

Nécessité d'un anion exogène mobile en cas de nutrition ammoniacale

A. Soltani¹, M. Hajji¹ et C. Grignon²

¹ Institut National de Recherches Scientifiques et Techniques, Borj Cedria, B.P. 95, 2050 Hammam Lif, Tunisie;

² ENSA-INRA, biochimie et physiologie végétales (CNRS URA 573), 34 060 Montpellier Cedex 1, France

(reçu le 24 février 1989, accepté le 16 mai 1989)

Résumé — Des plantules d'orge âgées de 6 j sont cultivées pendant 1 mois sur des milieux contenant NO_3^- ou NH_4^+ comme source de N. Des variantes de ces milieux permettent de comparer les effets de la mobilité de l'anion qui accompagne NH_4^+ (Cl^- , facilement absorbé, ou SO_4^{2-} , peu mobile). La réduction de croissance, classiquement décrite lorsque NH_4^+ est substitué à NO_3^- , apparaît seulement quand l'anion majeur est SO_4^{2-} . Avec Cl^- , les 2 sources d'azote permettent des croissances semblables. Dans le cas de NO_3^- , les acides organiques (évalués par la différence entre les cations et les anions exogènes dosés dans les tissus) représentent plus de la moitié des anions accumulés. Sur milieu NH_4^+ , la somme des anions exogènes équilibre celle des cations. Quand le milieu NH_4^+ ne contient que les anions peu mobiles SO_4^{2-} et H_2PO_4^- , l'accumulation ionique totale reste très inférieure à celle qui est observée en présence de Cl^- . La réduction de croissance qui est alors observée semble due à l'incapacité des plantes à accumuler les anions exogènes, dans une situation où la production nette d'anions organiques est interdite par l'assimilation de NH_4^+ .

orge – nitrate – accumulation ionique – croissance – échanges de H^+

Summary — **Ammonia nutrition and the need for a mobile exogenous anion.** Six-day-old barley seedlings were grown for 1 month in media containing either NO_3^- or NH_4^+ as N source. The effects of the anion which accompanied NH_4^+ were studied (Cl^- or SO_4^{2-} readily, respectively poorly, absorbed by barley). The growth reduction, which is classically observed when NO_3^- is replaced by NH_4^+ , only occurred when SO_4^{2-} was the main anion in the medium. With Cl^- , NH_4^+ authorized the same growth as NO_3^- . In the later case, more than half of the anion accumulation was accounted for by organic acids (estimated as the difference between the accumulations of main exogenous cations and anions). When NH_4^+ was the N source, similar amounts of exogenous anions and cations were accumulated. However, the global ion accumulation was higher when Cl^- absorption was possible, than when only SO_4^{2-} and H_2PO_4^- were available in the medium. Thus, it seems that the growth reduction observed in the later case was due to the inability of the plants to accumulate exogenous anions, while net synthesis of organic anion was impeded by NH_4^+ assimilation.

barley – nitrate – ion accumulation – growth – H^+ transport

INTRODUCTION

Bien que NO_3^- soit en général leur source principale d'azote, les plantes cultivées utilisent aussi NH_4^+ . Cette dernière source devient prépondérante lorsque les conditions du sol sont incompatibles avec une bonne nitrification (Wallace *et al.*, 1978; Mc Clung & Brankenberger, 1987). La plupart des comparaisons des 2 sources de N ont indiqué que la croissance sur NO_3^- est meilleure que sur NH_4^+ (Woolhouse & Hardwick, 1966; Kirby & Mengel, 1967; Chaillou *et al.*, 1986). Ces résultats paraissent paradoxaux, car l'utilisation de NH_4^+ est théoriquement moins coûteuse en

énergie que celle de NO_3^- . D'une part, elle court-circuite les étapes de réduction catalysées par la nitrate réductase et la nitrite réductase. Ainsi, le coût énergétique de l'assimilation de NH_4^+ est 3 fois moindre que celui de NO_3^- , lorsqu'on le calcule à partir des nombres d'ATP et de cofacteurs réduits utilisés (Salsac *et al.*, 1987). D'autre part, l'assimilation de l'anion NO_3^- et celle du cation NH_4^+ entraînent des perturbations opposées de l'équilibre acido-basique des cellules. La première libère des équivalents OH^- , et la seconde des équivalents H^+ . Ces perturbations sont corrigées par 2 sortes de mécanismes, qui peuvent éventuellement agir parallèlement : des excrétions de

H⁺ ou OH⁻, et des synthèses d'ions organiques (Raven, 1985a). Lorsqu'on comptabilise les coûts énergétiques de ces divers mécanismes concourant à maintenir l'équilibre acido-basique des cellules, on trouve qu'ils sont 3 fois plus élevés dans le cas de l'assimilation de NO₃⁻ que dans celui de l'assimilation de NH₄⁺ (Raven, 1985b).

