

Effet de l'acidité et des types d'azote sur la formation d'aérenchymes chez le riz

B.G. ZHANG, P. COUCHAT, M. PUARD (1)

RÉSUMÉ – Nous avons analysé sur des variétés aquatiques et pluviales de riz (*Oryza sativa* L.) l'effet complémentaire de différentes sources d'azote (nitro-ammoniacale, nitrique et ammoniacale), de la carence en azote et de l'acidité (pH 4,0) sur le développement d'aérenchymes dans les racines. Les expériences ont été réalisées sur des plants de 30 jours en culture hydroponique. Après un traitement de dix jours, on analyse le développement d'aérenchymes des nouvelles racines. En solution aérée, les variétés aquatiques n'ont pas plus d'aérenchymes que les variétés pluviales ; néanmoins, le bon développement du cortex racinaire leur permet une meilleure adaptation en cas d'inondation. La formation des lacunes de la variété pluviale est provoquée par l'absence de nitrate ; elle est aussi stimulée par la forte acidité. La variété aquatique développe moins d'aérenchymes que la variété pluviale en cas de carence en azote et en cas de forte acidité. Nous proposons une hypothèse selon laquelle l'acidification du cytoplasme, plus faible chez les variétés aquatiques que chez les variétés pluviales, pourrait être la cause directe du développement d'aérenchymes.

Mots clés : *Oryza sativa* L., nutrition azotée, acidification cytoplasmique, hypoxie, espace aérifère.

Les aérenchymes, espaces aérifères, facilitent le transfert d'oxygène de la partie aérienne vers les racines (HOOK, 1984). En cas d'inondation prolongée, l'oxygène transféré ne sert pas seulement à la respiration racinaire. Il assure aussi le maintien de l'oxydation de la rhizosphère et évite ainsi l'intoxication par certaines substances réduites (ARMSTRONG, 1979). La relation entre la tolérance à l'inondation et le développement d'aérenchymes est assez complexe : les aérenchymes, fréquents chez les hydrophytes, peuvent également se développer chez les plantes non hydrophytes (SMIRNOFF et CRAWFORD, 1983). Si l'inondation augmente généralement le développement d'aérenchymes, SMIRNOFF et CRAWFORD (1983) ont montré sur plusieurs espèces qu'il

existait des exceptions. Hormis l'inondation, d'autres contraintes peuvent influencer le développement d'aérenchymes : l'acidité (PUARD *et al.*, 1989), la nutrition minérale, mais plus particulièrement la nutrition azotée (KONINGS et VERSCHUREN, 1980 ; SMIRNOFF et CRAWFORD, 1983 ; DREW *et al.*, 1989).

Dans le cadre d'une étude sur l'adaptation du riz à l'inondation et le rôle de la nutrition azotée, nous avons voulu vérifier que le développement d'aérenchymes pouvait être différent suivant l'origine — pluviale ou aquatique — des variétés de riz, l'acidité et la source d'azote.

Matériel et méthode

Culture des plantes et traitements

Nous avons analysé deux variétés de riz (*O. sativa* L.), Teksichut, de culture aquatique, et Moroberekan, de culture pluviale. Dans le traitement avec carence en azote, deux variétés sont ajoutées : IAC, de culture pluviale, et Rojofotsy, de culture aquatique. Le semis et la culture des plantes ont été décrits en détail dans un précédent article (ZHANG *et al.*, 1990). Après désinfection dans de l'eau de Javel (1/10), les graines sont semées en pots sur sable grossier, puis cultivées dans un phytotron dont l'éclairage est de $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La photopériode est de 11 heures 30. La température est stabilisée à 30 °C le jour et 25 °C la nuit, l'humidité relative à 60 % le jour et 80 % la nuit. Les plantes sont arrosées régulièrement avec une solution de type Hoagland adaptée à la culture de riz. Au 30^e jour de culture, les plantes sont transférées dans des colonnes contenant cinq litres de solution nutritive. Les solutions sont barbotées soit par l'air, pour le témoin, soit par l'azote, pour les traitements. En fonction de la source d'azote utilisée, on définit quatre types de solution : NO_3^- et NH_4^+ , NO_3^- seul, NH_4^+ seul, sans azote. Les concentrations des éléments majeurs de chaque type de solution sont rassemblées sous forme de tableau. Les concentrations en oligo-éléments, exprimées en micromoles par litre, sont de 2,91 Mn, 0,06 Mo, 0,63 Cu, 2,46 Zn, 7,41 B et 20,6 Fe. Le pH de la solution nutritive est ajusté à 4,0 pour le traitement acide et à 5,5 pour les autres traitements.

