

# Régulation de l'absorption de nitrate par la racine

Claude Grignon,  
Biochimiste et physiologiste

## ■ Introduction

Chez tous les organismes supérieurs, les fonctions d'alimentation, c'est-à-dire la recherche des ressources nutritives et le prélèvement des aliments, sont régulées à des niveaux très intégrés. Chez les plantes, cette régulation s'exerce au niveau (i) du fonctionnement des transporteurs racinaires, (ii) de l'expression de leurs gènes, et (iii) du développement des racines. Elle intègre le fonctionnement des racines dans celui de la plante entière, en traitant un flux d'informations variées sur la composition du milieu, et sur les besoins alimentaires des tissus. L'absorption de l'azote offre un bon modèle d'étude de cette intégration.

L'absorption de l'ion  $\text{NO}_3^-$  par les racines des végétaux terrestres est la principale voie d'entrée de l'azote dans les chaînes alimentaires. Chez les herbacées comme chez les ligneux, c'est l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  qui limite en général l'assimilation de l'azote.

Les plantes disposent de plusieurs sortes de transporteurs de  $\text{NO}_3^-$ . Certains possèdent une forte affinité pour  $\text{NO}_3^-$ , et sont inductibles par cet ion. Les études moléculaires de ces systèmes progressent vite, mais leurs avancées sont trop récentes pour que leurs résultats

aient pu être appliqués à la physiologie *in planta* de l'absorption de  $\text{NO}_3^-$ . Néanmoins, les approches électrophysiologiques ont permis une caractérisation préliminaire de cette fonction. Les systèmes de transport membranaire de  $\text{NO}_3^-$  semblent utiliser des mécanismes « chimiosmotiques » classiques, qui échangent  $\text{NO}_3^-$  contre des ions  $\text{OH}^-$  ou peut-être  $\text{HCO}_3^-$ .

Nous verrons plus loin que ce type de mécanisme fournit un cadre conceptuel pour expliquer l'intégration bien connue du transport et de l'assimilation de  $\text{NO}_3^-$  et du métabolisme acido-basique, à l'échelle de la cellule et à celle de la plante entière. En effet, la réduction et l'assimilation de  $\text{NO}_3^-$  produisent non seulement des acides aminés, mais aussi des acides organiques (qui détoxifient le groupe  $\text{OH}^-$  libéré par la réduction de  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{NH}_3$ ). Ces acides organiques, renvoyés aux racines par le phloème, y sont décarboxylés, et les ions  $\text{HCO}_3^-$  sont échangés contre de nouveaux  $\text{NO}_3^-$ . Cette intégration se traduit par le fait que l'absorption racinaire de  $\text{NO}_3^-$  est stimulée par l'assimilation de cet ion dans les feuilles.

Un second mécanisme assure l'homéostasie de l'azote dans la plante. Dans les feuilles, les acides aminés produits en excès par rapport aux besoins de la synthèse protéique sont injectés dans le phloème. Ils circulent dans la plante *via* le phloème et le xylème. Cette boucle de circulation informe les racines de l'écart entre la fourniture d'azote aux feuilles, et les besoins de celles-ci : plusieurs acides aminés arrivant à la racine dans le phloème sont des inhibiteurs de l'absorption de  $\text{NO}_3^-$ .

Comme  $\text{NH}_3^+$  et d'autres ions,  $\text{NO}_3^-$  est un signal environnemental qui régule le fonctionnement racinaire global à trois niveaux. D'une part, il facilite le transport de la sève du xylème en contrôlant la perméabilité à l'eau des cellules racinaires, et la conductance stomatique. D'autre part,  $\text{NO}_3^-$  induit une prolifération différentielle des racines dans les régions du sol où il est abondant, spécialement quand la plante manque d'azote. Enfin, il réprime le développement des nodules symbiotiques, probablement par un mécanisme indirect, *via* les produits de son assimilation.

Le lecteur pourra trouver d'excellentes mises au point concises sur ces différents aspects dans plusieurs synthèses récentes <sup>(1-6)</sup>.

## ■ Contrôles par la disponibilité du nitrate dans le sol

### *Morphogénèse racinaire*

Le contrôle de la morphogénèse racinaire illustre le niveau le plus complexe de la régulation de la nutrition azotée. Le système racinaire comprend plusieurs ordres de racines secondaires. Chaque racine présente d'importantes hétérogénéités de capacité d'absorption. Par exemple, chez le maïs, un pic d'absorption s'observe dans la zone d'extension cellulaire, à quelques dizaines de millimètres de l'apex<sup>(7)</sup>. Ce dernier, qui semble dépourvu de système d'absorption de  $\text{NO}_3^-$  à forte affinité<sup>(8-9)</sup>, importe l'azote absorbé dans les régions distales. Les racines latérales présentent une surface d'échange plus importante que celle des racines séminales (du fait de leur finesse et de leur abondance), qui en fait les sites majeurs d'absorption de  $\text{NO}_3^-$ <sup>(9-10)</sup>.

