans le milieu de culture soit optimale (2 à 5 mM) : trop de calcium (≥ 10 mM) fait éclater le tube pollinique, pas assez ($< 0,5$ mM) ralentit voire empêche sa croissance (Jamin & Jang 2011). Dans le premier cas, l'influx de calcium est perturbé (trop) et la paroi est rigidifiée par l'activation de la PME (pectine méthyl-estérase ; voir ci-dessus), ce qui ralentit ou inhibe la croissance. Dans le second cas, l'apport insuffisant de calcium est responsable de la faiblesse du gradient apical.

Comme de nombreux phénomènes du monde vivant, ceux concernant la croissance du Tp sont oscillants : un épisode d'expansion du Tp sous l'impulsion de la ROP1 est suivi

régis par le fonctionnement d'un ensemble de gènes, dits gènes « TIP » ce qui permet d'établir une analogie entre la croissance du Tp et celle du poil absorbant (Schilperoord 2011).

²⁷ La croissance du Tp a fait l'objet de nombreuses études à cause de son importance fonctionnelle, mais aussi parce qu'il est constitué d'une seule cellule, robuste et facilement cultivable *in vitro*, qui se prête à toutes sortes de techniques d'étude sans dommage apparent pour elle. C'est le système d'étude favori pour analyser le fonctionnement et la régulation du signal calcique et de ses caractéristiques spatiotemporelles.

rapidement des **effets antagonistes du calcium** qui a pour conséquence son **ralentissement** et la **consolidation de la paroi**. Ces oscillations s'établissent selon une certaine chronologie : l'activité de ROP1 oscille en phase avec celle de la croissance, mais la précède ; le calcium, focalisé vers l'apex et l'influx de calcium oscillent en phase, mais décalés par rapport à la croissance du Tp. La séquence des événements se résume schématiquement de la manière suivante :

**oscillation ROP1 → oscillation de croissance → oscillation de la [Ca⁺⁺]
→ oscillation de l'influx de Ca⁺⁺.**

Encadré 14 - Les régulateurs de la croissance du tube pollinique

Alors que la concentration apicale en calcium de la cellule au repos est comprise entre 0,1 et 0,3 μM , celle du gradient apical calcique est comprise entre 1 μM et 1mM (10 à 10000 x plus). Le maintien d'une concentration en calcium [Ca⁺⁺] appropriée est essentiel pour une croissance normale du Tp et implique le fonctionnement de canaux calciques (cyclic-nucleotide-gated-channel) et de pompes (Ca-ATPases auto-inhibées).

La fourniture en calcium nécessaire est également assurée à partir de sources cellulaires comme le système réticulo-endoplasmique et d'autres vésicules : l'augmentation corrélative du gradient calcique favorise l'exocytose* et l'élongation du Tp, ce qui explique le décalage entre les oscillations du gradient apical de calcium et son influx (retardé).

Lorsque le Tp s'allonge, sa paroi dans la région apicale est constamment modifiée par la PME (pectine-méthyl-estérase) : les résidus uroniques sont exposés, leur réaction avec le calcium diminue l'élasticité des pectines, rigidifie la paroi et ralentit la croissance du Tp (Choi et al. 2011, Jamin & Jang 2011).

Parmi les protéines du groupe des petites GTPases (cf. ci-dessus) la ROP1 est une GTPase spécifique du pollen ; elle est indispensable pour la croissance normale du Tp. La ROP1 contrôle la croissance apicale en modulant les mouvements calciques et génère deux effecteurs aval de nature protéique appelés RIC3 et RIC4, lesquels initient des rétrocontrôles dont les modes d'action sont antagonistes (fig. 17).

- **La RIC4**, en favorisant la stabilisation de l'actine-F par l'assemblage de ses filaments, augmente l'activité de la ROP1 et l'oscillation de croissance ; elle tend à supprimer la focalisation apicale du calcium en favorisant son exocytose. A cela s'ajoutent les effets du **guanine nucléotide exchange factor (Rop-GEF)** qui catalyse la formation de GTP et par conséquent active la ROP1.
- **La RIC3** favorise l'accumulation apicale du calcium dans le Tp en favorisant le désassemblage des filaments d'actine-F par l'intermédiaire de la profiline (protéine) ; ce faisant RIC3 contrarie les effets positifs de RIC4 sur l'activité de ROP1. Le calcium par l'intermédiaire d'une protéine-kinase active la **Rop-Enhancer (REN1)** une protéine du groupe des GAP, désactive la ROP1 et peut le cas échéant entraîner la diminution de la croissance du Tp.
- Le rôle du calcium est donc celui d'un **régulateur négatif** de l'activité de ROP1 : lorsque sa concentration apicale est excessive, l'activité ROP1 peut être supprimée. (Choi et al. 2011, Jamin & Jang 2011, Craddock 2012).

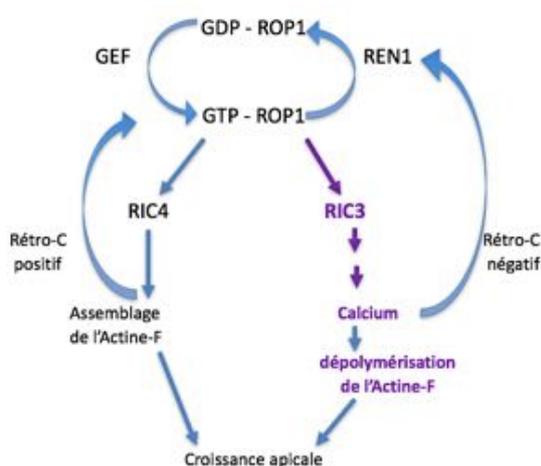


Figure 17. Représentation schématique des voies de transduction lors de la croissance du tube pollinique (voir encadré 14).