(1) Equipe associée CEA-IRAT-ORSTOM, département de physiologie végétale et écosystèmes, CE de Cadarache, 13108 Saint-Paul-lez-Durance Cedex 1, France.

Concentrations des éléments majeurs des solutions utilisées, exprimées en millimoles par litre.

Type de solution	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	Pi	K ⁺	Ca ₂ ⁺	Mg ₂ ⁺	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	Na ⁺
NO ₃ ⁻ et NH ₄ ⁺	0,88	6,27	1,76	4,24	2,34	0,88	1,32	0,14	0,14
NO ₃ ⁻ seul	0	7,15	1,76	4,24	2,78	0,88	0,88	0,14	0,14
NH ₄ ⁺ seul	7,15	0	1,76	3,52	2,34	0,88	4,24	4,81	0,14
Sans azote	0	0	1,76	4,40	2,34	0,88	1,32	4,81	0,14

Anatomie racinaire

Après dix jours de traitement, cinq des plus longues racines adventives formées pendant cette période sont prélevées pour en observer l'anatomie. Des segments de 1 à 2 cm sont pris à mi-longueur pour analyser le développement d'aérenchymes. Des segments sont prélevés à 1-2 cm de l'apex pour analyser le rapport entre le cortex et la stèle. Les échantillons sont inclus dans une résine, puis fixés dans l'azote liquide. Ils sont ensuite surfacés au microtome à -25 °C et lyophilisés à -60 °C pendant 48 heures avant d'être métallisés à l'or-palladium. Les observations ont été réalisées à l'aide d'un microscope électronique à balayage.

Résultats et discussion

Anatomie racinaire, adaptation à l'inondation et acidité

En solution aérée, près de l'apex racinaire, aucune variété ne présente d'aérenchyme dans le cortex. Les variétés aquatiques (figure 1, *b, d*) ont un cortex plus développé par rapport au cylindre central que les variétés pluviales (figure 1, *a, c*). Cette observation confirme le résultat obtenu par TERASHIMA *et al.* (1987). Etant donné que les espaces intercellulaires sont plus grands dans le cortex que dans d'autres parties de la racine (ZHANG *et al.*, 1990), et que le rapport cortex/stèle augmente en cas d'hypoxie (EL-AISHY, 1979), on peut supposer que l'oxygène ne passe pas toujours par l'aérenchyme. Le cortex développé des variétés aquatiques est à l'origine de leur adaptation à l'inondation.

A mi-longueur des racines, les espaces lacuneux de la variété pluviale sont plus développés (figure 1, *e*) que ceux de la variété aquatique (figure 1, *f*).

L'hypoxie stimule légèrement le développement d'aérenchymes chez la variété aquatique (figure 2).

Une forte acidité (pH 4,0) provoque une très importante formation d'aérenchymes sous hypoxie (figure 3) chez la variété pluviale ; chez la variété aquatique, la formation d'aérenchymes est pratiquement identique à pH 4,0 et à pH 5,5 (résultats non présentés).

Le transfert d'oxygène n'est pas proportionnel aux espaces lacuneux, donc le développement excessif de l'aérenchyme peut être un processus destructif, car il présente l'in-

convénient de réduire la résistance mécanique de la racine (PUARD *et al.*, 1989).

Effet de la carence en azote sur l'aérenchyme

Dans la solution nitro-ammoniacale, la principale source d'azote est NO₃⁻. La carence en azote provoque une formation excessive d'aérenchymes chez les variétés pluviales (figure 4, *a, c*). La présence des nitrates seuls suffit à inhiber le développement d'aérenchymes (figure 5, *a, b*). *A contrario*, la présence d'ammonium n'entraîne pas pareille inhibition (figure 6, *a, b*), ce qui semble indiquer que le développement d'aérenchymes est lié à l'absence d'absorption et d'assimilation des nitrates.

