

L'ACCUMULATION DES NITRATES DANS LES TISSUS VÉGÉTAUX FORMÉS EN IMMERSION DANS L'EAU

par M. Raoul COMBES

Il a été établi [1], en opérant sur le *Veronica Anagallis*, que les tissus qui se construisent dans l'eau accumulent des quantités considérables de nitrates — pouvant atteindre chez cette espèce jusqu'à 10 p. 100 des constituants totaux de la matière végétale sèche — tandis que ceux qui se forment pendant le même temps dans l'air n'en contiennent que de très faibles quantités ou même en sont entièrement dépourvus.

Nous avons émis l'opinion que ce phénomène d'accumulation des nitrates, qui se retrouve d'ailleurs, chez les plantes développées à l'air, dans les tissus jeunes ainsi que dans les organes croissant à des éclaircissements faibles, pouvait être en relation avec certains caractères physiques ou chimiques des tissus : faible consistance, faible pression osmotique, hydratation élevée, pauvreté en matériaux inertes accumulés, ces caractères conférant aux constituants cellulaires des facultés spéciales d'absorption et de fixation des nitrates, ainsi d'ailleurs que d'autres sels minéraux.

Une étude ultérieure [2], entreprise sur le Radis, a montré que, parmi ces caractères, la faible concentration des tissus en substances dissoutes paraît être l'un de ceux qui jouent le rôle le plus important ; elle interviendrait indirectement par son action sur la genèse et sur la structure physico-chimique de certains colloïdes cellulaires. Les colloïdes se formant dans des tissus de faible pression osmotique auraient des facultés spéciales de fixation des sels minéraux et des nitrates en particulier.

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 29.654-271

Cote : 8

Déjà en 1894, DEMOUSSY [3] avait pensé à un rôle possible des colloïdes du protoplasma vivant dans la fixation des nitrates par les tissus. Plus récemment (1936) BÜNNING [4] d'une part et ITZEROTT [5] d'autre part ont émis l'opinion que l'accumulation de nitrates constatée dans les hyphes de *Sterigmatocystis nigra* devait dépendre de leur adsorption par les colloïdes du suc cellulaire.

En vue de réunir de nouvelles données sur le phénomène d'enrichissement des tissus en nitrates sous l'action du milieu aquatique nous avons tout d'abord entrepris de suivre plus étroitement les étapes successives de ce phénomène à partir du moment où les plantes sont immergées dans l'eau.

Des semis de *Veronica Anagallis* ont été préparés. Les plantules parvenues au stade de quatre feuilles ont été repiquées sur un sol exposé en plein air ; elles s'y sont développées jusqu'au début de la floraison. A ce stade les plantes ont été immergées dans l'eau d'un bassin et, à partir de cette immersion, quelques pieds ont été récoltés, d'abord chaque jour, puis à des intervalles de temps un peu plus longs ; ils ont été séchés sous pression réduite en présence de chlorure de calcium, puis soumis au dosage de l'azote ammoniacal d'une part et de l'azote nitrique d'autre part. Le dosage de l'azote nitrique a été effectué en transformant les nitrates en ammoniacque au moyen de l'alliage de Dewarda et en déterminant ensuite les quantités d'ammoniacque formées.

Le tableau ci-après indique les résultats obtenus, exprimés en milligrammes d'azote ammoniacal ou nitrique contenus dans 100 gr. de substance végétale sèche.

Ces résultats montrent que les nitrates augmentent légèrement dès les premiers jours de l'immersion des plantes, ce qui indique que la vie des tissus sous l'eau est favorable à l'accumulation des nitrates même si ces tissus ont été construits dans l'air, mais ils montrent surtout que les accumulations importantes ne débutent qu'après une semaine de séjour sous l'eau, c'est-à-dire quand commencent à apparaître de nouveaux tissus formés dans ce milieu. Enfin ils permettent de constater que, dans ces tissus, l'enrichissement très important en nitrates est accompagné d'un accroissement de l'azote ammoniacal.