Calcaire, calcium et germination des graines

Selon que la plante est calcicole ou calcifuge, l'influence du calcaire et du calcium du sol est favorable ou défavorable à la germination et à la croissance pendant la période juvénile (voir ci-dessus ; Liu et al. 2011). A concentration optimale, le calcium peut inhiber l'absorption du Na^+ et en réduire l'influence négative sur la germination ; il en est de même pour le magnésium et divers sulfates, dont les effets toxiques sur la germination et la croissance des plantules sont atténués (Kolodziejek & Patikowski 2015).

La germination des semences du caille-lait de Cracovie (*Galium cracoviense*, Rubiaceae) est influencée par la température, la lumière, l'humidité du sol, la concentration en oxygène et en calcium actif (Ca^{++}). Le facteur le plus important est la température. Durant la dormance hivernale, la graine de cette plante tolère le carbonate de calcium en quantités importantes sans perte de viabilité. En revanche, la germination est initiée lorsque la concentration en carbonate de calcium est abaissée. Le calcium en concentrations durablement élevées (> à 5 mM dans l'eau du sol) influence négativement la germination (Kolodziejek & Patikowski 2015).

Conclusion et aspects phénoménologiques

Origine et métamorphoses du calcaire

Le « calcaire » a une origine cosmique ; son archétype est issu du soleil. Le courant éthérique générateur de substances qui lui a donné naissance est postérieur à celui de la silice. Il a pénétré dans l'atmosphère protéique fluide qui entoure la terre y faisant apparaître des éléments chimiques dont les effets évoquent ceux d'aujourd'hui. A la différence de la silice (courant rayonnant à caractère de surface : deux dimensions), le « calcaire » se présente sous forme de brume ou de nuages (volume : trois dimensions). Le calcaire de cette atmosphère protéique fluide est l'objet d'oscillations, le faisant passer de vapeur à liquide et réciproquement, selon de constants mouvements ascendants et descendants. A cela s'ajoute que le calcaire quitte l'atmosphère protéique et descend vers la terre, dans laquelle il s'infiltré sans discontinuer, la rendant de plus en plus dense.

Ce processus « calcaire » est contemporain d'un phénomène se rapportant à l'atmosphère protéique : elle se densifie par endroit, en quelque sorte coagule, générant des formes structurées qui nagent dans cette atmosphère. Elles deviennent les supports des animaux premiers (Urtiere, en Allemand). Leur consistance est celle d'un gel, voire d'un cartilage. Le calcaire manifeste une attirance toute particulière pour ces gels ou ces masses cartilagineuses. Il imprègne ces formes animales de ses forces terrestres, les entraîne vers le bas, vers la terre et en fait des entités terrestres : le calcaire, dont l'origine est cosmique, a en quelque sorte dérobé les animaux au ciel. Ces formes animales ont tendance à introduire le calcaire dans leurs ébauches solides pour former au cours de l'évolution respectivement des exo- et des endosquelettes. Après la mort des animaux se forment des dépôts calcaires, qui au fil du temps deviennent des montagnes calcaires (Steiner 28-10-1923-GA 230, Steiner 1 et 2-12-1923-GA 232, Steiner 17-2-1923-GA 349, Benesch & Wilde 1983).

Calcaire : le résidu des êtres vivants après leur mort

En réalité, la plupart des êtres vivants fixent le calcium sous diverses formes du « calcaire » qui retourne au milieu après leur mort. Les plantes restituent le carbonate de calcium directement, mais le plus souvent par le détour de l'oxalate de calcium. Le CaOx de la plante résulte de l'introduction dans son cycle de vie du calcium libéré dans le milieu par

l'érosion (dégradation) et de sa combinaison avec l'acide oxalique, produit par photosynthèse à partir du CO₂, le produit de dégradation de substrats carbonés.

Par conséquent, la roche calcaire est le résidu d'organismes vivants après leur mort. Cette roche secondaire n'est pas seulement le témoin de la vie passée des animaux, mais aussi celui de la vie passée de bactéries, d'algues ou de plantes. Autrement dit, la roche calcaire est un dépôt mort entre une forme de vie passée et une forme de vie future (Steiner 17-2-1923-GA 349, Gargaud et al. 2009).

Polarité : promotion ou limitation de la vie

Chez les plantes, l'excès de calcium est exclu des processus métaboliques sous forme de carbonates et d'oxalates insolubles. Il en est de même des stromatolites, des coccolites, des coquilles de mollusques, des arborescences de coraux ou encore des coquilles d'œufs d'oiseaux, qui sont des matériaux morts, exclus des processus de vie et rejetés vers leur milieu ou à la périphérie des organismes producteurs. Cette notion s'applique aux squelettes des vertébrés (endosquelettes), considérés comme des fragments de qualité terrestre interiorisés, des formations minérales insolubles, dont la vitalité est faible. Selon Steiner et Wegman (GA 27 1925), l'homme meurt déjà dans son squelette.