Lorsque les plantes croissent rapidement (par exemple, lors de l'installation des organes végétatifs pendant le premier mois après la germination), la vitesse d'absorption de  $\text{NO}_3^-$  par plante augmente, tandis que la vitesse spécifique d'absorption (rapportée à l'unité de longueur de racine) diminue<sup>(11)</sup> : les besoins de la plante en azote croissent moins vite que les moyens de les satisfaire. On en conclut donc que, dans ces conditions, l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  n'est pas limitée par la capacité d'absorption de la racine, mais plutôt par la demande de la plante. La même conclusion est tirée de la comparaison de la vitesse d'incorporation de N dans les plantes et de la vitesse maximale de déplacement de  $\text{NO}_3^-$  vers les racines dans le sol<sup>(12-13)</sup>. Les ions  $\text{NO}_3^-$  étant très mobiles, il n'apparaît pas de zone d'épuisement aux abords du système racinaire dans les sols convenablement fertilisés<sup>(14)</sup>, ce qui montre que la disponibilité de  $\text{NO}_3^-$  est suffisante pour alimenter les transporteurs racinaires. Cette disponibilité ne devient limitante pour l'absorption que dans des sols pauvres en  $\text{NO}_3^-$  (gradient sol/racine inférieur à 100 à 200  $\mu\text{M}$ , ce qui est bien en-dessous des valeurs pour les sols cultivés).

Divers dispositifs expérimentaux simples permettent de cultiver des plantes en offrant du nitrate seulement à une petite partie de

leurs systèmes racinaires. La plus grande partie des racines se trouvant dans un milieu dépourvu d'azote, la plante est globalement carencée. On observe alors que la croissance racinaire, ainsi que la capacité d'absorption de nitrate par unité de biomasse racinaire, sont considérablement augmentées dans la zone alimentée en nitrate <sup>(15-16)</sup>. Il faut noter que ces réponses dépendent de la conjonction de deux signaux : (i) la disponibilité locale de  $\text{NO}_3^-$ ; (ii) la déficience en azote de la plante. Le premier point est attesté par le caractère local des réponses, et le second par le fait qu'on n'observe pas ces dernières si la plante n'est pas carencée en azote. La stimulation de la croissance racinaire se traduit essentiellement par une prolifération locale des racines adventives. Ceci montre que  $\text{NO}_3^-$  délivre directement ou indirectement un signal d'organogénèse, stimulant l'activité des méristèmes apicaux de ces racines. Ainsi, le double signal (carence en azote plus présence locale de  $\text{NO}_3^-$ ) réoriente l'expression génétique. L'étude des mutants de développement racinaire montre que le déterminisme génétique de l'activation de ces méristèmes par  $\text{NO}_3^-$  est différent de celui du méristème de la racine primaire <sup>(17)</sup>.

### *Conductivité hydraulique racinaire*

Un second exemple, très différent du précédent, illustre un autre aspect de l'intégration des réponses au signal de disponibilité du nitrate. La carence en azote entraîne en quelques jours une forte réduction de la conductance stomatique <sup>(18-19)</sup> et de la conductivité hydraulique des racines (la résistance au flux d'eau entre le milieu et le xylème augmente) <sup>(18-22)</sup>. Le même phénomène s'observe au niveau cellulaire : la perméabilité à  $\text{H}_2\text{O}$  des cellules corticales individuelles est diminuée chez les plantes privées de nitrate <sup>(22)</sup>. Cette réduction de la conductivité hydraulique racinaire est une réponse locale à l'absence de  $\text{NO}_3^-$  dans le milieu <sup>(19)</sup>. Ces résultats suggèrent (i) que  $\text{NO}_3^-$  contrôle la perméabilité membranaire à  $\text{H}_2\text{O}$ , et (ii) qu'une part notable de l'eau qui atteint le xylème a traversé des membranes cellulaires <sup>(23-24)</sup>. Chez les racines témoins, un traitement de quelques minutes par  $\text{HgCl}_2$  50  $\mu\text{M}$  (réactif des groupes-SH), abaisse fortement la conductivité hydraulique, et un second traitement par un réducteur des groupes

-SH restaure la valeur initiale de ce paramètre<sup>(19)</sup>. Cette sensibilité immédiate et réversible de la conductance hydraulique au mercure est une signature classique des canaux à eau (aquaporines)<sup>(25)</sup>. L'absence d'une telle signature chez les racines privées de nitrate suggère que la conductance hydraulique de ces dernières est abaissée par fermeture des canaux à eau. En résumé, le  $\text{NO}_3^-$  du milieu semble réguler la résistance opposée au flux radial d'eau à travers la racine en maintenant ouverts des canaux à eau, stimulant ainsi le flux de sève<sup>(26)</sup>. La conséquence physiologique de cette régulation n'est pas encore connue, mais on peut imaginer qu'en isolant les parties du système racinaire situées dans des régions pauvres en azote, elle redirige le flux d'eau à partir des régions plus riches. Il faut noter que des phénomènes analogues ont été décrits à propos d'autres nutriments majeurs, tels que  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  et  $\text{SO}_4^{2-}$ .