	TENEUR DES TISSUS EN	
	AZOTE AMMONIACAL	AZOTE NITRIQUE
Avant l'immersion.	7,7	7,7
Après 24 heures d'immersion	0	15,4
— 2 jours —	0	15,4
— 3 jours —	3,1	22,3
— 4 jours —	3,8	29,9
— 5 jours —	2,9	30,1
— 6 jours —	3,6	37,5
— 7 jours —	3,5	74,9
— 11 jours —	3,6	116
— 16 jours —	3,6	129
— 22 jours —	7,2	379
— 30 jours —	7,2	530
— 37 jours —	10,6	714
— 44 jours —	63,6	739

Nous avons jusqu'ici admis que l'enrichissement des tissus en nitrates résultait d'un accroissement de l'absorption de ces sels dans le milieu extérieur et de leur fixation par certains constituants colloïdaux des cellules. On ne peut toutefois écarter sans examen la possibilité d'une formation de nitrates dans les tissus aux dépens de certains des autres constituants azotés des cellules, cette formation de nitrates pouvant être accélérée par l'action qu'exerce le milieu aquatique sur le fonctionnement métabolique des tissus. La production de nitrates à l'intérieur des organes à partir d'autres constituants azotés a été signalée en effet par VICKERY, PUCKER, WAKEMAN et LEAVENWORTH en 1933 [6], confirmée par MAC KEE et LOBB en 1938 [7], ainsi que par PEARSALL et BILLIMORIA en 1937 [8].

VICKERY et ses collaborateurs ont démontré qu'au cours du traitement industriel des feuilles de Tabac, la teneur des feuilles en nitrates augmente de 50 p. 100 pendant 60 à 80 heures. MAC KEE et LOBB, en faisant subir à des feuilles de Bette et de Tomate un traitement semblable à celui auquel on soumet les feuilles de Tabac, ou simplement en les laissant se dessécher lentement, leur pétiole plongeant dans l'eau, et en les soumettant ensuite à l'analyse, ont retrouvé des faits analogues. Il s'agit là de phénomènes qui se produisent dans des tissus végétaux morts ou en train de

7 mg. 7 pour
100g.
0g.007

mourir, et qui pourraient ne jamais avoir lieu au cours de la vie normale des cellules; en outre il n'est pas absolument démontré que des Bactéries du groupe des Nitrobactéries par exemple soient totalement absentes des substances végétales étudiées et qu'elles n'y jouent aucun rôle.

Ces réserves ne paraissent plus subsister dans les expériences de PEARSALL et BILLIMORIA, qui démontrent la formation de nitrates à partir de l'ammoniaque chez des feuilles de Narcisse séparées de la plante. L'enrichissement en nitrates constaté par ces auteurs à partir de l'ammoniaque paraît bien être un phénomène biologique se produisant dans des cellules vivantes de plante supérieure.

L'enrichissement rapide des plantes immergées démontré par les résultats exposés plus haut pourrait donc s'expliquer, non seulement par une absorption plus active de ces sels dans le milieu extérieur, mais en outre par une transformation sur place de certains de leurs constituants azotés. Il était nécessaire de vérifier expérimentalement si cette dernière source de nitrates pouvait être considérée comme devant être retenue. L'expérience a été réalisée dans les conditions suivantes.

Des pieds de *Veronica Anagallis* ont été cultivés sur un sol à l'air libre jusqu'à l'époque de la floraison. On les a alors enlevés du sol avec précaution de façon à endommager le moins possible l'appareil racinaire et on les a soigneusement lavés à l'eau distillée. Deux pieds ont été desséchés et soumis au dosage de l'ammoniaque et des nitrates. Trois autres furent immergés dans un aquarium contenant les sels du liquide de Knop sauf le nitrate de calcium (remplacé par du chlorure de calcium) mis en solution à une faible concentration dans l'eau distillée (chlorure de calcium 0 gr.250, phosphate monopotassique 0 gr. 125, sulfate de magnésium 0 gr. 125, phosphate de fer 0gr. 005, dans 5 litres d'eau). Les plantes ainsi immergées dans un liquide dépourvu d'azote y ont été successivement récoltées, l'une après 7 jours d'immersion, une autre après 12 jours et la dernière après 24 jours. Elles ont été séchées et soumises au dosage de l'ammoniaque et des nitrates. Les résultats obtenus sont réunis dans le tableau suivant; ils sont exprimés en milligrammes d'azote contenu dans 100 gr. de substance sèche.