Mais paradoxalement, ces structures mortes protègent la vie des organismes qui les produisent. Chez la plante, les dépôts insolubles de calcium (CaOx ; CaCO₃) évitent la toxicité due à l'excès de calcium, protègent les outils de la photosynthèse ; le calcium consolide la paroi, qui devient une sorte d'exosquelette de la cellule végétale âgée ; ces dépôts protègent la plante des herbivores (prédateurs). Chez les animaux, ils protègent la vie par l'exosquelette ou la coquille d'œuf. Le cas échéant, ces dépôts calciques des plantes et des vertébrés (endosquelettes) constituent des réservoirs de calcium, comme le sont, à l'échelle de l'univers, les roches calcaires : du calcium actif (soluble) peut être libéré à partir de ses formes immobiles pour remplir ses missions au service de la vie.

La roche calcaire est hostile à la vie : le calcaire tue l'éthérique ou tout au moins en atténue l'exubérance et favorise les effets de l'astral (Steiner 13-6-1924-GA 327). Sur la roche calcaire, il ne pousse rien ; le calcaire empêche la germination des graines ; la teneur excessive des tissus en « calcaire » (CaOx) réduit notablement la croissance de la plante. Le substrat calcaire limite l'appareil végétatif, mais favorise l'expression de l'impulsion florale. Même les mécanismes de défense contre les herbivores procèdent en partie de ce caractère négatif.

Le calcium actif (ionisé, soluble) est indispensable au bon déroulement de phénomènes physiologiques majeurs, régis par les signalisations cellulaires dont il est le coordonnateur principal. Son rôle n'est envisageable que dans certaines limites de concentration, oscillant entre concentration faible et forte, entre carence et toxicité. On retrouve dans ces phénomènes l'expression du génie du calcium : d'une part ses effets antagonistes sur la croissance et les processus d'assimilation (cf. limitation de la croissance du Tp ; réduction de l'élasticité de la paroi ; diminution de la conductance stomatique, de la transpiration et de la photosynthèse), d'autre part, les effets protecteurs de la vie et de sa transmission (consolidation de la paroi, protection contre les stress, mouvements, fonction générative).

Cette oscillation entre, d'une part, les dépôts calciques inertes antagonistes de la vie et, d'autre part, les formes solubles du calcium, mobiles, actives, indispensables aux processus de la vie semble universelle : elle apparaît dans tous les aspects étudiés au niveau de la géosphère et de la biosphère, notamment de la plante.

Le calcaire du milieu médiateur de forces cosmiques

Le « calcaire » du sol est le récepteur (le capteur) des forces des planètes sub-solaires, de Vénus, de Mercure et de la Lune. Il s'en fait aussi le médiateur au profit de la plante, lui

permettant d'accéder à la floraison, de devenir plante générative, d'accéder à un niveau qui va au-delà d'elle-même. Le calcaire satisfait en quelque sorte le désir de la plante à devenir animal. Autrement dit, les forces astrales transmises sont le support de l'impulsion florale. Par leur entremise la plante devient capable de se reproduire et de former des semences fertiles. Ces forces contiennent, limitent et transforment la plante végétative. La plante en est juste effleurée, ce qui la conduit à produire des fleurs et des couleurs : Steiner dit qu'elle exprime quelque chose de nature psychique²⁸. L'expression de ces forces est corrélée avec le cycle annuel du soleil (Steiner 10, 13 et 14 juin 1924-GA 327, Benesch & Wilde 1983).

La réception affaiblie de ces forces cosmiques génère toutes sortes de maladies que l'on peut corriger par un amendement à l'aide d'un « calcaire vivant »²⁹ comme l'écorce de chêne utilisée en agriculture biodynamique (Steiner 13-6-1924-GA 327, Masson 2015). Mais seule la coopération avec la silice permet de réussir le développement satisfaisant de la plante. Cette notion est illustrée par la formation du fruit. Les fruits, devenant nourriture dans le sens le plus éminent, mûrissent sous la responsabilité de la silice et des planètes supra-solaires (Saturne, Jupiter et Mars) lesquelles favorisent la formation de substances, de protéines, de lipides, de sucres et d'arômes. En revanche la production de graines fécondes (fonction générative) est sous l'influence des forces subsolaires transmises par le calcaire (Steiner 14-6-1924-GA 327).

Glossaire

(Morère et Pujol 2003, Brice 2011, Meyer et al. 2013, Jouy & de Foucault 2016)

Acide abscissique : est une hormone végétale (phytohormone) dont le nom provient de son effet stimulateur de la chute d'un organe (feuille, fruit, etc.) dont l'action principale consiste à inhiber la croissance et à prolonger la dormance des bourgeons et des graines.

Acide uronique : acide résultant de l'oxydation de la fonction alcool primaire d'un sucre ; exemple : l'acide glycuronique résulte de l'oxydation du glucose.

Acidophile : se dit d'une plante qui préfère les sols légèrement acides.

Abiotique : qualifie les facteurs qui ne sont pas dépendants d'organismes vivants, comme le vent, le gel, la longueur des jours, la salinité, la sécheresse, etc.

Albumen : tissu de réserve triploïde qui entoure l'embryon dans la graine des Angiospermes et assure sa nutrition au moment de la germination.

Antiport : transporteur membranaire couplant le mouvement de deux ions ou molécules dans le sens inverse l'un de l'autre.

Apoplasme : sous le terme d'apoplasme, on comprend la paroi, l'espace entre la paroi et la membrane plasmique et les vaisseaux du xylème*.

Appareil de Golgi : organites formés d'empilements de petits sacs aplatis d'où se détachent des vésicules ; l'appareil de Golgi est souvent localisé à proximité du noyau et joue un rôle important dans la synthèse des composants de la paroi.