### *Induction des transporteurs de $\text{NO}_3^-$ de la racine*

Au moins deux familles de gènes de transporteurs de  $\text{NO}_3^-$  existent chez les plantes. Toutes deux codent des protéines possédant 12 segments transmembranaires. Le premier groupe de gènes fait partie d'une super-famille de transporteurs présents chez les bactéries, la levure, les animaux et les plantes<sup>(27-28)</sup>. Le second groupe rassemble des gènes homologues<sup>(6,29-30)</sup> à une famille de gènes de transporteurs de  $\text{NO}_3^-$  à haute affinité d'*Aspergillus*<sup>(31)</sup> et de *Chlamydomonas*<sup>(32)</sup>. D'autre part, les approches physiologiques montrent que les plantes disposent de plusieurs sortes de transporteurs de  $\text{NO}_3^-$ , différant par leur affinité pour cet ion. Les systèmes « à forte affinité » sont capables de transporter  $\text{NO}_3^-$  efficacement alors que sa concentration dans le milieu n'est que de quelques dizaines de micromoles par litre<sup>(33)</sup>. Ils ont la particularité d'être inductibles par  $\text{NO}_3^-$ . Ils sont absents chez les plantes qui n'ont jamais été exposées à cet ion. Après le transfert de telles plantes sur un milieu contenant  $\text{NO}_3^-$ , on observe une augmentation de la vitesse d'absorption par les systèmes à forte affinité après une latence de quelques dizaines de minutes<sup>(34-36)</sup>. Cette accélération de l'absorption, qui dure quelques heures, traduit l'acquisition progressive de la capacité à transporter l'ion.

Pendant cette phase, les propriétés de transport de la membrane plasmique sont modifiées. En effet, l'influx de  $^{36}\text{ClO}_3^-$  (analogue structural de  $\text{NO}_3^-$ ) mesuré *in vitro* avec des vésicules de membrane plasmique isolées de racines de maïs augmente progressivement<sup>(37)</sup>. L'acquisition par la racine de l'aptitude à absorber  $\text{NO}_3^-$  ne se fait pas en présence d'inhibiteurs de la transcription ou de la traduction<sup>(38-40)</sup> : il semble donc qu'elle corresponde à l'induction de la synthèse du transporteur, plutôt qu'à l'activation d'un pré-curseur<sup>(1)</sup>. L'application d'inhibiteurs de la synthèse des protéines après l'induction du transporteur conduit à un retour au niveau constitutif du système de transport, avec une cinétique correspondant une demi-vie de l'ordre de 2 à 3 heures<sup>(1)</sup>. L'exposition *in vivo* à  $\text{NO}_3^-$  entraîne la synthèse d'un polypeptide membranaire d'une trentaine de kilodaltons<sup>(41-42)</sup>, ainsi que de protéines solubles, qui pourraient intervenir dans la régulation de l'activité des transporteurs membranaires, ou dans la métabolisation de  $\text{NO}_3^-$ <sup>(43)</sup>. Enfin, les analyses Northern blot indiquent que l'abondance des transcrits de plusieurs gènes putatifs de transport de  $\text{NO}_3^-$  augmente pendant la phase d'induction<sup>(27-28)</sup>. Cet ensemble de résultats suggère qu'il existerait au moins deux populations distinctes de transporteurs de  $\text{NO}_3^-$ , les uns constitutifs, les autres inductibles et soumis à une régulation transcriptionnelle.

Le système d'absorption inductible entre en action quand l'exposition de la plante au nitrate a été suffisamment longue pour permettre à la concentration de cet ion dans le cytoplasme d'atteindre une valeur-seuil<sup>(44)</sup>. Cette latence est également suffisante pour que des produits de l'assimilation de  $\text{NO}_3^-$  s'accumulent dans le cytoplasme. Il est donc difficile de déterminer quel est le signal d'induction. La latence de l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  pouvant être supprimée par prétraitement des plantes avec  $\text{NH}_4^+$ <sup>(103)</sup> ou  $\text{NO}_2^-$ <sup>(44)</sup>, il paraît plus vraisemblable que le signal d'induction soit produit par une étape aval de la chaîne d'assimilation de  $\text{NO}_3^-$  plutôt que par cet ion lui-même. Il est vrai, néanmoins, que la cinétique d'induction reste visible chez un double mutant d'orge déficient en NADH-nitrate réductase et en NAD(P)H-nitrate réductase, suggérant que  $\text{NO}_3^-$  lui-même commande l'induction de son système d'absorption<sup>(45,53)</sup>. Malheureusement, ces expériences ne sont pas concluantes, car on observe une activité résiduelle de réduction de  $\text{NO}_3^-$  chez ces plantes.

## Intégration avec le métabolisme

### *Métabolisme photosynthétique*

La vitesse d'absorption nette de  $\text{NO}_3^-$  varie de façon cyclique, durant le cycle végétatif, avec une période correspondant à la fréquence d'apparition de nouvelles feuilles <sup>(46)</sup>. L'oscillation de l'absorption racinaire de  $\text{NO}_3^-$ , et sa synchronisation avec la demande en assimilats des jeunes organes traduisent peut-être une compétition de ces différents puits pour la production photosynthétique <sup>(47)</sup>. Ceci suggère que l'activité de transport de  $\text{NO}_3^-$  dans la racine peut être limitée par la disponibilité des assimilats. Effectivement, le rythme journalier d'absorption de  $\text{NO}_3^-$  suit celui de la photopériode, et la vitesse d'absorption de  $\text{NO}_3^-$  est parfois liée positivement à l'intensité de l'éclairement <sup>(48-50)</sup>. Le contrôle par la lumière de l'absorption nette de  $\text{NO}_3^-$  porte sur l'influx <sup>(103)</sup>. Il s'exerce de façon indépendante des variations de la transpiration, et de l'accumulation dans la racine de composés inhibiteurs de l'influx <sup>(51)</sup> tels que  $\text{NO}_3^-$  <sup>(44)</sup> ou l'asparagine <sup>(111)</sup>. Il traduit probablement la dépendance directe de l'influx racinaire de  $\text{NO}_3^-$  vis-à-vis de l'importation de photosynthétats par le phloème.