	AZOTE AMMONIACAL	AZOTE NITRIQUE
1 ^{re} plante développée à l'air libre	15,59	23,41
2 ^e plante développée à l'air libre	13,75	10,47
Plante dev. à l'air puis immergée 7 jours.....	4,50	2,96
Plante dev. à l'air puis immergée 12 jours.....	4,36	6,15
Plante dev. à l'air puis immergée 24 jours.....	7,55	9,29

Les Véroniques immergées dans un milieu dépourvu de nitrates ne s'enrichissent donc pas en nitrates; les faibles différences constatées sont de l'ordre des différences individuelles. Par conséquent chez cette plante vivant en immersion il ne semble pas que des nitrates puissent prendre naissance aux dépens des autres constituants azotés des tissus. L'enrichissement en nitrates constaté chez des individus immergés dans l'eau courante, et dont les racines se développaient dans un sol, doit donc être attribué à une absorption de nitrates dans le milieu extérieur, terre ou eau.

Revenant à l'opinion que nous avons antérieurement formulée, nous avons pensé que si le pouvoir d'accumuler les nitrates est réellement en relation avec la nature des colloïdes cellulaires qui prennent naissance dans certaines conditions de milieu, il doit être possible de provoquer des accumulations d'importance très différente de ces sels dans deux parties d'un même individu en obligeant les organes de l'une de ces parties à se construire sous l'eau et l'autre à se construire dans l'air.

L'expérience a été réalisée sur la même espèce *Veronica Anagallis*. La plante a été tout d'abord cultivée sur un sol, la tige feuillée se développant dans l'air; au moment où les fleurs commençaient à apparaître, quelques plantes furent récoltées et soumises au dosage des nitrates, tandis que les autres furent immergées dans l'eau. Dans ces conditions de nouvelles pousses se développèrent, produisant des tissus qui se construisaient par conséquent sous l'eau. Après cinq semaines de développement dans ces conditions les plantes furent récoltées et, sur chaque pied, on sépara autant qu'il était possible les parties les plus âgées, formées dans l'air, des parties jeunes, formées dans l'eau. Enfin l'azote nitrique fut dosé séparément dans chacun des deux lots.

Les résultats obtenus sont indiqués ci-dessous. Ils sont exprimés en milligrammes d'azote nitrique contenu dans 100 gr. de substance végétale sèche.

	N NITRIQUE
Plantes développées à l'air jusqu'à la floraison	22
Plantes développées sou. l'eau (Parties âgées formées dans l'air	709
à partir de la floraison. (Parties jeunes formées dans l'eau	1308

D'autre part, on a réalisé l'expérience inverse. Des cultures de *Veronica Anagallis* ont été commencées en immersion dans l'eau et, lorsque les plantes eurent acquis un assez grand développement (les tiges ayant atteint environ 40 cm. de longueur), on a laissé les extrémités des tiges émerger et continuer leur croissance dans l'air. Lorsque ces rameaux commencèrent à former leurs premières fleurs, la culture fut arrêtée et, sur chaque plante, la partie inférieure, plus âgée, formée sous l'eau, fut séparée de la partie supérieure, plus jeune, formée dans l'air. Ici encore l'azote nitrique fut dosé séparément dans chacun des deux lots d'organes.