Aquaporine : petites protéines transmembranaires fonctionnant comme un canal pour la diffusion de l'eau.

Bande de Caspary : bande subérisée ou lignifiée autour des parois transverses ou radiales des cellules de l'endoderme*, surtout dans les racines.

Biotique : qualifie les facteurs écologiques dépendants d'organismes vivants.

Canal calcique : complexe protéique transmembranaire permettant le transport des ions calcium.

Cations divalents : (du grec cata-, « en bas » et iôn, « qui va ») un cation se déplace vers la cathode au cours de l'électrolyse.

Cellules unisériées : alignement de cellules sur un seul rang.

Chloroplastes : plastes contenant de la chlorophylle et siège de la photosynthèse.

Conductance stomatique : caractérise la facilité des échanges au niveau du stomate.

Conductivité hydraulique : caractérise la facilité du cheminement de l'eau dans les tissus.

²⁸ « La fleur est un papillon immobilisé, le papillon est une fleur libérée » (Steiner GA 230-26-10-1923). « Le papillon, fleur sans tige, qui voltige... » (Gérard de Nerval, Les Odelettes 1831).

²⁹ Produit par la vie devrait-on dire.

Connectif : tissu situé dans le prolongement du filet d'une étamine et reliant les loges polliniques de l'anthere.

Cryptochrome : il s'agit de flavoprotéines (pigments jaunes) réceptrices de lumière bleue ($\lambda = 400 - 500 \text{ nm}$) et d'UV-A ($\lambda = 320 - 400 \text{ nm}$)

Cytosol : substance fondamentale plus ou moins liquide de la cellule dans laquelle baignent les organites du cytoplasme (mitochondries, chloroplastes, etc.)

Eliciteur : substance responsable de l'induction de réactions spécifiques de défense chez les plantes.

Endocytose : mécanisme de transport membranaire permettant aux cellules d'absorber divers composés du milieu extérieur sous forme dissoute ou figurée grâce à des vésicules qui se forment par pincement de la membrane plasmique.

Endoderme : assise cellulaire interne de l'écorce qui entoure le cylindre central dans les racines et certaines tiges ou feuilles.

Espèce généraliste : espèce qui s'établit sur une grande diversité de sols.

Exocytose : permet aux cellules d'Eucaryotes de déverser vers l'extérieur le contenu de vésicules de sécrétion.

Glycane : polymère de sucres de différentes natures.

Hyphes : filament dépourvu de chlorophylle constituant le thalle des champignons.

Lamelle médiane : couche principalement composée de pectine à la jonction des parois de deux cellules voisines.

Ligand : molécule qui se lie à un récepteur spécifique et déclenche des effets biologiques.

Macronutriment : nutriment quantitativement important et essentiel pour la plante.

Mésocarpe : couche moyenne de la paroi du fruit (cerise), situé entre l'épicarpe (la peau) et l'endocarpe (le noyau).

Mésophylle : tissu situé entre l'épiderme supérieur et inférieur d'une feuille, encore appelé parenchyme foliaire.

Mitochondrie : organite entouré de deux membranes, contenu dans le cytosol, jouant un rôle essentiel dans les processus respiratoires de la cellule.

Mucopolysaccharide : macromolécule constituée de très longues chaînes linéaires constituées de disaccharides dont l'un des sucres porte une fonction aminée (par exemple : glucosamine) et l'autre une fonction carboxylique (par exemple : acide uronique*).

Mycorhize : association symbiotique entre un champignon et les cellules des racines d'une plante.

Neutrocline : se dit d'une plante manifestant une préférence pour les sols neutres.

Noyaux centraux : noyaux haploïdes localisés au centre du sac embryonnaire qui participent à la seconde fécondation générant l'albumen.

Nucléoplasme : constituant des noyaux de cellules eucaryotes, formé essentiellement d'une solution concentrée de protéines et d'acide ribonucléique au sein de laquelle baignent la chromatine et les nucléoles.

Oosphère : gamète femelle contenu dans le sac embryonnaire.

Parenchyme : tissu fondamental composé de cellules vivantes assurant des fonctions variées.

Parenchyme lacuneux : se trouve entre le tissu palissadique et l'épiderme inférieur de la feuille ; son caractère lacuneux facilite la diffusion des gaz.

Paroi primaire : paroi formée au cours de la croissance de la cellule.

Péricycle : tissu méristématique de la racine, constitué d'une assise cellulaire disposée sur la face interne de l'endoderme et entourant le cylindre central où se trouvent les vaisseaux conducteurs de sève.

Phloème secondaire : tissu conducteur de la sève élaborée se différenciant à partir du cambium.

Photolyse de l'eau : décomposition de l'eau se déroulant dans le chloroplaste permettant la transformation de l'énergie solaire en énergie chimique et en substances réductrices nécessaires à la synthèse de Calvin (photosynthèse).

Plasmide : molécule d'ADN présente dans le cytoplasme de bactéries en plus du génome principal, porteuse d'une information propre, capable de se répliquer et de se transmettre.

Plasmodesme : ponts cytoplasmiques entre le cytoplasme de deux cellules voisines.

Radicaux libres : sont des sous-produits de la photosynthèse et des processus respiratoires cellulaires qui le cas échéant peuvent détruire des constituants cellulaires de toute sorte.

Réticulum endoplasmique : système membranaire en forme de réseau dans le cytosol qui participe à la synthèse protéique.