Plusieurs causes de la restriction de la croissance sur NH₄⁺ ont été proposées. Cox & Reisenauer (1973) l'attribuent en partie à l'acidification du milieu qui accompagne l'absorption de NH₄⁺ et limite cette dernière (Bennett & Adams, 1970). Effectivement, si le pH du milieu est contrôlé, NH₄⁺ est mieux absorbé que NO₃⁻ (Coic *et al.*, 1961; Barker *et al.*, 1966; Aslam, 1984, Troelstra *et al.*, 1985). Une autre explication de la croissance limitée sur NH₄⁺ est tirée des études des compositions ioniques des tissus. L'utilisation de NH₄⁺ comme source d'azote entraîne (par rapport à l'utilisation de NO₃⁻) une réduction des teneurs en cations (Blair *et al.*, 1970) et une augmentation des teneurs en anions minéraux autres que NO₃⁻ (Asher & Loneragan, 1967), accompagnée d'une baisse de l'accumulation des anions organiques. Ce défaut de production d'anions organiques est considéré par Salsac *et al.* (1987) comme un facteur probable de la réduction de croissance sur NH₄⁺. En effet, seules les espèces capables de produire ces acides indépendamment de l'assimilation de NO₃⁻ sont capables d'utiliser NH₄⁺ avec autant d'efficacité que NO₃⁻.

Le travail présenté ici vise à montrer que c'est la capacité d'accumulation anionique (indépendamment du type d'anion, minéral ou organique), qui limite la possibilité d'utiliser NH₄⁺. A de rares exceptions près (Dijkshoorn *et al.*, 1968; Lewis *et al.*, 1982), les auteurs ont étudié la nutrition ammoniacale en accompagnant NH₄⁺ d'un anion peu perméant. Etant donné que dans les milieux habituels, la concentration de la molécule source de N est relativement élevée, l'anion accompagnateur de NH₄⁺ est l'anion dominant. Or, l'anion utilisé dans la majorité des expériences est SO₄²⁻, peu perméant. Nous avons comparé les effets de NO₃⁻ et NH₄⁺ sur la croissance et la nutrition de l'orge, selon que l'anion dominant du milieu est SO₄²⁻, ou Cl⁻, très perméant chez cette plante.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Conduite des cultures

L'orge Martin est une variété d'*Hordeum vulgare* L. largement cultivée en Tunisie; l'orge Qerqena est un isolat originaire des lles Qerqena (Tunisie), où il est souvent cultivé dans des sols salés. Après germination sur papier filtre humide, les plantules sont transférées sur des claies de plastique au-dessus de pots de

750 ml remplis d'eau distillée. Au stade première feuille (5 à 6 j après la germination), l'eau est remplacée par un milieu nutritif, où l'azote est apporté sous forme NO₃⁻ ou NH₄⁺. Un premier prélèvement de plantes est fait à l'apparition de la seconde feuille (12^e ou 13^e j). Le prélèvement final a lieu 23 j plus tard. La durée de la culture couvre donc la quasi totalité du pic d'absorption (quantités d'ions absorbées par jour et par g de racine), qui se situe entre les 18^e et 40^e j après le semis chez plusieurs cultivars d'orge (Perby & Jensen, 1983).

Les compositions des milieux en macroéléments sont données dans le Tableau I. Les oligoéléments et le fer sont introduits respectivement selon Arnon & Hoagland (1940) et Jacobson (1951). Dans certains cas, CaCO₃ (2 g.l⁻¹) est ajouté aux milieux, afin d'éviter l'acidification due à l'assimilation de NH₄⁺ (Lewis *et al.*, 1986). Les milieux sont aérés par bullage d'air, et renouvelés tous les 4 j. Cette périodicité, choisie à l'aide d'expériences préliminaires, permet de limiter l'épuisement du volume de solution dans chaque pot à moins de 10%. La photopériode est de 14h, avec un rayonnement efficace de 400 μmole.m⁻².s⁻¹. L'humidité relative et la température sont respectivement 65±5% et 25±3°C pendant la photopériode, et 80±5% et 18±3°C pendant la nyctipériode. Avec chaque type d'orge, 2 répétitions totalement indépendantes sont faites pour chaque expérience. Sauf indication contraire, 8 pots sont utilisés dans chaque expérience et chaque traitement, correspondant chacun à 4 plantes pour le premier prélèvement, et 4 autres pour le second prélèvement.

Mesures

Toutes les mesures de masse et les analyses sont faites sur 4 plantes traitées séparément. Les plantes récoltées sont scindées en parties aériennes et racines, pesées (matière fraîche), séchées à l'étuve, et pesées à nouveau (matière sèche, MS). La croissance moyenne relative (CMR, j⁻¹) est calculée par la relation $CMR = (M_2 - M_1)(1/M)/(t_2 - t_1)$, où M₁ et M₂ sont les masses de matière sèche aux temps t₁ (12 j) et t₂ (35 j), et $M = (M_1 + M_2)/2$.