Hypoxie, acidification cytoplasmique et développement d'aérenchymes

L'effet de l'hypoxie sur l'acidification du cytoplasme est schématisé dans la figure 7. En cas d'hypoxie, les racines de riz accumulent l'acide lactique (MENEGUS *et al.*, 1988), qui acidifie le cytoplasme (ROBERTS, 1988). La principale issue des protons formés dans le cytoplasme est l'excrétion dans le milieu extérieur, laquelle dépend de l'H⁺-ATPase plasmalemmique (SCHALLER et SUSSMAN, 1988). La vacuole est aussi une faible réserve de H⁺, car le pH de la vacuole est toujours plus bas que celui du cytoplasme ; le gradient de pH cytoplasmique/vacuolaire est créé et maintenu par l'activité de l'H⁺-ATPase tonoplastique (ROBERTS, 1988). L'hypoxie inhibe le fonctionnement des pompes à protons (KARLSSON et SCHWARTZ, 1988), ce qui entraîne une diminution de l'excrétion des protons dans le milieu extérieur ainsi qu'un flux net de protons de la vacuole vers le cytoplasme, d'où une acidification du cytoplasme.

Le processus de dégradation accéléré par un faible pH cytoplasmique (ROBERTS, 1988) pourrait causer la lyse des cellules et la formation d'aérenchymes. Ce raisonnement est étayé par le fait qu'une forte acidité stimule la formation d'aérenchymes (PUARD *et al.*, 1989), comme l'illustre la figure 3. L'inhibition de la formation d'aérenchymes par les nitrates pourrait être due au fait que l'assimilation des nitrates consomme des protons et diminue l'acidification du cytoplasme (ROBERTS *et al.*, 1985). Par opposition, lorsque l'ammonium est la seule source d'azote, le développement d'aérenchymes est stimulé (figure 5, *a, b*) par l'assimilation d'ammonium qui produit des protons.