RUBISCO : acronyme désignant la ribulose-bisphosphate carboxylase/oxygénase, la première enzyme du cycle de Calvin ; c'est probablement l'enzyme la plus importante du monde vivant ; cette enzyme peut catalyser la carboxylation ou l'oxydation du Ribulose-bisphosphate selon la valeur du rapport des concentrations tissulaires en CO_2 et en O_2 : si $[\text{CO}_2] > [\text{O}_2]$, l'enzyme fonctionnera comme carboxylase ; si $[\text{CO}_2] < [\text{O}_2]$, l'enzyme fonctionnera comme oxydase.

Sac embryonnaire : structure cellulaire haploïde de l'ovule des Angiospermes contenant plusieurs noyaux, dont le gamète femelle appelé oosphère* et deux noyaux centraux* ; la fusion de l'un des gamètes mâles avec l'oosphère donnera l'embryon, la fusion du second avec les noyaux centraux donnera l'albumen*.

Second messenger : on appelle second messenger une substance libérée dans le cytoplasme à la suite de la combinaison d'un éliciteur* ou d'un ligand* avec son récepteur membranaire ; les seconds messagers sont

impliqués dans l'activation de systèmes enzymatiques et dans la transduction de signaux ; le Ca⁺⁺ est un important second messenger.

Stomium : zone de cellules à paroi mince par laquelle s'effectue la déhiscence d'un sporange ou d'une anthère permettant ainsi la libération des spores ou du pollen. Le stomium est situé sous l'anneau mécanique chez les fougères et entre les paires de sacs polliniques chez les plantes à graine.

Suffrutescent : qualifie une plante herbacée dont la base est persistante et ligneuse.

Symbiose : cohabitation entre êtres vivants avec bénéfices réciproques ; exemple : lichens, mycorhizes, bactéries des nodules racinaires de Fabaceae.

Symplasma : ensemble des cellules d'un même tissu reliées par des plasmodesmes*

Synthèse de Calvin : décrit l'ensemble des réactions biochimiques conduisant au premier composé stable (glycéraldéhyde-3-P) après l'incorporation du CO₂ sur un substrat carboné préexistant au cours de la photosynthèse proprement dite.

Tissu palissadique : tissu riche en chloroplastes constitué de cellules allongées disposées perpendiculairement à la surface d'une feuille.

Transduction : phénomène de transmission d'un signal venant de l'extérieur de la cellule à travers la membrane plasmique conduisant à une réponse physiologique.

Transpiration : processus de perte d'eau sous forme de vapeur dans l'atmosphère, réalisé par les plantes principalement au niveau des stomates.

Trichomes : nom collectif pour désigner un ensemble de poils ou un revêtement de poils.

Xylème : tissu assurant la circulation de la sève brute (bois).

Littérature

Aeschimann D., Lauber K., Moser D.M., Theurillat J.P. (2004) Flora Alpina. Haupt, Berne.

Amaudric du Chaffaut S. (2008) La terre et la vie, quatre milliards d'années d'histoire. CRDP de l'Académie de Grenoble.

Ascough G.D., Nogemane N., Mtshali N.P., van Staden J. (2005) Flower abscission : environment control, internal regulation and physiological responses of plants. South African Journal of Botany 71(3&4), 287-301.

Atkinson C.J. (2014) Is xylem sap calcium responsible for reducing stomatal conductance after soil liming ? Plant Soil, 382, 349-356.

Augereau J.M. (2008) Les plantes médicinales In Hallé F et Lieutaghi P Aux origines des plantes, Tome 2. Fayard

Bahr A., Ellström M., Schnoor T.K., Pålsson L., Olsson P.A. (2012) Long-term changes in vegetation and soil chemistry in a calcareous and sandy semi-natural grassland. Flora, 207, 379-387.

Barth J. G. (2019) Silicon, the long forgotten element of plants. Elemente der Naturwissenschaft N° 110 p.32-53.

Bauer P., Elbaum R., Weiss I.M. (2011) Calcium and silicon mineralization in land plants : transport, structure and function. Plant Science 180, 746-756.

Benesch F., Wilde K.(1983) Kiesel, Klak, Ton. Prozesse in mineral, Pflanze, Tier und Mensch. Verlag Urachhaus, Stuttgart.

Birkeland C.(2015) Coral reefs in the anthropocène. In Birkeland C, Coral reefs in the anthropocene, Springer Science + Business Media Dordrecht.

Bothe H. (2015) The lime-silicate question. Soil biology & biochemistry 89, 172-183.

Bouillard J.C. (2016) Les minéraux, sciences et collections. CNRS Editions, Paris.

Brice F. (2011) Les mots de la botanique. Actes Sud.

Brown S.L., Warwick N.W.M., Prychid C.J. (2013) Does aridity influence the morphology, distribution and accumulation of calcium oxalate crystals in Acacia (Leguminosae : Mimosoideae) ? Plant Physiology and Biochemistry 73, 219-228.

Campbell N., Reece J.B. (2004) Biologie. De Boeck, Bruxelles

Charpentier M., Oldroyd G.E.D. (2013) Nuclear calcium signaling in Plants 1. Plant Physiology 163(2), 496-503.

Choi W.G., Swanson S., Gilroy S. (2011) Calcium, mechanical signaling and Tip growth. In Luan S, Coding and decoding of calcium signals in plants. Springer, Berlin, Heidelberg.

Chytrý M., Danihelka J., Axmanova I., Bozkova J., Hettenbergerova E., Li C.F., Rosbrojova Z., Sekulova L., Ticht L., Vymazalova M., Zelený D. (2010) Floristic diversity of an eastern mediterranean dwarf shrubland : the importance of soil pH. Journal of Vegetation Science 21, 1125-1137.