La nécessité des assimilats pour l'absorption racinaire se comprend au vu du coût énergétique relativement élevé de cette fonction <sup>(52-54)</sup>. Dans le cas où  $\text{NO}_3^-$  est assimilé dans la racine, au coût du transport s'ajoute celui de la réduction, et la nécessité de maillons carbonés pour la fixation de  $\text{NH}_3$ , ainsi que pour la détoxification de la charge négative libérée au niveau de la réaction catalysée par la nitrite réductase (synthèse de malate à partir de phosphoénol pyruvate et de  $\text{HCO}_3^-$  : cf. ci-dessous). Mais les mécanismes du contrôle de l'influx par les assimilats restent inconnus.

### *Métabolisme acido-basique*

L'absorption de l'anion  $\text{NO}_3^-$ , puis sa disparition lorsqu'il est assimilé en  $\text{NH}_3$ , sont deux étapes qui interfèrent avec l'équilibre des charges électriques, et avec l'équilibre acido-basique dans la cel-

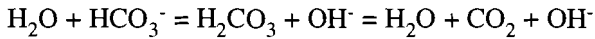
lule. Ces interactions sont au coeur des mécanismes qui fournissent l'énergie nécessaire à l'absorption, et sont impliquées dans des mécanismes d'intégration de cette dernière dans la plante entière. En introduisant une microélectrode sélective à  $\text{NO}_3^-$  dans le cytoplasme de cellules corticales, on y mesure des concentrations de l'ordre de quelques mM, même si la concentration dans le milieu est plus faible<sup>(55-56)</sup>. On peut calculer que dans ces conditions, il faut 10 à 40 kJ pour transporter une mole de  $\text{NO}_3^-$  du milieu au cytoplasme (soit 20 à 80 % de l'énergie libérée par l'hydrolyse d'une mole d'ATP). Autrement dit,  $\text{NO}_3^-$  est absorbé par un mécanisme de transport actif, obligatoirement couplé à une source d'énergie.

L'absorption de  $\text{NO}_3^-$  par le système à haute affinité des racines entraîne en général une alcalinisation du milieu extérieur<sup>(57-60)</sup>. L'absorption de  $\text{NO}_3^-$  et l'alcalinisation de la rhizosphère sont localisées dans les mêmes régions du système racinaire<sup>(61-62)</sup>, ce qui suggère que les ions  $\text{NO}_3^-$  sont échangés contre des ions  $\text{OH}^-$ . D'autre part, l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  est stimulée lorsqu'on acidifie le milieu. Ces deux types de données, acquises *in vivo*<sup>(58,63-66)</sup> et *in vitro*<sup>(67)</sup> sont les supports du modèle « chimiosmotique » du mécanisme d'absorption. D'après ce modèle, l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  est due à un antiport  $\text{NO}_3^-/\text{OH}^-$ . Une  $(\text{H}^+)\text{ATPase}$  membranaire, appelée pompe à protons, hydrolyse l'ATP et assure une excrétion électrogène de  $\text{H}^+$ . Ce faisant, elle « énergise » la membrane, convertissant l'énergie (chimique) métabolique en deux autres formes d'énergie constituant le gradient de potentiel électrochimique de  $\text{H}^+$ : un gradient de pH (pH cytoplasmique plus élevé que le pH externe) et un gradient électrique (potentiel de membrane, face cytoplasmique négative). Dans ces conditions, la sortie de  $\text{OH}^-$  du cytoplasme vers le milieu libère de l'énergie. Le système antiport permet de transférer cette énergie sur  $\text{NO}_3^-$ .

La stoechiométrie du cotransport (c'est-à-dire le nombre de molécules de  $\text{OH}^-$  cotransportées avec une molécule de  $\text{NO}_3^-$ ) semble être supérieure à 1. En effet, l'activation du transport inductible de  $\text{NO}_3^-$  entraîne une variation brusque et transitoire du potentiel de membrane, qui devient moins négatif<sup>(65-66,68)</sup>. Cette dépolarisation électrique de la membrane indique que l'entrée de  $\text{NO}_3^-$  s'accompagne d'une sortie nette de charge négative : 1  $\text{NO}_3^-$  est échangé contre au moins 2  $\text{OH}^-$ .