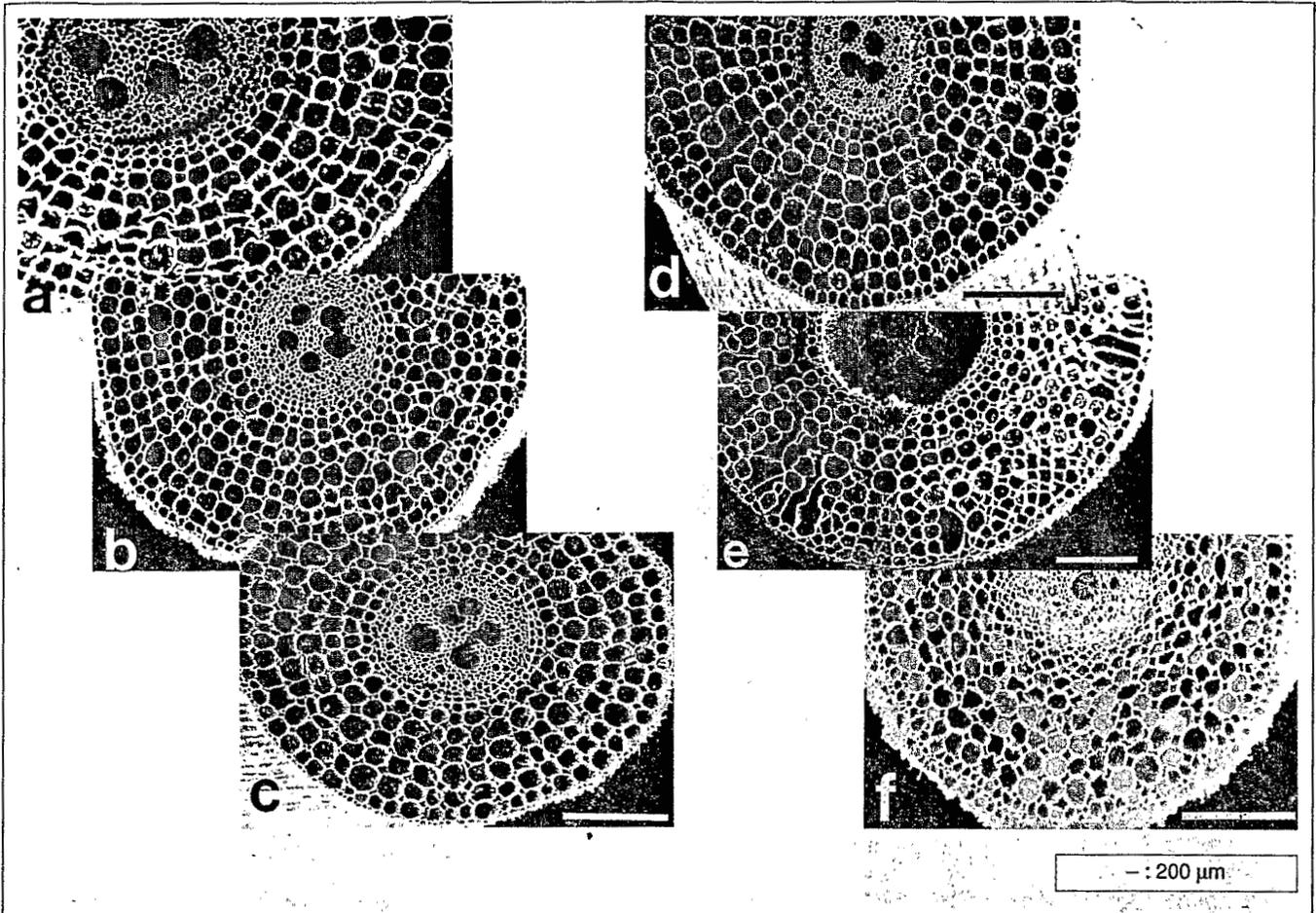


Figure 1. Coupes transversales à 1-2 cm de l'apex (a, b, c, d) ou à mi-longueur (e, f) des racines adventives en culture hydroponique avec $0,88 \text{ mmol l}^{-1}$ de NH_4^+ et $6,27 \text{ mmol l}^{-1}$ de NO_3^- .

La solution nutritive est barbotée par l'air, le pH est ajusté à 5,5.

Variétés pluviales : IAC (a), Moroberekan (c, e) ; variétés aquatiques : Rojofotsy (b), Teksichut (d, f).

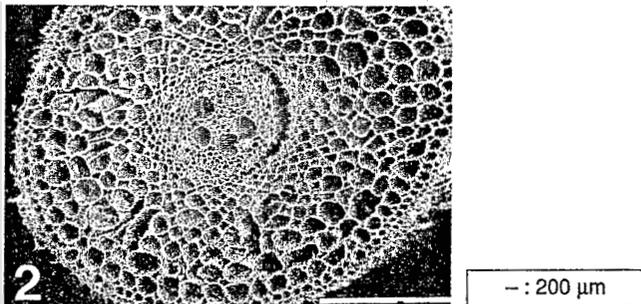


Figure 2. Coupe transversale à mi-longueur des racines adventives d'une variété aquatique en culture hydroponique avec $0,88 \text{ mmol l}^{-1}$ de NH_4^+ et $6,27 \text{ mmol l}^{-1}$ de NO_3^- .

La solution nutritive est barbotée par l'azote, le pH est ajusté à 5,5.

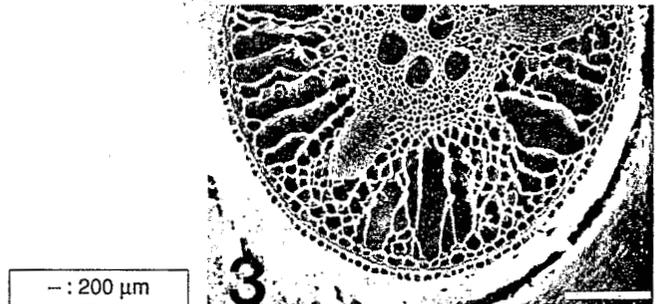


Figure 3. Coupe transversale à mi-longueur des racines adventives d'une variété pluviale en culture hydroponique avec $0,88 \text{ mmol l}^{-1}$ de NH_4^+ et $6,27 \text{ mmol l}^{-1}$ de NO_3^- .

La solution nutritive est barbotée par l'azote, le pH est ajusté à 4,0.

Selon les résultats obtenus chez le tournesol et chez le maïs (CAMPBELL et DREW, 1983), l'éthylène est considéré comme la cause de la formation d'aérochymes. Or, il a été montré chez le riz que l'éthylène n'avait aucun effet sur le développement d'aérochymes (JACKSON *et al.*, 1985). La déficience en azote, qui provoque la formation d'aérochymes, n'augmente pas la production de l'éthylène (DREW *et al.*, 1989). En revanche, l'acidification cytoplasmique

pourrait être la cause directe du développement d'aérochymes en cas d'hypoxie et de carence en azote.