Les résultats obtenus ont été les suivants :

	N NITRIQUE
Parties inférieures, plus âgées, formées dans l'eau	1515
Parties supérieures, plus jeunes, formées dans l'air.	785

Des résultats de ces deux expériences on peut tirer les conclusions suivantes :

1° Comme nous l'avons supposé, il est possible de provoquer des accumulations de nitrates d'importance très différente chez une même plante en obligeant l'une des parties à se construire dans l'eau et l'autre partie à se construire dans l'air.

2° Les tissus qui se forment dans l'eau sont toujours notablement plus riches en nitrates que les tissus qui se forment dans l'air. Les parties de la plante développées dans l'eau — partie supérieure dans la première expérience et partie inférieure dans la seconde — contiennent près de deux fois plus d'azote nitrique que les parties

développées dans l'air : 1308 mmgr et 1515 mmgr. contre 709 mmgr. et 785 mmgr. Ces résultats confirment et complètent ceux que nous avons fait connaître antérieurement.

3° L'âge des organes n'intervient pas de façon appréciable, seules jouent un rôle déterminant les conditions de milieu dans lesquelles croissent les organes, puisque, dans la première expérience, ce sont les parties les plus jeunes, et, dans la seconde au contraire, les parties les plus âgées qui, construites sous l'eau, présentent une notable supériorité dans l'accumulation des nitrates.

4° Les parties de plantes formées dans l'air puis immergées dans l'eau (première expérience) s'enrichissent notablement en nitrates après qu'elles ont subi l'action du milieu aquatique ; leur azote nitrique s'élève de 0,022 p. 100 à 0,709 p. 100. Nous retrouvons là, mais beaucoup plus accentués, les faits constatés dans la première partie de ces recherches. Dans l'interprétation de ces résultats il faut tenir compte que la récolte d'organes formés dans l'air peut contenir une certaine proportion d'organes formés dans l'eau ; il est en effet difficile de séparer dans les parties inférieures des plantes formées dans l'air, puis immergées dans l'eau, les organes réellement construits dans l'air des organes ou parties d'organes qui ont pu se développer sur ces parties inférieures pendant leur séjour sous l'eau. Il est en outre possible que, même chez les organes adultes, certains colloïdes cellulaires subissent des modifications appréciables, pendant le séjour des plantes dans l'eau, modifications qui les rendent plus aptes à absorber et à fixer les nitrates. Il se peut enfin que chez ces plantes dont la partie formée dans l'air, puis immergée, se trouve en connexion normale avec la partie plus jeune formée dans l'eau, des phénomènes de migration de nitrates se produisent de la seconde, construite de telle façon qu'elle se gorge de nitrates, vers la première. Quel que soit le rôle joué par chacun de ces facteurs, ils ne paraissent pas pouvoir expliquer à eux seuls la différence constatée et il paraît nécessaire d'admettre, comme nous avons été amenés à le faire dans la première partie de ces recherches, que le milieu aquatique favorise dans une certaine mesure l'accumulation des nitrates même dans les tissus construits dans l'air.

5° Dans la seconde expérience — plantes ayant commencé à

se développer sous l'eau et continuant leur croissance dans l'air — nous constatons également chez les organes aériens au début de la floraison une teneur en azote nitrique bien supérieure (0,785 p. 100) à celle des plantes ayant évolué uniquement en milieu aérien depuis la germination jusqu'à ce stade (début de la première expérience 0,022 p. 100). Ici plusieurs des arguments invoqués dans le précédent paragraphe pour expliquer la haute teneur en nitrates des organes construits dans l'air puis immergés disparaissent : présence possible d'organes ou parties d'organes construits sous l'eau, modifications de colloïdes des tissus adultes sous l'action du milieu aquatique, action du milieu eau sur des organes adultes qui favoriserait l'accumulation des nitrates, mais l'un d'eux subsiste : migration de nitrates des parties immergées vers les parties se développant à l'air. A cette cause susceptible d'expliquer en partie la forte teneur en nitrates des organes émergés, il faut vraisemblablement en ajouter une autre, c'est l'action que doit exercer la partie inférieure des plantes, immergée, sur le métabolisme et la morphogénèse de la partie supérieure croissant dans l'air. Les tiges feuillées aériennes formées sur une plante dont la partie inférieure est immergée sont morphologiquement très différentes des tiges feuillées formées sur une plante dont la partie inférieure s'est constituée dans l'air. Un examen superficiel suffit pour s'en rendre compte. Les différences morphologiques constatées sont les résultantes de différences physico-chimiques certaines et ces dernières peuvent alors expliquer les différences de teneurs en nitrates constatées. Certains travaux de TEODORESCO [9], quoique relatifs à l'action de conditions différentes de celles qui nous occupent — il étudiait l'action du facteur lumière — nous fournissent des données extrêmement précieuses pour comprendre ce qui doit se passer ici.