Les échantillons sont ensuite réduits en poudre fine à l'aide d'un broyeur à billes. Les cations sont dosés par photométrie de flamme en émission (K⁺, Na⁺, Ca²⁺) ou en absorption atomique (Mg²⁺), après extraction par HNO₃ 0,1 M. Sur le même extrait, Cl⁻ est dosé par coulométrie, SO₄²⁻ par turbidimétrie à 360 nm, et PO₄³⁻ par colorimétrie en présence d'un réactif nitrovanadomolybdique. L'azote total est obtenu par distillation et titrimétrie après minéralisation à chaud de la poudre sèche (H₂SO₄ concentré, poudre de Zn et catalyseur au sélénium). L'azote protéique est déterminé par la même procédure, appliquée au précipité obtenu par traitement de la poudre sèche avec l'acide trichloroacétique (10%). NO₃⁻ est dosé par colorimétrie sur l'extrait aqueux (Jackson 1958).

Les consommations d'eau sont évaluées en mesurant la diminution du volume de milieu entre 2 renouvellements, et en la corrigeant par l'évaporation mesurée avec des pots sans plante. Les échanges nets d'équivalents H⁺/OH⁻ sont déterminés par titrations acidobasiques des milieux usagés.

Tableau I. Concentrations des macroéléments dans les solutions nutritives. Les milieux diffèrent par la source azotée, et par la nature de l'anion dominant dans le cas des milieux NH_4^+ (Cl^- ou SO_4^{2-}). Les milieux NO_3^- de types 1 et 2 sont respectivement utilisés comme témoins pour les expériences avec le milieu NH_4^+ de types 1 (Cl^-) et 2 (SO_4^{2-}).

Milieux	Concentrations (mN)									Osmolarité calculée (mM)
	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	NH_4^+	NO_3^-	H_2PO_4^-	SO_4^{2-}	Cl^-		
NO_3^- type 1	2,2	4,0	1,5	0,0	4,0	2,2	1,5	0,0	11,9	
NH_4^+ type 1	2,2	4,0	1,5	4,0	0,0	2,2	1,5	8,0	19,9	
NO_3^- type 2	2,6	3,4	1,4	0,0	5,0	1,0	1,4	0,0	11,7	
NH_4^+ type 2	2,6	1,7	1,4	5,0	0,0	1,0	9,7	0,0	15,0	

RÉSULTATS

Croissance

Les effets de la source azotée (NO_3^- ou NH_4^+) et de l'anion dominant en milieu ammoniacal (Cl^- ou SO_4^{2-}) sur les quantités de matière sèche à la récolte finale sont illustrés par la Figure 1. Comparé au milieu NO_3^- , le milieu NH_4^+ induit une croissance accrue en présence de Cl^- , diminuée en présence de SO_4^{2-} . Ces effets apparaissent encore plus nettement lorsqu'on compare les vitesses de croissance moyennes relatives (entre 12 j et 35 j) obtenues sur les différents milieux (Fig. 2).

Pendant les 4 j qui séparent 2 renouvellements de milieu, le pH des solutions NH_4^+ baisse

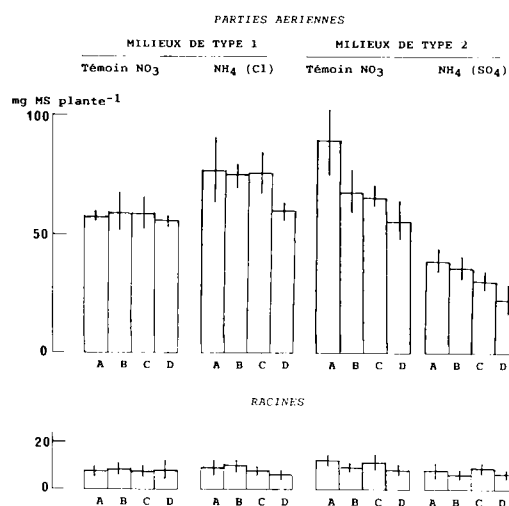


Fig. 1. Effets de la source d'azote et de l'anion dominant sur la croissance. Les histogrammes représentent les masses de matière sèche à 35 j. En haut : parties aériennes; en bas : racines. A et B : 2 expériences avec l'orge Martin; C et D : 2 expériences avec l'orge Qerqena (moyenne de 4 pots contenant chacun 8 plantes pour chaque expérience). Les barres verticales sont les intervalles de confiance au seuil de 95%. Les noms des milieux portés au-dessus des histogrammes font référence aux sources d'azote et aux anions dominants (Tableau I).

de 6,2 (solution de type 1 : Cl^- comme anion majeur), ou de 5,4 (type 2 : SO_4^{2-}), jusqu'à 3. Le pH des solutions NO_3^- de types 1 et 2 augmente de 6,2 et 5,4 jusqu'à 6,7 et 6,8. Pour apprécier l'effet de ces diminutions du pH en milieu NH_4^+ , nous avons reproduit les expériences avec l'orge Martin, en ajoutant CaCO_3 à tous les milieux. Les pH des 4 milieux neufs sont alors les mêmes (7,5). Les valeurs extrêmes dans les milieux usagés sont 7,8 et 7,9 pour les milieux NO_3^- de types 1 et 2, et 7,4 pour les 2 milieux NH_4^+ . Le Tableau II montre que dans tous les cas, la croissance est stimulée par l'addition de CaCO_3 . Cette addition atténue les différences entre les effets des sources d'azote, et les effets des anions dominants (sauf en ce qui concerne le développement important des racines sur le milieu NO_3^- de type 1); mais en l'absence de carbonate, c'est encore NH_4^+ accompagné de SO_4^{2-} qui entraîne la croissance la plus faible. Dans la suite du texte, les résultats exposés sont obtenus en absence de CaCO_3 .