Il semble que cette émission de  $\text{OH}^-$  dans le milieu pendant l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  traduise en réalité l'exsorption de bicarbonate. En effet, les mesures de pH ne distinguent pas la libération de  $\text{OH}^-$  de celle de  $\text{HCO}_3^-$ , puisque l'exsorption de  $\text{HCO}_3^-$  produit des ions  $\text{OH}^-$  dans le milieu :



Deux sortes de données suggèrent que  $\text{NO}_3^-$  peut être échangé contre  $\text{HCO}_3^-$  : après une charge des tissus en glucides marqués par  $^{14}\text{C}$ , on observe que l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  s'accompagne d'une émission de radioactivité dans le milieu. D'autre part, la quantité d'acides organiques dans les tissus diminue quand  $\text{NO}_3^-$  est accumulé (la décarboxylation des acides organiques est la source de  $\text{HCO}_3^-$ ).

Ce mode de couplage énergétique, appelé chimiosmotique, fournit un cadre conceptuel pour expliquer l'intégration bien connue du transport et de l'assimilation de  $\text{NO}_3^-$  et du métabolisme acido-basique, à l'échelle de la cellule et à celle de la plante entière. L'assimilation de l'azote nitrique débute avec la réduction de  $\text{NO}_3^-$  en  $\text{NO}_2^-$  par la nitrate réductase, puis celle de  $\text{NO}_2^-$  en  $\text{NH}_3$  par la nitrite réductase. Au cours de cette seconde étape, la charge négative de  $\text{NO}_2^-$  est libérée dans la cellule <sup>(69)</sup> sous forme d'équivalent acido-basique  $\text{OH}^-$ . Selon les espèces, les organes et les conditions physiologiques, ces « équivalents  $\text{OH}^-$  » sont excrétés dans le milieu, ou bien convertis en  $\text{HCO}_3^-$ , puis en acides carboxyliques  $\text{R-COO}^-$ . L'excrétion de  $\text{OH}^-$  (ou de  $\text{HCO}_3^-$ ) se traduit par l'alcalinisation du milieu racinaire, classiquement associée à l'absorption de  $\text{NO}_3^-$ , et expliquée par le modèle d'antiport  $\text{OH}^-/\text{NO}_3^-$  ou  $\text{HCO}_3^-/\text{NO}_3^-$  décrit plus haut. La synthèse d'acides organiques  $\text{R-COO}^-$  est l'autre voie de détoxification des « équivalents  $\text{OH}^-$  » produits par l'assimilation de  $\text{NO}_3^-$ . La phosphoénolpyruvate carboxylase fixe  $\text{HCO}_3^-$  sur le phosphoénol pyruvate, donnant de l'oxalo-acétate, qui est réduit en malate par une malate déhydrogénase cytosolique. Le malate, et éventuellement les acides organiques dérivés, peuvent être transportés dans la vacuole.

Les cellules racinaires qui réduisent  $\text{NO}_3^-$  disposent avec le sol d'un puits de capacité infinie pour évacuer les ions  $\text{OH}^-$  ou  $\text{HCO}_3^-$ . La situation des cellules foliaires est différente, car leur milieu extérieur (l'apoplasme foliaire) a un volume très restreint. D'autre part, la capacité du phloème à exporter  $\text{OH}^-$  est limitée, et insuffisante à éva-

cuer la production associée à l'assimilation de  $\text{NO}_3^-$  (59). Il y a donc production dans les feuilles d'acides organiques en quantité équivalente au nombre de  $\text{NO}_3^-$  assimilés. Bien que la majorité de l'assimilation de  $\text{NO}_3^-$  se fasse dans les feuilles (chez les herbacées) (70), il arrive souvent qu'on n'y retrouve qu'une fraction des acides organiques produits. Ces derniers sont exportés par le phloème jusqu'aux racines, décarboxylés, et  $\text{HCO}_3^-$  est excrété dans le milieu (71-74), entraînant l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  (75). Ce couplage de l'échange  $\text{HCO}_3^-/\text{NO}_3^-$  au niveau des racines et de la décarboxylation des acides organiques produits dans les feuilles constitue un système d'intégration de l'assimilation foliaire et l'absorption racinaire de  $\text{NO}_3^-$  (4). Ce système, qui entraîne l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  en réponse à l'assimilation de cet ion, pourrait avoir pour effet de maintenir un pool de réserve de  $\text{NO}_3^-$  dans les feuilles.

## ■ Intégration avec la croissance

### *Homéostasie de l'azote et intégration avec la croissance*

Deux ensembles de données témoignent de l'existence de régulations qui adaptent l'absorption racinaire de  $\text{NO}_3^-$  à la demande globale de la plante en azote : (i) l'absorption racinaire est corrélée à la croissance des parties aériennes ; (ii) la carence en N augmente la capacité d'absorption de  $\text{NO}_3^-$  par les racines.

Dans de nombreuses situations, on observe que la teneur en azote des parties aériennes (rapport de la quantité d'azote à la quantité de matière sèche) est indépendante de la disponibilité de l'azote dans le milieu racinaire (76-77). De même, la teneur en azote des parties aériennes reste constante en dépit de larges variations de leur vitesse de croissance, observées entre différents génotypes (78-79), ou bien obtenues en modifiant la température des racines (80) ou l'éclairement des feuilles (81-82), ou des caractéristiques ioniques du milieu (83-86). Cette invariance du rapport de la quantité d'azote à la quantité de biomasse est l'indice que la vitesse d'acquisition de l'azote par les racines est ajustée à la demande de croissance de la plante.