Différence de l'acidification cytoplasmique entre variétés

De même que pour les espèces marécageuses (SMITH et AP REES, 1979), chez le riz, les principaux produits de la

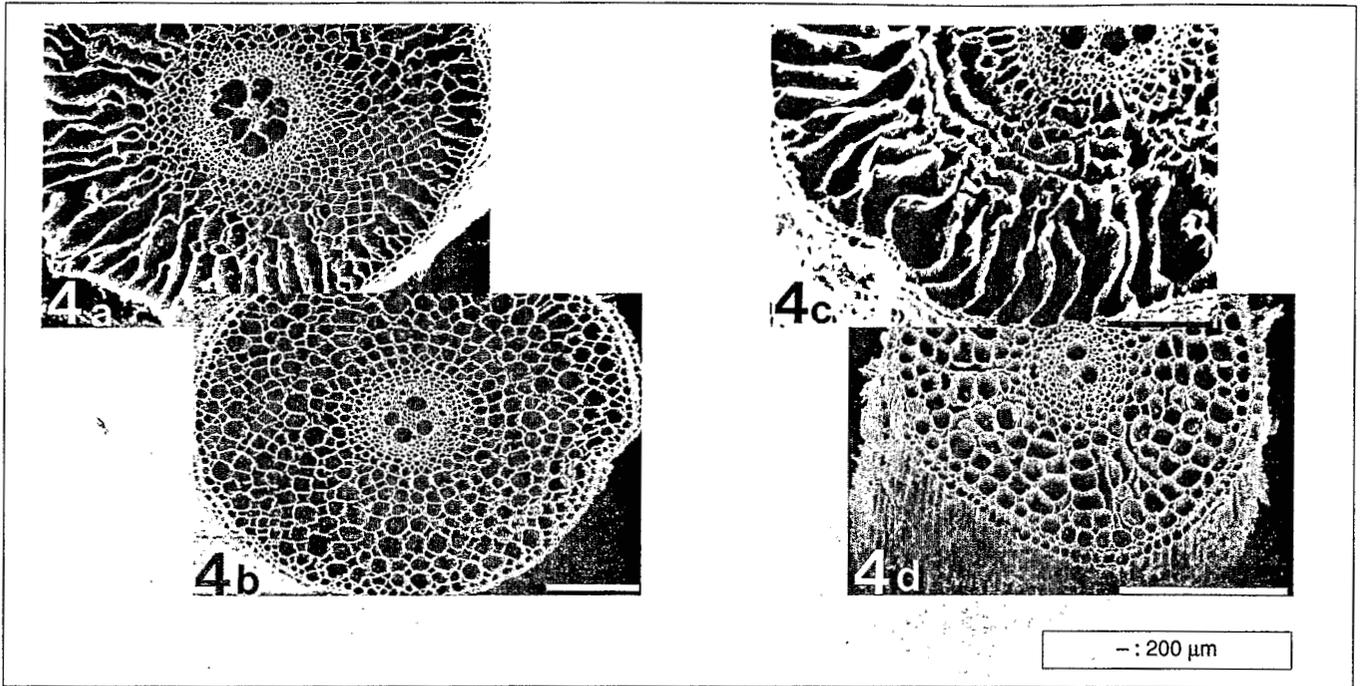


Figure 4. Coupes transversales à mi-longueur des racines adventives en culture hydroponique carencée en azote. La solution nutritive est barbotée par l'azote, le pH est ajusté à 5,5. Variétés pluviales : IAC (a), Moroberekan (c) ; variétés aquatiques : Rojofotsy (b), Teksichut (d).