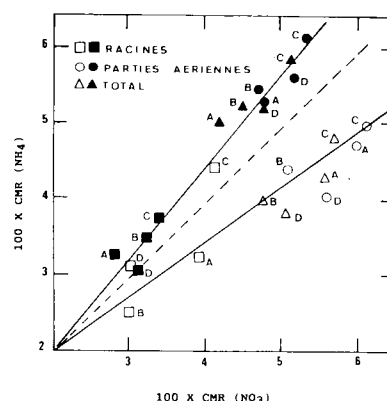


Fig. 2 Comparaison des effets de la source d'azote et de l'anion dominant sur la vitesse moyenne de croissance relative (CMR, j^{-1}). A, B, C et D : comme sur la Figure 1. Abscisses : culture sur NO_3^- ; ordonnées : sur NH_4^+ . Symboles pleins : milieux de type 1 (Tableau I; NH_4^+ accompagné de Cl^-). Symboles ouverts : milieu de type 2 (NH_4^+ accompagné de SO_4^{2-}). Les 2 lignes en trait continu sont les droites de régression pour les milieux de types 1 et 2; la ligne en tirets est la diagonale.

Tableau II. Effets de l'addition de CaCO_3 aux milieux sur la croissance de l'orge Martin. Les valeurs sont les masses de matière sèche (mg par plante), mesurées à la récolte finale (35 j). Les plantes étaient cultivées depuis 23 j sur les milieux indiqués. Moyennes de 6 pots contenant chacun 7 plantes, et intervalles de confiance au seuil de 95%. Les désignations des différents milieux font référence à la source de N (NO_3^- et NH_4^+) et à l'anion qui accompagne NH_4^+ (Cl^- et SO_4^{2-}).

Organes	Milieux sans CaCO_3				Milieux avec CaCO_3			
	Type 1		Type 2		Type 1		Type 2	
	NO_3^-	NH_4^+ (Cl^-)	NO_3^-	NH_4^+ (SO_4^{2-})	NO_3^-	NH_4^+ (Cl^-)	NO_3^-	NH_4^+ (SO_4^{2-})
PA	118 ± 8	96 ± 4	132 ± 20	62 ± 9	149 ± 24	154 ± 23	139 ± 16	132 ± 23
R	26 ± 5	18 ± 2	27 ± 4	16 ± 3	91 ± 14	39 ± 7	41 ± 7	32 ± 6

PA : parties aériennes
R : racines

Economie d'eau

Comparé au traitement NO_3^- , le traitement NH_4^+ de type 1 (Cl^-) n'affecte pas la teneur en eau des feuilles à la récolte finale, mais il diminue la quantité d'eau consommée par les plantes entre 12 j et 35 j (Tableau III). Il en résulte que l'efficacité de l'utilisation de l'eau pour la croissance (masse de MS produite par l d'eau utilisée) est augmentée. Par contre, lorsque NH_4^+ est accompagnée de SO_4^{2-} , la teneur en eau des feuilles est abaissée, sans que l'efficacité varie significativement. Dans ce cas, la diminution de la consom-

mation d'eau n'est due qu'à la baisse de croissance.

Assimilation de l'azote

La Figure 3 permet de comparer les effets de la source d'azote et de l'anion dominant sur les teneurs en azote réduit total ou en azote protéique, à la récolte finale. Cette représentation montre que ces 2 teneurs sont en général peu dépendantes de la nature des milieux. Ceci suggère que les effets des différents traitements sur la croissance ne s'exercent pas par l'intermédiaire

Tableau III. Effets de la source d'azote et de l'anion dominant sur les paramètres hydriques. Les plantes, âgées de 35 j à la récolte, sont cultivées depuis 23 j sur les milieux indiqués (*cf* Tableau I). A, B, C, D : comme sur la Figure 1. Moyennes de 4 pots contenant chacun 8 plantes pour chaque expérience. Teneur : teneur en eau des feuilles (ml.g^{-1} MS); consommation : quantité moyenne d'eau utilisée (ml.j^{-1} pour 100 plantes); efficacité : efficacité de l'utilisation de l'eau pour la croissance, g MS produit par l d'eau consommé (plante entière).