Clarkson D.T. (1965) Calcium uptake by calcicole and calcifuge species in the genus Agrostis L. Journal of Ecology Vol 53, N° 2, 427-435.

- Collin-Bellier C., Isambert M., Philippe M. (2010) Plantes, calcaire et calcium du sol. La Garance Voyageuse N°90.
- Craddock C., Lavagi I., Yang Z. (2012) New insights into Rho signaling from plant ROP/Rac GTPases. *Trend in cell biology* vol 22 N°9, 492-501.
- Cukerzis J. (1984) La biologie de l'écrevisse (*Astacus astacus* L.). INRA publications, Versailles.
- Dauer J.M., Perakis S.S. (2014) Calcium oxalate contribution to calcium cycling in forests of contrasting nutrient status. *Forest Ecology and Management* 334, 64-73.
- Dayod M., Tyerman S.D., Leigh R.A., Gilliham M. (2010) Calcium storage in plants and the implications for calcium biofortification. *Protoplasma* 247, 215-231.
- Diederich K, Riggers U (2003) Die Arnika. *Der Merkurstab* 56, N°2, 61-76.
- Domingues L.S., Ribeiro N.D., Andriolo J.L., Possobom M.T.D.F., Zemolin A.E.M. (2016) Growth, grain yield and calcium, potassium and magnesium accumulation in common bean plants as related to calcium nutrition. *Acta Scientiarum. Agronomy, Maringá* v 38, N°2, 207-217.
- Driscoll C.T., Lawrence G.B., Bulger A.J., Butler T.J., Cronan C.S., Eagar C., Lambert K.F., Likens G.E., Stoddard J.L., Weathers K.C. (2001) Acidic deposition in the northeastern United States : sources and inputs, ecosystem effects and management strategies. *Bioscience* Vol 51 N°3, 180-198.
- Du E., Dong D., Zeng X., Sun Z., Jiang X., de Vries W. (2017) Direct effect of acid rain on leaf chlorophyll content of terrestrial plants in China. *Science of the Total Environment*, 605-606, 764-769.
- Ducérf G. (2015) L'encyclopédie des plantes bio-indicatrices. Vol 2 (3^e édition), Editions Promonature 71110 Briant
- Ducérf G. (2017) L'encyclopédie des plantes bio-indicatrices. Vol 1 (5^e édition) et Vol 3 (2^e édition), Editions Promonature 71110 Briant
- Dumé G., Gauberville C., Mansion D., Rameau J.C., Bardat J., Bruno E., Keller R. (2018) Flore forestière française, tome 1, Plaines et collines. Centre National de la propriété forestière, Institut pour le développement forestier.
- Epstein E. (1994) The anomaly of silicon in plant physiology. *Proc.Natl. Acad. Sci. USA* Vol.91, 11-17.
- Escudero A., Palacio S., Maestre F.T., Luzuriaga A.L. (2015) Plante life on gypsum : a review of its multiple facets. *Biological reviews*, 90, 1-18.
- Franceschi V.R., Nakata P.A. (2005) Calcium oxalate in plants : formation and function. *Annu. Rev. Plant Biol.* 56, 41-71.
- Faheed F., Mazen A., Abd Elmohsen S. (2012) Physiological and ultrstructural studies on calcium oxalate crystal formation in some plants. *Turkish Journal of Botany*, 37, 139-152.
- Gargaud M., Martin H., Lopez-Garcia P., Montmerle T., Pascal R. (2009) Le soleil, la terre, la vie, la quête des origines. Belin, Paris.
- Gehlig R. (1994) Kiesel, Kalium, Calcium und Wasser als Leitelemente in den Naturreichen. Ein Bild von Lebensvorgängen in der Gesteinwelt. *Tycho de BraheJahrbuch für Goetheanismus*. Tycho Brahe Verlag, Niefern-öschelbronn.
- Gilliham M., Dayod M., Hocking B.J., Xu B., Conn S.J., Kaiser B.N., Leigh R.A., Tyerman S.D. (2011) Calcium delivery and storage in plant leaves : exploring the link with water flow. *Journal of Experimental Botany* Vol.62, N°7, 2233-2250.
- Goguel J. (1959) La Terre. Encyclopédie de la Pléiade, Gallimard, Paris
- Gounelle M. (2017) Les météorites. Que sais-je N° 3859, Presses Universitaires de France.
- Grassé P.P., Doumenc D. (1993) Zoologie. 1. Invertébrés. Masson, Paris.
- He H., Veneklaas E.J. Kuo J., Lambers H. (2014) Physiological and ecological significance of biomineralization in plants. *Trends in Plant Science*, Vol. 19, N°3, 166-174.
- Himschoot E., Beeckman T., Friml J., Vanneste S. (2015) Calcium is an organizer of cell polarity in plants. *Biochimica et Biophysica Acta* 1853, 2168-2172.
- Hopkins W.G. (2003) Physiologie végétale. De Boeck Université, Bruxelles.
- Hubbard D.K. (2015) Reef biology and geology – not just a matter of scale. *In* Birkeland C, Coral reefs in the anthropocene, Springer Science + Business Media Dordrecht.
- Huheey J., Keiter J.E., Keiter E.A. (1997) Inorganic chemistry : principles of structure and reactivity. Prentice Hall Editors (New Jersey, USA).
- IAAP - *International Association of Anthroposophic Pharmacists* (2017) Anthroposophic pharmaceutical Codex. Med Pharm Scientific Publishers, Stuttgart.
- Jamin A., Yang Z. (2011) Interactions between calcium and ROP signaling regulate pollen tube tip growth. *In* Luan S. Coding and decoding of calcium signals in Plants. Springer, Heidelberg, New York.
- Jefferies R.L., Willis A.J. (1964) Studies on the calcicole-calcifuge habit : I. Methods of analysis of soil and plant tissues and some results of investigations on four species. *Journal of Ecology*, 52, 1, 1231-1238.
- Jefferies R.L., Willis A.J. (1964a) Studies on the calcicole-calcifuge habit : II. The influence of calcium on the growth and establishment of four species in soil and sand cultures. *Journal of Ecology*, 52, 3, 691-707.