Pour l'azote, comme pour les autres éléments majeurs, la carence augmente rapidement et spécifiquement la capacité de la plante à acquérir l'élément limitant. Cette conclusion générale est basée sur des tests périodiques de la capacité d'absorption, faits au cours d'une culture sur milieu dépourvu d'un élément. Par exemple, des plantes sont cultivées pendant plusieurs jours sur un milieu sans source azotée, et des échantillons sont régulièrement mis en présence de  $\text{NO}_3^-$  pendant une brève période pour estimer l'absorption racinaire. Quatre conclusions principales peuvent être tirées de ce type d'approche :

- (i) la carence en azote augmente la capacité des racines à absorber  $\text{NO}_3^-$  (87-93);
- (ii) cet effet est précoce : il apparaît avant que la croissance ait été ralentie par la carence (90);
- (iii) il est spécifique : la carence en azote stimule l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  mais pas celles de  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  ou  $\text{SO}_4^{2-}$  (90);
- (iv) ce n'est pas le statut nutritionnel des racines qui régule l'absorption, mais celui des parties aériennes.

Cette dernière conclusion est tirée d'expériences où la majorité du système racinaire est dans un milieu dépourvu d'azote pour induire la carence dans les parties aériennes. Le test d'absorption est fait sur une autre partie du système racinaire, correctement alimentée en azote. Bien que ces dernières racines aient une teneur normale en azote, elles présentent l'accélération d'absorption de  $\text{NO}_3^-$  caractéristique de la carence (16,94-95). Des phénomènes analogues sont connus pour  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , et  $\text{Cl}^-$ .

Ce comportement suggère que les besoins des parties aériennes sont signalés aux racines, par le phloème. L'hypothèse que l'information spécifique à chaque élément est contenue dans la composition macroscopique de la sève du phloème a été avancée pour  $\text{K}^+$  et  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  (96). Elle repose sur l'idée que les feuilles importent les éléments minéraux par le xylème, et ré-exportent par le phloème ce qu'elles n'ont pas utilisé pour leur métabolisme : la composition de la sève informerait les racines de l'écart entre l'alimentation des feuilles et leurs besoins. La sève du phloème transporte très peu de  $\text{NO}_3^-$  (97-98), mais beaucoup d'acides aminés. Certains d'entre eux sont inhibiteurs de l'absorption racinaire de  $\text{NO}_3^-$  quand ils sont ajoutés au milieu, ou introduits artificiellement dans le phloème et importés par cette voie dans les racines (111).

Les composés azotés apportés à la racine par le phloème sont ré-injectés dans le xylème et retournent ainsi vers les feuilles. L'analyse des activités spécifiques du traceur  $^{15}\text{N}$  dans les branches ascendante et descendante de cette circulation montre que le pool circulant est relativement isolé du contenu des tissus racinaires<sup>(99)</sup>. Ce comportement est implicitement prévu par l'hypothèse que les métabolites azotés de la sève véhiculeraient une information décodable par les systèmes de transport racinaire. En résumé, il existe un ensemble riche de données physiologiques suggérant que l'ajustement de l'absorption racinaire de  $\text{NO}_3^-$  aux besoins de la croissance est dû à des acides aminés ou autres composés azotés transportés dans les racines par le phloème. Les répressions et dérèpressions de l'absorption en réponse à ces signaux coordonneraient l'acquisition de l'azote et de la croissance.

Du fait de leur nature indirecte, ces données laissent dans l'ombre des points importants, dont le premier est l'identité des signaux. De même, on ne sait pas si la régulation de l'absorption est sous contrôle hormonal. La carence en azote entraîne une augmentation du rapport acide abscissique/cytokinines dans la sève du xylème<sup>(100)</sup>, mais cette réponse n'est pas spécifique de l'élément, et l'acide abscissique exogène ne stimule pas l'absorption de  $\text{NO}_3^-$ . Il est clair que l'on ne peut plus attendre de progrès significatif des approches descriptives sur plante entière, tant qu'une cible moléculaire des signaux de régulation n'aura pas été identifiée, soit par clonage d'un transporteur régulé, soit par caractérisation de mutant affecté dans le contrôle de l'absorption.

### *Effets des acides aminés, signaux de satiété répresseurs de l'absorption de $\text{NO}_3^-$*

L'absorption nette du nitrate résulte de la balance entre influx et efflux. La régulation de l'influx paraît être la règle dans la plupart des situations<sup>(101)</sup>, tandis que celle de l'efflux est plutôt une réponse aux stress mécaniques résultant par exemple de la manipulation des plantes<sup>(102-103)</sup>.

Au terme de la phase initiale d'induction, la capacité de transport de  $\text{NO}_3^-$  atteint un niveau d'autant plus élevé que le prétraitement sans azote était plus long. Plus tard, si la plante est maintenue en présence d'une source d'azote, on peut observer une phase de décroissance de l'influx de  $\text{NO}_3^-$ <sup>(104)</sup>. Ces phénomènes traduisent la

stimulation de l'absorption par des signaux de carence en azote, ou sa répression par des signaux de satiété d'azote. Ils sont à l'origine de l'ajustement de l'absorption racinaire de  $\text{NO}_3^-$  aux besoins de la plante en azote, en particulier à la demande de la croissance <sup>(1,4,105)</sup>.