Paramètres	Source d'azote : NO_3^-				Source d'azote : NH_4^+			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Milieux de type 1 (NH_4^+ accompagné par Cl^-)								
Teneur	7,7 ± 0,4	8,3 ± 0,3	8,3 ± 0,7	10,1 ± 0,8	8,6 ± 0,3	9,7 ± 0,6	8,6 ± 0,2	10,3 ± 0,3
Consommation	387 ± 9	243	383 ± 144	244	274 ± 52	181	291 ± 87	175
Efficacité	0,74 ± 0,05	1,13	0,77 ± 0,11	1,22	1,36 ± 0,24	2,05	1,28 ± 0,30	1,56
Milieux de type 2 (NH_4^+ accompagné par SO_4^{2-})								
Teneur	9,3 ± 0,3	9,4 ± 0,3	10,8 ± 0,6	11,5 ± 0,5	6,0 ± 0,6	6,6 ± 0,1	6,7 ± 0,7	7,7 ± 0,5
Consommation	276 ± 16	248 ± 61	213 ± 9	204 ± 22	162 ± 20	130 ± 22	142 ± 8	109 ± 35

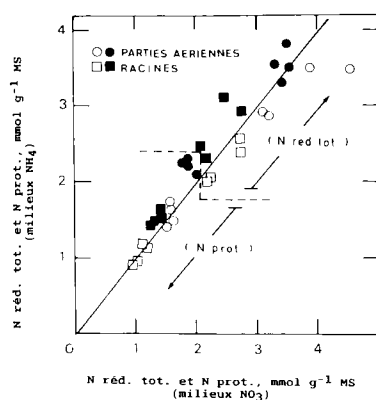


Fig. 3. Comparaison des effets de la source d'azote et de l'anion dominant sur les accumulations de N réduit et de N protéique. Chaque point met en relation les teneurs mesurées sur des plantes âgées de 35 j, cultivées sur des milieux différant par la source d'azote (NO_3^- et NH_4^+). Symboles pleins : milieux de type 1 (Tableau I; NH_4^+ accompagné de Cl^-). Symboles ouverts : milieu de type 2 (NH_4^+ accompagné de SO_4^{2-}). Pour chaque traitement, les 4 points correspondent à 2 expériences avec l'orge Martin et deux expériences avec l'orge Qerqena (moyenne de 4 pots contenant chacun 8 plantes pour chaque expérience). La droite est la diagonale.

re de perturbations de l'assimilation de l'azote ou de la synthèse protéique.

Equilibres ioniques

Les concentrations équivalentaires globales des cations et des anions dans les parties aériennes sont comparées sur la Figure 4. Dans ces calculs, la valence moyenne du phosphate est prise égale à $-1,5$ (ce qui revient à supposer que le pH moyen est proche de la neutralité). Cette approximation repose sur le fait que le phosphate est réparti entre le cytoplasme (pH supérieur à 7) et la vacuole (acide). L'écart entre la somme des cations C^+ et celle des anions A^- représente une estimation des ions organiques R^- ou R^+ . En présence de NO_3^- , il y a toujours un excès important de C^+ sur A^- , c'est-à-dire une accumulation de R^- . Au contraire, sur milieu NH_4^+ , les quantités de C^+ et A^- sont relativement proches (avec parfois une légère accumulation de R^+). Cela correspond au remplacement de l'accumulation des anions organiques par une accumulation d'anions minéraux, surtout Cl^- ou SO_4^{2-} .

Transports d'équivalents H^+ et assimilation de N

Les quantités d'azote assimilé sont estimées par différence entre les quantités de N réduit par plante à 12 j et à 35 j. Le Tableau IV rassemble les valeurs obtenues, ainsi que les valeurs des échanges de H^+ entre la plante et le milieu pour

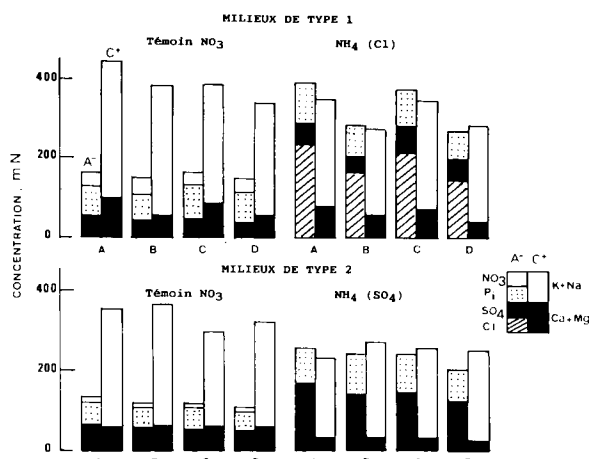


Fig. 4. Effets de la source d'azote et de l'anion dominant sur l'accumulation ionique dans les parties aériennes. Les concentrations moyennes sont obtenues en divisant les quantités d'ions (μeq) par les quantités d'eau (ml) dans les tissus. Les plantes sont âgées de 35 j à la récolte. Les noms des milieux au-dessus des histogrammes font référence aux sources d'azote et aux anions dominants (cf. Tableau I). A, B, C et D : comme sur la Figure 1.