TEODORESCO cultive diverses espèces végétales en pleine lumière, et lorsqu'elles ont acquis un certain développement, il engage le bourgeon terminal de leur tige dans une caisse obscure où ce bourgeon continue à croître ; ainsi, après quelques semaines, les plantes ont la partie inférieure de leur tige feuillée exposée à la lumière et la partie supérieure à l'obscurité. Il compare alors la structure des tissus de la tige et de ceux des feuilles de cette dernière région aux tissus des mêmes organes développés sur des individus exposés, les uns entièrement à l'obscurité, les autres

entièrement à la lumière. Il constate que, par le développement de leurs feuilles en surface et en épaisseur, par la différenciation du tissu palissadique et du tissu conducteur, par le fonctionnement de l'assise génératrice libéro-ligneuse, par l'intensité de la lignification, par leur richesse en dépôts amylicés, les sommets de tiges feuillées développés à l'obscurité au-dessus de bases maintenues à la lumière se rapprochent beaucoup plus des mêmes organes appartenant aux individus soumis entièrement à l'action de la lumière que de ceux appartenant aux individus soumis entièrement à l'action de l'obscurité. Ainsi, chez ces plantes se développant la base à la lumière et le sommet à l'obscurité, les parties de tiges et les feuilles qui se sont construites à l'obscurité ont réalisé des structures d'organes voisines de celles des organes construits à la lumière. Il faut en voir les causes dans le fait qu'elles ont reçu leur ravitaillement en matériaux nutritifs des parties inférieures de la plante, vivant à la lumière.

Les facteurs du milieu extérieur influent sur la morphogénèse par l'intermédiaire de leur action sur le fonctionnement physiologique et sur l'élaboration des constituants chimiques des tissus. Le complexe de substances absorbées et élaborées par les organes soumis à l'action de la lumière, qui transite vers les organes soustraits à cette action, et assure leur approvisionnement, leur apporte non seulement les matériaux indispensables à leur croissance, mais en outre, par la nature des substances qui le composent et par les concentrations qu'atteignent ses divers constituants dans les liquides circulants, il leur apporte aussi les agents qui en dirigent la construction. Ce complexe, venant d'organes fonctionnant à la lumière, impose donc dans les organes où il parvient, malgré qu'ils croissent à l'obscurité, une morphogénèse d'organes de lumière.

Ce sont des phénomènes de même ordre qui se produisent lorsque des plantes amphibies sont cultivées de telle sorte que leurs parties inférieures vivent dans l'eau et leurs parties supérieures dans l'air. Au moment où l'extrémité des tiges feuillées commence à émerger à la surface de l'eau et à se développer dans l'air, les liquides circulants qui les approvisionnent en matériaux nutritifs viennent des organes immergés ; par la nature des substances qu'ils apportent, par la concentration à laquelle se trouve chacune de ces substances, par leur pression osmotique, ils influent sur le

fonctionnement physiologique, sur la structure chimique et sur la morphogénèse des tiges feuillées en voie de développement dans l'air, aussi ces organes offrent-ils des caractères très différents de ceux des tiges feuillées produites par des bases de plantes construites dans l'air; beaucoup de ces caractères doivent être intermédiaires entre ceux des plantes d'eau et ceux des plantes d'air.