La concentration de  $\text{NO}_3^-$  dans le cytoplasme exerce un double rétrocontrôle sur l'absorption nette : lorsque  $[\text{NO}_3^-]_{\text{cyt}}$  atteint une valeur critique (nettement supérieure au seuil d'induction), on observe une augmentation de l'efflux, mais aussi une diminution de l'influx <sup>(44)</sup>. Cette diminution de l'influx de  $\text{NO}_3^-$  persiste en présence d'inhibiteurs de la voie d'assimilation de l'ammonium, et s'observe chez des mutants dépourvus de nitrate réductase <sup>(106)</sup>, ce qui suggère qu'il s'agit d'une rétroinhibition par  $\text{NO}_3^-$  lui-même. Mais plusieurs produits du métabolisme de  $\text{NO}_3^-$  sont aussi inhibiteurs de l'influx de cet ion <sup>(106)</sup>. La rapidité et la réversibilité de l'inhibition de l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  par  $\text{NH}_4^+$  suggère un effet direct de ce cation sur les transporteurs de  $\text{NO}_3^-$  <sup>(107)</sup>. Dans d'autres cas, l'effet de  $\text{NH}_4^+$  sur l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  est éliminé par des inhibiteurs de la voie d'assimilation de  $\text{NH}_3$  (glutamine synthétase et glutamate synthase) <sup>(108)</sup>. Dans ces cas, l'effet inhibiteur de  $\text{NH}_4^+$  paraît s'exercer *via* les acides aminés synthétisés à partir de ce précurseur. Effectivement, certains acides aminés limitent l'absorption de  $\text{NO}_3^-$  <sup>(109-111)</sup>, en inhibant l'influx dans la racine <sup>(112)</sup>. Ce phénomène semble impliqué dans la dérégulation de ce transport qui suit la carence en azote <sup>(33,113)</sup>, et dans la répression du transport de  $\text{NO}_3^-$  chez les plantes correctement alimentées.

## Conclusion

Les approches physiologiques révèlent la puissance des mécanismes de régulation qui signalent aux transporteurs racinaires les besoins des parties aériennes. Ces régulations font que le prélèvement de  $\text{NO}_3^-$  par les racines est déterminé par la demande en azote de la plante, plutôt que par la disponibilité de l'azote dans le milieu. Mais la plante intègre aussi les informations relatives à cette disponibilité, dans une réponse adaptative qui optimise sa nutrition azotée. Les résultats des approches physiologiques *in vivo* et *in vitro*

illustrent clairement la forte dépendance du fonctionnement des transporteurs de  $\text{NO}_3^-$  vis-à-vis du développement et du statut nutritionnel des plantes. Mais la nature des mécanismes de régulation reste obscure. Pour surmonter cette difficulté, il faut avoir accès aux transporteurs eux-mêmes, plutôt qu'à leurs manifestations intégrées à l'échelle de la membrane, de la cellule et de la plante. La plateforme constituée par le *corpus* de données physiologiques disponibles permet d'espérer des progrès significatifs et rapides de nos connaissances sur la régulation du prélèvement de l'azote par les plantes, dès que les efforts de caractérisation moléculaire de leurs transporteurs de  $\text{NO}_3^-$  aboutiront. Le clonage des gènes de transporteurs de  $\text{NO}_3^-$  progresse rapidement. La caractérisation biochimique et fonctionnelle de leurs produits est actuellement l'étape limitante du progrès de nos connaissances.

## Bibliographie

- 1 - CLARKSON (D. T.), 1986 - « Regulation of the absorption and release of nitrate by plant cells : A review of current ideas and methodology » *Fundamental, ecological and agricultural aspects of nitrogen metabolism in higher plants* : 3-27.
- 2 - REDINBAUGH (M. G.), CAMPBELL (W. H.), 1991 - Higher plant responses to environmental nitrate. *Physiol. Plant*, 82 : 640-650.
- 3 - PARSONS (R.), STANFORTH (A.), RAVEN (J. A.), SPRENT (J. I.), 1993 - Nodule growth and activity may be regulated by a feedback mechanism involving phloem nitrogen. *Plant Cell Environ.*, 16 : 125-136.
- 4 - IMSANDE (J.), TOURAINE (B.), 1994 - N-demand and the regulation of nitrate uptake. *Plant Physiol.*, 105 : 3-7.
- 5 - CRAWFORD (N.), 1995 - Nitrate : nutrient and signal for plant growth. *Plant Cell*, 7 : 859-868.
- 6 - TRUEMAN (L. J.), ONYEOCHA (I.), FORDE (B.G.), 1996 - Recent advances in the molecular biology of a family of eucaryotic high affinity nitrate transporters. *Plant Physiol. Biochem.*, 34 : 621-627.
- 7 - YONEYAMA (T.), KOMAMURA (K.), KUMAZAWA (K.), 1975 - Nitrogen transport in intact corn roots. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 21 : 371-377.
- 8 - HENRIKSEN (G. H.), RAMAN (D. R.), WALKER (L. P.), SPANSWICK (R. M.), 1992 - Measurements of net fluxes of ammonium and nitrate at the surface of barley roots using ion-selective microelectrodes. II. Patterns of uptake along the root axis and evaluation of the microelectrode flux estimation. *Plant Physiol.*, 99 : 734-737.