la période 12 j – 35 j. Elles sont obtenues par des titrations des milieux à chaque renouvellement. On observe des absorptions nettes d'équivalents H^+ (ou exsorptions de OH^-) quand la source de N est NO_3^- , et des exsorptions nettes d'équivalents H^+ dans le cas de NH_4^+ . Les rapports (quantité de N réduit)/(quantité de H^+ échangé) sont $0,46 \pm 0,11$ et $0,45 \pm 0,16$ pour les 2 milieux NO_3^- et $0,97 \pm 0,22$ et $1,17 \pm 0,37$ pour les milieux NH_4^+ contenant respectivement Cl^- et SO_4^{2-} comme anions majeurs. Compte tenu de l'imprécision des mesures des flux nets de H^+ sur une longue période, on peut considérer que 0,5 mole OH^- est excrétée par mole de NO_3^- , et 1 mole H^+ est excrétée par mole NH_4^+ assimilé.

Accumulation des osmotocums

L'estimation de la part des ions dans l'osmolarité des tissus est faite à partir des concentrations moyennes dans les parties aériennes (Fig. 4). Ceci nécessite plusieurs hypothèses. On admet que, parmi les cations, Ca^{2+} et Mg^{2+} sont en grande partie liés à des macromolécules, et ne participent pas au potentiel osmotique. Tous les anions sont comptés comme osmotiquement actifs. Lorsque le bilan ionique est équilibré par R^- (Fig. 4), on calcule la molarité de ces acides en leur attribuant une valence moyenne de $-1,5$. Chez l'orge, la forme dominante de R^- est le malate, accumulé dans la vacuole (Jacobson, 1955; Jacoby & Laties, 1971). Les pK de l'acide malique sont 3,4 et 5,2 : la valence moyenne $-1,5$ correspond donc à un pH vacuolaire de 5,2,

Tableau IV. Relation entre l'assimilation de N et les échanges d'équivalents H⁺. L'assimilation d'azote (J_{Nass}) est estimée par la différence entre les quantités de N réduit accumulées à 12 j et 35 j (voir le texte). L'échange net de H⁺ sur cette période (J_{H^+}) est déterminé par titration des milieux de culture à chaque renouvellement (valeurs négatives : efflux net). Toutes les valeurs sont exprimées en $\mu\text{eq}\cdot\text{j}^{-1}$ pour 100 plantes. A, B, C, D : comme sur la Figure 1. Moyennes de 4 pots contenant chacun 8 plantes pour chaque expérience.

Flux nets moyens	Source d'azote : NO_3^-				Source d'azote : NH_4^+			
	A	B	C	D	A	B	C	D
Milieux de type 1 (NH_4^+ accompagné par Cl^-)								
J _C	1032	907	921	924	2528	2215	2294	1697
J _A	1278	1208	1395	1229	1343	1041	1146	823
J _C -J _A	-246	-301	-474	-305	1185	1174	1148	874
J _{Nass}	898	817	993	817	1390	1189	1219	846
J _{H⁺}	404	438	409	406	-1196	-1359	-1035	-860
Milieux de type 2 (NH_4^+ accompagné par SO_4^{2-})								
J _C	2019	1255	1485	1021	1242	881	1059	655
J _A	2359	1680	1786	1624	510	374	401	286
J _C -J _A	-340	-425	-301	-603	732	507	658	369
J _{Nass}	1636	1180	1224	1185	774	578	672	378
J _{H⁺}	863	450	660	414	-935	-701	-911	-483

valeur raisonnable. Les composés azotés réduits solubles (acides aminés, amides, etc.) sont estimés par différence entre l'azote total réduit et l'azote protéique, en comptant 1 osmol pour 1 mole N. Enfin, lorsque les cations organiques R⁺ sont présents (A⁻ > C⁺), on admet qu'ils sont monovalents et déjà décomptés dans les composés azotés réduits solubles. La Figure 5 montre les résultats de ces estimations. L'osmolarité ainsi calculée est sensiblement la même pour les

plantes cultivées en présence de NO_3^- et NH_4^+ , quand Cl^- est l'anion dominant. Ceci résulte du remplacement, dans les tissus, de R⁻ (milieux NO_3^-) par Cl^- (milieu NH_4^+) (Fig. 4). Lorsque NH_4^+ est accompagné SO_4^{2-} , l'osmolarité calculée est légèrement plus faible que dans les autres cas. La part due aux ions est abaissée, mais celle des composés azotés est plus importante.