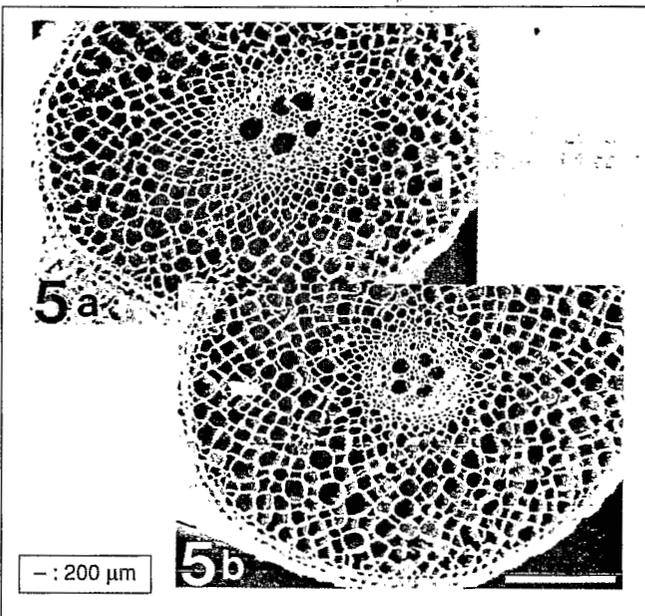


Figure 5. Coupes transversales à mi-longueur des racines adventives en culture hydroponique avec $7,15 \text{ mmol l}^{-1}$ de NO_3^- . La solution nutritive est barbotée par l'azote, le pH est ajusté à 5,5. Variété pluviale : Moroberekan (a) ; variété aquatique : Teksichut (b).

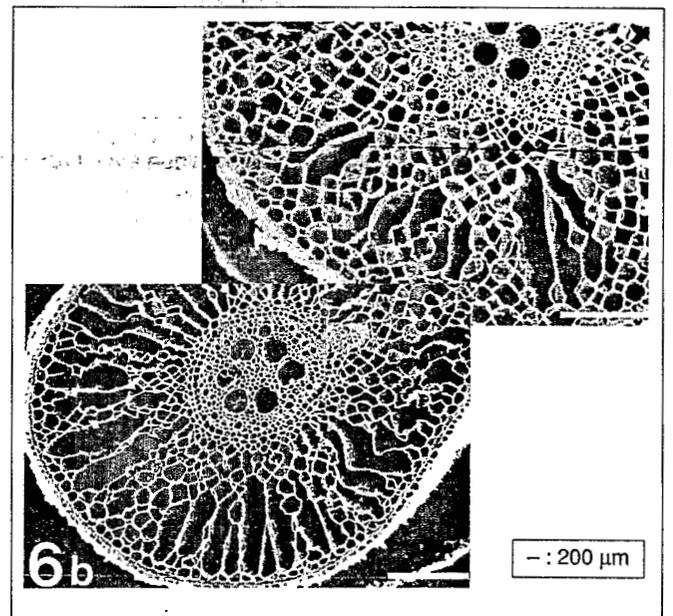


Figure 6. Coupes transversales à mi-longueur des racines adventives en culture hydroponique avec $7,15 \text{ mmol l}^{-1}$ de NH_4^+ . La solution nutritive est barbotée par l'azote, le pH est ajusté à 5,5. Variété pluviale : Moroberekan (a) ; variété aquatique : Teksichut (b).

fermentation sont l'éthanol (PEDRAZZINI ET MCKEE, 1984), l'alanine, le succinate et l'acide lactique (MENEGUS *et al.*, 1988). L'accumulation de l'acide lactique produit plus de protons par mole d'ATP fourni que l'accumulation des trois autres substances (ROBERTS, 1988). Dans les racines de maïs

mutant, une forte fermentation lactique augmente l'acidification cytoplasmique en cas d'hypoxie (ROBERTS, 1988). Contrairement au blé, le riz accumule moins d'acide lactique et plus de succinate, et l'acidification cytoplasmique est moins grande (MENEGUS *et al.*, 1988). Donc, la réduction de