- Johnsen O. (2016) Guide Delachaux des minéraux. Delachaux et Niestlé, Paris.
- Jouy A., de Foucault B. (2016) Dictionnaire illustré de Botanique. Biotope, Mèze.
- Kleiber T., Calomme M. & Borowiak K. (2015) The effect of choline-stabilized orthosilicic acid on microelements and silicon concentration, photosynthesis activity and yield of tomato grown under Mn stress. *Plant Physiology and Biochemistry* 96, 180-188.
- Kolodziejek J., Patykowski J. (2015) The effect of temperature, light and calcium carbonate on seed germination and radicle growth of the polycarpic perennial *Galium cracoviense* (Rubiaceae), a narrow endemic species from southern Poland. *Acta biologica cracobiensia, series botanica* 57/1 : 70-81.
- Labidi S., Jeddi F.B., Tisserant B., Debiante D., Rezgui S., Grandmougin-Ferjani A., Lounès-Hadj Sahraoui A. (2012) Role of arbuscular mycorrhizal symbiosis in root mineral uptake under CaCO₃ stress. *Mycorrhiza*, 22, 337-345.
- Le Y., Jingzhe J., Chan Z., Linrong J., Nenghui Y., Yusheng L., Guozheng Y., Ee L., Changlian P., Zhenghui h., Xinxiang P. (2010) Glyoxylate rather than ascorbate is an efficient precursor for oxalate biosynthesis in rice. *Journal of Experimental Botany* 61, 6, pp1625-1634.
- Leurquin J. (2010) Plantes et calcaire. Les Naturalistes de Charleroi.be.
- Liu T.W., Wu F.H., Wang W.H., Chen J., Li Z.J., Dong X.J., Patton J., Pei Z.M., Zheng H.L. (2011) Effects of calcium on seed germination, seedling growth and photosynthesis of six forest tree species under simulated acid rain. *Tree Physiology* 31, 402-413.
- Ma J.F., Miyake Y. et Takahashi E. (2001) Silicon as a beneficial element for crop plants. In Datnoff LE, Snyder GH et Korndörfer GH Silicon in agriculture. Elsevier, New York.
- Ma J.F., Yamaji N. et Mitani-Ueno N. (2011) Transport of silicon from roots to panicles in plants. *Proc. Jpn. Acad.*, Ser B87, 377-385.
- Mann S. (2001) Biomineralization, principles and concepts in bioinorganic materials chemistry. Oxford
- Mansfield T.A., Hetherington A.M., Atkinson C.J. (1990) Some current aspects of stomatal physiology. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 41, 55-75.
- Masson P. (2015) Guide pratique pour la biodynamie. Editions Biodynamie Services, F-71250 Château.
- Mazars C., Thuleau P., Cotelle V., Brière C. (2011) Calcium Signaling and homeostasis in nuclei. In Luan S, Coding and decoding of calcium signals in plants. Springer, Berlin, Heidelberg.
- McAinsh M.R., Pittman J.K. (2009) Shaping the calcium signature. *New Phytologist*, 181, 275-294.
- McCormick P.V., Gibble R.E. (2014) Effects of soil chemistry on plant germination and growth in a northern everglades peatland. *Wetlands* 34 : 979-988.
- Mehrabanjoubani P., Abdolzadeh A., Sadeghipour H.R. et Aghdasi M. (2015) Silicon affects transcellular and apoplastic uptake of some nutrients in plants. *Pedosphere* 25 (2), 192-201.
- Meyer S., Reeb C., Bosdeveix R. (2013) Botanique, biologie et physiologie végétales. Maloine, Paris.
- Morère J.L., Pujol R. (2003) Dictionnaire raisonné de biologie. Editions Frison-Roche, Paris.
- Muller-Parker G., D'Elia C.F., Cook C.B. (2015) Interactions between corals and their symbiotic algae. In Birkeland C, Coral reefs in the anthropocene, Springer Science + Business Media Dordrecht.
- Murray R.K., Bender D.A., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V.W., Weil P.A. (2013) Biochimie de Harper. De Boeck, Bruxelles.
- Nakata P.A. (2015) An assessment of engineered calcium oxalate crystal formation on plant growth and development as a step toward evaluating its use to enhance plant defense. *Plos ONE* 10(10):e0141982. Doi:10.1371/journal.pone.0141982.
- Perakis S.S., Maguire D.A., Bullen T.D., Cromack K., Waring R.H., Boyle J.R. (2006) Coupled nitrogen and calcium cycles in forests of the Oregon coast range. *Ecosystems* 9, 63-74.
- Perakis S.S., Sinkhorn E.R. (2011) Biochemistry of a temperate forest nitrogen gradient. *Ecology* 92(7), 1481-1491.
- Perakis S.S., Sinkhorn E.R., Catricala C.E., Bullen T.D., Fitzpatrick J.A., Hynicka J.D., Cromack K. (2013) Forest calcium depletion and biotic retention along a soil nitrogen gradient. *Ecological Applications*, 23(8), 1947-1961.
- Pinto E., Ferreira I. (2015) Cation transporters/channels in plants : tools for nutrient biofortification. *Journal of Plant Physiology* Vol 179, 64-82.
- Raman V., Horner H.T., Kahn I.A. (2014) New and unusual forms of calcium oxalate raphide crystals in the plant kingdom. *Journal of Plant Research* 127, 721-730.
- Rameau J.C., Mansion D., Dumé G., Gauberville C. (2008) Flore Forestière Française-Tome 3 : Région méditerranéenne. Institut pour le développement forestier, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Paris.
- Reduron J.P. (2008) Ombellifères de France. Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest, N° spécial, F-16200-Jarnac.
- Rickles R.E., Miller G.L. (2005) Ecologie. Editions De Boeck Université, Bruxelles.