DISCUSSION

Les effets de la source d'azote et de l'anion dominant ont été étudiés sur 2 variétés, et pour chacune, avec 2 expériences indépendantes de longue durée. La présentation des résultats individuels par répétition et par variété (A, B, C, D) permet d'illustrer la généralité des comportements analysés ci-après. Nos résultats montrent que la substitution de NH_4^+ à NO_3^- comme source d'azote n'entraîne pas obligatoirement une réduction de la vitesse de croissance. La capacité de la plante à croître rapidement sur milieu NH_4^+ dépend de la présence d'un anion perméant dans le milieu (Cl^- , ici) (Fig. 2). Effectivement, les anions R⁻, qui constituent la majorité de l'accumulation anionique dans les traitements NO_3^- , sont quasiment absents quand les plantes sont cultivées sur milieu NH_4^+ , et seule l'accumulation de Cl^- permet de restaurer le niveau d'accumula-

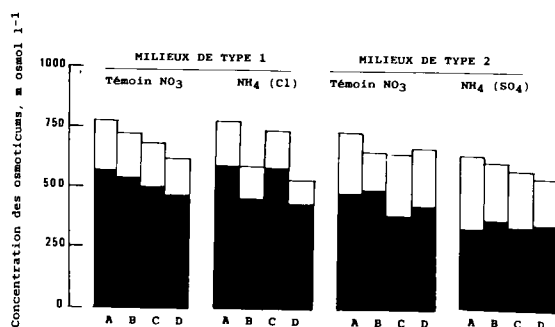


Fig. 5. Effets de la source d'azote et de l'anion dominant sur l'accumulation des osmoticums. Les histogrammes donnent les estimations de l'osmolarité moyenne dans les parties aériennes revenant aux ions minéraux et organiques (en noir), et aux composés azotés réduits solubles. Ces estimations sont obtenues à partir des données de la Figure 4, et des dosages d'azote réduit soluble (voir le texte). Les plantes sont âgées de 35 j à la récolte. Les noms des milieux au-dessus des histogrammes font référence aux sources d'azote et aux anions dominants (*cf* Tableau I). A, B, C et D : comme sur la Figure 1.

tion anionique (Fig. 4) à une valeur comparable à celle qu'on observe en milieu NO_3^- . Par rapport au témoin NO_3^- , le milieu NH_4^+ accompagné de SO_4^{2-} provoque une baisse du niveau d'accumulation anionique de l'ordre de 25%, d'après la Figure 4. Mais, en réalité, la restriction de l'alimentation anionique est beaucoup plus sévère : la quantité d'anions prélevée par chaque plante est diminuée d'environ 75% (Tableau IV), car le traitement entraîne une diminution de l'ordre de 40% de la production de biomasse (Fig. 1).

Les estimations des quantités de R^- produites (bilans $\text{J}_C - \text{J}_A$; Tableau IV) et des accumulations de R^- (Fig. 4) sont indirectes. Néanmoins, il est peu probable qu'elles soient affectées d'erreurs capables de remettre en cause la conclusion précédente. En effet, elles sont corroborées par la comparaison des transports nets d'équivalents H^+ et des quantités de N assimilées (Tableau IV). L'observation d'environ 0,5 OH^- exsorbé par NO_3^- assimilé, signifie que la moitié des équivalents OH^- libérés par l'assimilation de NO_3^- sont conservés sous forme de R^- . Sur milieu NH_4^+ , (environ 1 H^+ exsorbé par NH_4^+ assimilé), seuls les H^+ libérés par l'assimilation de NH_4^+ sont exsorbés : la part qui correspondrait éventuellement à une production nette de H^+ par carboxylation est donc négligeable.

L'accumulation d'anions exogènes semble nécessaire pour que l'osmolarité moyenne dans les tissus et l'hydratation de ces derniers restent semblables à celles des plantes cultivées en présence de NO_3^- (Fig. 4 et Tableau III). Les résultats du Tableau III confirment également que le défaut d'hydratation des feuilles, observé quand NH_4^+ est accompagné par SO_4^{2-} , résulte d'une difficulté de ces dernières à retenir l'eau plutôt que d'une mauvaise alimentation en eau. En effet, la valeur élevée du coût hydrique de la croissance (par rapport au milieu NO_3^- témoin) indique que les quantités d'eau qui ont traversé les feuilles (à croissance égale) ont été les mêmes sur milieu NH_4^+ et sur milieu NO_3^- .

Notre conclusion est que la réduction de croissance souvent observée sur milieu NH_4^+ ne provient pas spécifiquement de l'impossibilité de produire et accumuler des anions organiques (Salsac *et al.*, 1987). Elle résulte de la difficulté générale d'accumuler des anions. Dans la plupart des solutions nutritives utilisées par les auteurs cités dans l'Introduction, NH_4^+ était accompagné de SO_4^{2-} , anion peu perméant. Dans ce cas, les anions exogènes ne pouvaient pas compenser le déficit d'anions endogènes dû à l'assimilation de NH_4^+ .