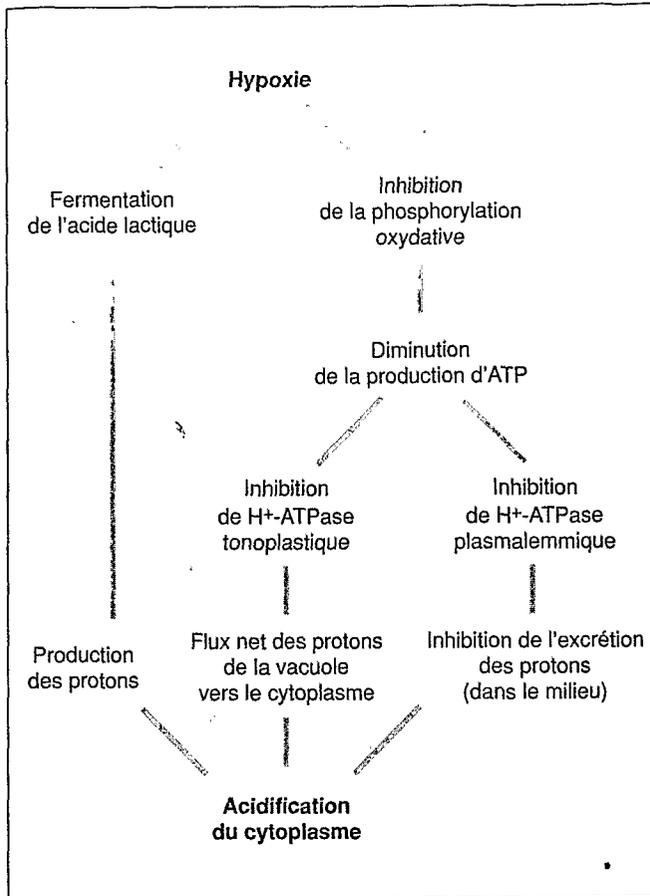


Figure 7. Influence de l'hypoxie sur le pH cytoplasmique (d'après ROBERTS, 1988, modifié).

l'acidification du cytoplasme consiste à remplacer autant que possible la fermentation lactique par d'autres voies respiratoires.

On peut avancer l'hypothèse d'une fermentation lactique plus forte chez les variétés pluviales que chez les variétés aquatiques. Cela expliquerait le fait que le développement d'aérénchymes soit peu influencé par la déficience en azote chez les variétés aquatiques.

Reçu le 21 septembre 1990.

Accepté le 22 mars 1991.

Références bibliographiques

- ARMSTRONG W., 1979. Aeration in higher plants. *Adv. Bot. Res.*, 7 : 225-332.
- CAMPBELL R., DREW M.C., 1983. Electron microscopy of gas space (aerenchyma) formation in adventitious roots of *Zea mays* L. subjected to oxygen shortage. *Planta*, 157 : 350-357.
- DREW M.C., HE C.J., MORGAN P.W., 1989. Decreased ethylene biosynthesis, and induction of aerenchyma, by nitrogen—or phosphate—starvation in adventitious roots of *Zea mays* L. *Plant Physiol.*, 91 (1) : 266-271.
- EL-AISHY S.M., 1979. Effect of water regime on growth, yield and anatomical root structure of rice plants. *J. Agron. Crop Sci.*, 148 : 310-317.
- HOOKE D.D., 1984. Adaptations to flooding with fresh water. *In* : *Flooding and plant growth*, Ed. T.T. Kozlowski, Orlando, Academic Press, p. 265-289.
- JACKSON M.B., FENNING T.M., JENKINS W., 1985. Aerenchyma (gas-space) formation in adventitious roots of rice (*Oryza sativa* L.) is not controlled by ethylene or small partial pressures of oxygen. *J. Exp. Bot.*, 36 (171) : 1566-1572.
- KARLSSON P.E., SCHWARTZ A., 1988. Characterization of the effects of metabolic inhibitors, ATPase inhibitors and a potassium-channel blocker on stomatal opening and closing in isolated epidermis of *Commelina communis* L., *Plant Cell Environ.*, 11 : 165-172.
- KONINGS H., VERSCHUREN G., 1980. Formation of aerenchyma in roots of *Zea mays* in aerated solutions, and its relation to nutrient supply. *Physiol. Plant.*, 49 : 265-270.
- MENEGUS F., CATTARUZZA A., CHERSI A., SELVA A., FRONZA G., 1988. Production and organ distribution of succinate in rice seedlings during anoxia. *Physiol. Plant.*, 74 : 444-449.
- PEDRAZZINI F.R., MCKEE K.L., 1984. Effect of flooding on activities of soil dehydrogenases and alcohol dehydrogenase in rice (*Oryza sativa* L.) roots. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 30 (3) : 359-366.
- PUARD M., COUCHAT P., LASCEVE G., 1989. Etude des mécanismes d'adaptation du riz (*Oryza sativa* L.) aux contraintes du milieu. I. Modification anatomique des racines. *L'Agron. Trop.*, 44 (3) : 165-171.
- ROBERTS J.K.M., 1988. Cytoplasmic acidosis and flooding tolerance in crop plants. *In* : *The ecology and management of wetland*. Ed. Hook D.D., Charleston, Etats-Unis, p. 392-397.
- ROBERTS J.K.M., ANDRADE F.H., ANDERSON I.C., 1985. Further evidence that cytoplasmic acidosis is a determinant of flooding intolerance in plants. *Plant Physiol.*, 77 (2) : 492-494.
- SCHALLER G.E., SUSSMAN M.R., 1988. Phosphorylation of the plasma-membrane H⁺-ATPase of oat roots by a calcium-stimulated protein kinase. *Planta*, 173 (4) : 509-518.
- SMIRNOFF N., CRAWFORD R.M.M., 1983. Variation in the structure and response to flooding of root aerenchyma in some wetland plants. *Ann. Bot.*, 51 (2) : 237-249.
- SMITH A.M., AP REES T., 1979. Pathways of carbohydrate fermentation in the roots of marsh plants. *Planta*, 146 (3) : 327-334.
- TERASHIMA K., HIRAOKA H., NISHIYAMA I., 1987. Varietal difference in the root of rice plant. I. Varietal difference in the morphology of crown root. *Jpn J. Crop Sci.*, 56 (4) : 521-529.
- ZHANG B.G., PUARD M., COUCHAT P., 1990. Effect of hypoxia, acidity and nitrate on inorganic nutrition in rice plants. *Plant Physiol. Biochem.*, 28 (5) : 655-661.