L'action des liquides circulants venant des organes immergés doit être surtout importante au début du développement des pousses émergées; elle s'atténue dans la suite à mesure que le volume des parties vivantes à l'air devient plus considérable et que, dans l'ensemble de la plante, le métabolisme de type aérien prend plus d'importance et vient diminuer les effets du métabolisme de type aquatique, mais cette action demeure toujours assez accusée pour être appréciable dans la morphogénèse. Il est donc normal qu'elle apparaisse également dans la construction chimique des tissus et notamment dans l'accumulation des nitrates.

Les premiers travaux entrepris sur ces questions mettent en évidence une sensibilité très remarquable des plantes amphibies à l'action du milieu extérieur en ce qui concerne leur pouvoir d'accumuler l'azote nitrique dans leurs tissus. L'étude de ces plantes dans des milieux divers doit permettre de réunir des données nouvelles sur les problèmes d'absorption et de fixation des nitrates par les tissus végétaux.

BIBLIOGRAPHIE

1. COMBES (R.), BRUNEL (A.) et CHABERT (Mlle A.). — Action du milieu aquatique sur le métabolisme des protides. *C. R. Acad. des Sciences*, 215, p. 69, 1942.
2. COMBES (R) et MALZIEU (Mlle M.). — Action de la concentration du milieu sur l'accumulation de l'azote minéral par les tissus végétaux. *C. R. Acad. des Sciences*, 216, p. 816, 1943.
3. DEMOUSSY. — Les nitrates dans les plantes vivantes. *C. R. Acad. Sciences*, 118, p. 79, 1894.
— Sur l'assimilation des nitrates par les végétaux. *C. R. Acad. Sciences*, 119, p. 868, 1894.
4. BUNNING (E.). — Über die Farbstoff - und Nitrat - aufnahme bei *Aspergillus niger*. *Flora*, 31, p. 87, 1936.
5. ITZEROTT (D.). — Über die Bedingungen der Stickstoffaufnahme, vor allem der Nitrataufnahme bei *Aspergillus niger*. *Flora*, 31, p. 60, 1936.
6. VICKERY (H. B.), PUCKER (G. W.), WAKEMAN (A. J.) et LEAVENWORTH (C. S.). — Chemical observations of the tobacco plant. *Carn. Inst. Wash. Publ.* 445, 1933.
7. MAC KEE (W. C.) et LOBB (D. E.). — Formation of nitrate in detached green leaves of swiss chard and tomato. *Plant. phys.* 13, 407, 1938.
8. PEARSALL (W. H.) et BILLIMORIA (M. C.). — Losses of nitrogen from green plants. *Bioch. Journ.* 31, 1743, 1937.
9. TEODORESCO (E. C.). — Action indirecte de la lumière sur la tige et les feuilles. *Revue générale de Botanique*, 11, pp. 369-397, 430-435, 1899.

REVUE GÉNÉRALE
DE
BOTANIQUE

FONDÉE PAR GASTON BONNIER

PUBLICATION MENSUELLE
(Publiée avec le concours du Centre National de la Recherche scientifique.)

COMITÉ DE RÉDACTION :

MM. Blaringhem, Combes, de Cugnac, Gautheret, Mangenot, Plantefol.

SECRÉTAIRE DE LA RÉDACTION : M. Ad. Davy de Virville.

Extrait de la Revue générale de Botanique
Tome 54 - 1947

Raoul COMBES

L'ACCUMULATION DES NITRATES
DANS LES TISSUS VÉGÉTAUX FORMÉS
EN IMMERSION DANS L'EAU

PARIS
LIBRAIRIE GÉNÉRALE DE L'ENSEIGNEMENT
4, RUE DANTE, 4

1947

ORSTOM. Fonds Documentaire
N° : 29.654 ex 1
Cote : B