RÉFÉRENCES

- Arnon D.I. & Hoagland D.R. (1940) Crop production in artificial solutions and in soils with special reference to factors affecting yields and absorption of inorganic nutrients. *Soil Sci.* 50, 463-485
- Asher C.J. & Loneragan J.F. (1967) Response of plants to phosphate concentration in solution culture. I. Growth and phosphorus content. *Soil Sci.* 103, 225-232
- Aslam S.M. (1984) Effect of nutrient solution pH and N source (NH_4/NO_3) on the growth and elemental contents of rice plants. *Agronomie* 4, 361-365
- Barker A.V., Volk A.J. & Jackson W.A. (1966) Root environment acidity as a regulatory factor in ammonium assimilation by the bean plant. *Plant Physiol.* 41, 1193-1199
- Bennett A.C. & Adams F. (1970) Concentration of NH_3 (aq.) required for incipient NH_3 toxicity to seedlings. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 34, 259-263
- Blair G.J., Miller M.H. & Mitchell W.A. (1970) Nitrate and ammonium sources of nitrogen for corn and their influence on the intake of other ions. *Agron. J.* 64, 530-532
- Chaillou S., Morot-Gaudry J.F., Salsac L., Lesaint C. & Jolivet E. (1986) Compared effects of NO_3^- or NH_4^+ on growth and metabolism of french bean. *Physiol. Vég.* 24, 679-687
- Coïc Y., Lesaint C. & Leroux F. (1961) Comparaison de l'influence de la nutrition nitrique et ammoniacale combinée ou non avec une déficience en acide phosphorique, sur l'absorption et le métabolisme des anions et cations, et plus particulièrement des acides organiques chez le maïs. Comparaison du maïs et de la tomate quand à l'effet de la nature et de l'alimentation azotée. *Ann. Physiol. Vég.* 3, 141-163
- Cox W.J. & Reisenauer H.M. (1973) Growth and ion uptake by wheat supplied with nitrogen as nitrate, or ammonium, or both. *Plant Soil* 38, 363-380
- Dijkshoorn W., Lathwell D.J. & De Witt C.T. (1968) Temporal changes in carboxylate content of raygrass with stepwise changes in nutrition. *Plant Soil* 29, 369-390
- Jackson M.L. (1958) Nitrogen determination for soils and plant tissues. Nitrate determination. In : *Soil Chemical Analysis*. Prentice Hall Inc., Englewood Cliff, N.J., USA, pp. 181-204
- Jacobson L. (1951) Maintenance of iron supply in nutrient solution by a single addition of ferric-potassium-ethylen-diamine-tetracetate. *Plant Physiol.* 26, 411-413
- Jacobson L. (1955) Carbon dioxide fixation and ion absorption in barley roots. *Plant Physiol.* 30, 264-269
- Jacoby B. & Laties G.G. (1971) Bicarbonate fixation and malate compartmentation in relation to salt-induced stoichiometric synthesis of organic acid. *Plant Physiol.* 47, 525-531
- Kirkby E.A. & Mengel K. (1967) Ionic balance in different tissues of the tomato plant in relation to nitrate, urea, or ammonium nutrition. *Plant Physiol.* 46, 6-14
- Lewis O.A.M., James D.M. & Hewitt E.J. (1982) Nitrogen assimilation in barley (*Hordeum vulgare* L. cultivar Mazurka) in response to nitrate and ammonium nutrition. *Ann. Bot.* 49, 39-49
- Lewis O.A.M., Soares M.I.M. & Lips S.H. (1986) A photosynthetic and ^{15}N investigation of the differential

- growth response of barley to nitrate, ammonium, and nitrate + ammonium. In : *Fundamental, Ecological, and Agricultural Aspects of Nitrogen Metabolism in Higher Plants* (H. Lambers, J.J. Neetson & I. Stulen eds) Martinus Nijhoff Publishers for the Commission of the European Communities, pp. 295-300
- Mc Clung G. & Frankenberger W.T. Jr. (1987) Nitrogen mineralization rates in saline versus salt-amended soils. *Plant Soil*, 104, 13-21
- Perby H. & Jensen P. (1983) Varietal differences in uptake and utilization of nitrogen and other macroelements in seedlings of barley, *Hordeum vulgare* L. *Physiol. Plant.* 58, 223-230
- Raven J.A. (1985a) pH regulation in plants. *Sci Progr.* Oxford, 69, 495-509
- Raven J.A. (1985b) Regulation of pH and generation of osmolarity in vascular plants. A cost-benefit analysis in relation to efficiency of use of energy, nitrogen, and water. *New Phytol.* 101, 25-77
- Salsac L., Chaillou S., Morot-Gaudry J.F., Lesaint C. & Jolivet E. (1987) Nitrate and ammonium nutrition in plants. *Plant Physiol. Biochem.* 25, 805-812
- Troelstra S.R. Van Dijk K. & Blacquièrre T. (1985) Effect of N source on proton excretion, ionic balance, and growth of *Alnus glutinosa* (L.) Goertner : comparison of N₂ fixation with single and mixed sources of NO₃ and NH₄. *Plant Soil* 84, 361-385
- Wallace A., Romney E.M., Kleinkopf G.E. & Soufi S.M. (1978) Uptake of mineral forms of nitrogen by desert plants. In : *Nitrogen in Desert Ecosystems*. (West N.E. & Skuijins J., eds.) Utah State University, IBP Synthesis Series, 9, pp. 130-151
- Woolhouse H.W. & Hardwick M.J. (1966) The growth of tomato seedlings in relation to the form of the nitrogen supply. *New Phytol.* 65, 518-526