Summary

ZHANG B.G., COUCHAT P., PUARD M. – The effect of acidity and nitrogen forms on aerenchyma formation in rice.

The authors have analysed the complementary effect of different nitrogen forms (nitrate ammonium, nitrate and ammonium nitrogen), nitrogen deficiency, and acidity (pH 4) on the development of aerenchymas in the root of lowland and upland rice (*O. sativa*) varieties. Experiments were carried out on 30-day old plants grown in hydroponics. After a 10-day treatment the development of aerenchymas in young roots was analysed. In an aerated solution, lowland rice varieties did not develop more aerenchymas than did upland rice varieties but the good development of their root cortex made them more adaptable to flooding. Air cell formation in the upland rice varieties was caused by the lack of nitrate; it was also promoted by the high acidity. The lowland rice variety developed less aerenchymas than did the upland rice variety in case of nitrogen deficiency and in case of acidity. We hypothesize that the cytoplasm acidification might be the direct cause of aerenchyma development and that it is less important in lowland rice varieties than in upland rice varieties.

Key words: *Oryza sativa* L., nitrogen nutrition, cytoplasm acidification, hypoxia, aeriferous space.

Resumen

ZHANG B.G., COUCHAT P., PUARD M. – Efecto de la acidez y de los tipos de nitrógeno sobre la formación de aerénquimas en el arroz.

Hemos analizado en variedades de arroz acuático y de arroz de secano (*Oryza sativa* L.) el efecto complementario de diferentes fuentes de nitrógeno (nitroamoniaco, nítrico y amoniaco), de la carencia de nitrógeno y de la acidez (pH 4,0) sobre el desarrollo de aerénquimas en las raíces. Los experimentos fueron llevados a cabo en plántulas de 30 días en cultivo hidropónico. Al cabo de 10 días de tratamiento, se analiza el desarrollo de aerénquimas en raíces nuevas. En solución aireada, las variedades de arroz acuático no tienen más aerénquimas que las variedades de arroz de secano, sin embargo el buen desarrollo del cortex de la raíz permite una mejor adaptación en caso de inundación. La formación de los claros de la variedad de secano se debe a la ausencia de nitrato y es estimulada por una fuerte acidez. La variedad de arroz acuático tiene menos aerénquimas que la variedad de secano en caso de carencia de nitrógeno y en caso de fuerte acidez. Proponemos como hipótesis que la acidificación del citoplasma bien podría ser la causa directa del desarrollo de aerénquimas y que es más baja en las variedades de arroz acuático que en las variedades de secano.

Palabras-clave : *Oryza sativa* L., nutrición nitrogenada, acidificación citoplásmica, hipoxia, espacio aerífero.