- Rorison I.H.* (1960) Some experimental aspects of the calcicole-calcifuge problem : I. The effects of competition and mineral nutrition upon seedling growth in the field. *Journal of Ecology* Vol 48, N°3, 585-599.
- Rothwell S.A., Dodd I.C.* (2014) Xylem sap calcium concentrations do not explain liming-induced inhibition of legume gas exchange. *Plant Soil* 382, 17-30.
- Salisbury E.J.* (1920) The significance of the calcicolous habit. *Journal of Ecology*, Vol 8, N°3, 202-215.
- Schilperoord P.* (2011) *Metamorphosen im Pflanzenreich. Lesen im Buch der Verwandlungen.* Verlag Freies Geistesleben, Stuttgart.
- Serdar B., Demiray H.* (2012) Calcium oxalate crystal types in three oak species (*Quercus* L.) in Turkey. *Turk. J. Biol.* 36, 386-393.
- Simonis W.C.* (1975) *Wege zum Heilpflanzen-Erkennen.* Mellinger Verlag, Stuttgart.
- Simpson J.F.H.* (1938) A chalk flora on the lower greensand : its use in interpreting the calcicole habit. *Journal of Ecology* Vol 26, N°1, 218-235.
- Singh S., Katzer K., Lambert J., Cerri M., Pamiske M.* (2014) CYCLOPS, a DNA-binding transcriptional activator, orchestrates symbiotic root nodule development. *Cell Host & Microbe* 15, 139-152.
- Steiner R., Wegmann I.* (1925) Données de base pour un élargissement de l'art de guérir. *Triades* 1978, GA 27.
- Steiner R.* (1905) *Grundelemente der Esoterik.* Rudolf Steiner Verlag, Dornach 1987, GA 93a.
- Steiner R.* (1914) *Okultes Lesen und okultes Hören.* Rudolf Steiner Verlag, Dornach 3. Auflage 2003, GA 156.
- Steiner R.* (1922) *Menschenfragen und Weltenantworten.* Rudolf Steiner Verlag, Dornach 2. Auflage 1987, GA 213.
- Steiner R.* (1923) *Der Mensch als Zusammenklang des schaffenden, bildenden, gestaltenden Weltenwortes.* Rudolf Steiner Verlag, Dornach 6. Auflage 1985, GA 230.
- Steiner R.* (1923) *Mysteriengestaltung.* Rudolf Steiner Verlag 4. Auflage Dornach 1987, GA 232.
- Steiner R.* (1920) *Médecine et science spirituelle.* Editions anthroposophiques romandes, Yverdon-les-Bains, 5° édition 1976, GA 312.
- Steiner R.* (1924) *Pédagogie curative.* Editions anthroposophiques romandes, Yverdon-les-Bains 5 édition 1976, GA 317.
- Steiner R.* (1924) *Geisteswissenschaftliche Grundlagen zum Gedeihen der Landwirtschaft.* Rudolf Steiner Verlag, Dornach 8. Auflage 1999, GA 327.
- Steiner R.* (1980) *Vom Leben des Menschen und der Erde. Über das Wesen des Christentums.* Rudolf Steiner Verlag, Dornach 2. Auflage 1980, GA 349.
- Stephens W.E.* (2012) Whewellite and its key role in living systems. *Geology Today* Vol. 28, N°5, 180-185. University Press.
- Suty L.* (2015a) *Les végétaux : les relations avec leur environnement.* Editions Quae, Versailles.
- Suty L.* (2015b) *Les végétaux : des symbioses pour mieux vivre.* Editions Quae, Versailles.
- Thomas R., Busti D., Maillart M.* (2016) *Petite flore de France.* Editions Belin.
- Tuteja N., Mahajan S.* (2007) Calcium signaling network in plants. *Plant Signaling and Behavior*, 2, 2, 79-85.
- Webb A.A.R., Robertson F.C.* (2011) Calcium signals in the control of stomatal movements. In Luan S, *Coding and decoding of calcium signals in plants.* Springer, Berlin, Heidelberg.
- Wenk E.H., Dawson T.E.* (2007) Interspecific differences in seed germination, establishment and early growth in relation to preferred soil type in an alpine community. *Arctic, Antarctic and Alpine research* Vol 39, N°1, 165-176.
- Zhu J.K.* (2016) Abiotic signaling and responses in plants. *Cell* 167, 6, 313-324.