- 9 - LAZOF (D. B.), RUFTY (T. W. JR), REDINBAUGH (M. G.), 1992 - Localization of nitrate absorption and translocation within morphological regions of the corn root. *Plant Physiol.*, 100 : 1251-1258.
- 10 - PAN (W. L.), JACKSON (W. W. A.), MOLL (R. H.), 1985 - Nitrate uptake and partitioning by corn (*Zea mays*) root systems and associated morphological differences among genotypes and stage of root development. *J. Exp. Bot.*, 36 : 1341-1351.
- 11 - WARNCKE (D. D.), BARBER (S. A.), 1974 - Root development and nutrient uptake by corn in solution culture. *Agron. J.*, 66 : 514-516.
- 12 - BARRACLOUGH (P. B.), 1986 - The growth and activity of winter wheat roots in the field : nutrient inflows of high-yielding crops. *J. Agric. Sci.*, 106 : 53-59.
- 13 - BARRACLOUGH (P. B.), 1989 - Root growth, macro-nutrient uptake dynamics and soil fertility requirements of a high-yielding winter oilseed rape crop. *Plant Soil.*, 119 : 59-70.
- 14 - ROBINSON (D.), 1986 - Limits to nutrient inflow rates in roots and root systems. *Physiol. Plant.*, 68 : 551-559.
- 15 - DREW (M. C.), SAKER (L. R.), 1975 - Nutrient supply and the growth of the seminal root system in barley. II. Localized compensatory increases in lateral root growth and rates of nitrate uptake when  $\text{NO}_3^-$  is restricted to only part of the root system. *J. Exp., Bot.* 26 : 79-80.
- 16 - BURNS (I. G.), 1991 - Short and long-term effects of a change in the spatial distribution of nitrate in the root zone on N uptake, growth and root development of young lettuce plants. *Plant Cell Environ.*, 14 : 21-33.
- 17 - ZHANG (H.), FORDE (B.G.), 1998 - An *Arabidopsis* MADS box gene that controls nutrient - induced changes in root architecture. *Science*, 279 : 407-409.
- 18 - CHAPIN (S. F.), WALTER (C. H. S.), CLARKSON (D. T.), 1988 - Growth response of tomato and barley to nitrogen stress and its control by abscissic acid, water relations and photosynthesis. *Planta*, 173 : 352-366.
- 19 - CARJAVAL (M.), COOKE (D. T.), CLARKSON (D. T.), 1996 - Responses of wheat plants to nutrient deprivation may involve the regulation of water-channel function. *Planta*, 199 : 372-381.
- 20 - RADIN (J. W.), ACKERSON (R. C.), 1981 - Water relations of cotton plants under nitrogen deficiency. *Plant Physiol.*, 67 : 115-119.
- 21 - RADIN (J. W.), BOYER (J. S.), 1982 - Control of leaf expansion by nitrogen nutrition in sunflower plants. *Plant Physiol.*, 69 : 771-775.
- 22 - RADIN (J. W.), MATTHEWS (M. A.), 1989 - Water transport properties of cortical cells in roots of nitrogen- and phosphorus-deficient cotton seedlings. *Plant Physiol.*, 89 : 264-268.
- 23 - STEUDDLE (E.), OREN (R.), SCHULZE (E. D.), 1987 - Water transport in maize roots. Measurement of hydraulic conductivity, solute permeability, and of reflection coefficients of excised roots using the root pressure probe. *Plant Physiol.*, 84 : 1220-1232.

- 24 - STEUDDLE (E.), MURRMANN (M.), PETERSON (C. A.), 1993 - Transport of water and solutes across maize roots modified by puncturing the epidermis. *Plant Physiol.*, 103 : 335-349.
- 25 - VAN OS (C.H.), DEEN (P. M. T.), DEMPSTER (J. A.), 1994 - Aquaporins : water selective channels in biological membranes. Molecular structure and tissue distribution. *Biochim. Biophys. Acta*, 1197 : 291-309.
- 26 - BARTHES (L.), BOUSSER (A.), HOARAU (J.), DÉLÉENS (E.), 1995 - Reassessment of the relationship between nitrogen supply and xylem exudation in detopped maize seedlings. *Plant Physiol. Biochem.*, 33 : 173-183.
- 27 - TSAY (Y. F.), SCHROEDER (J. I.), FELDMANN (K. A.), CRAWFORD (N. M.), 1993 - The herbicide sensitivity gene *CHL1* of Arabidopsis encodes a nitrate-inducible nitrate transporter. *Cell*, 72 : 705-713.
- 28 - LAUTER (F. R.), NINNEMANN (O.), BUCHER (M.), RIESMEIER (J. W.), FROMMER (W. B.), 1996 - Preferential expression of an ammonium transporter and of two putative nitrate transporters in root hairs of tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 : 8139-8144.
- 29 - TRUEMAN (L. J.), ONYEOCHA (I.), FORDE (B. G.), 1995 - « Cloning and analysis of putative high affinity nitrate transporters from barley and *Lotus japonicus*. » Tenth International Workshop on Plant Membrane Biology, Regensburg, august 6-11, 1995. Abstract R35.
- 30 - TRUEMAN (L. J.), RICHARDSON (A.), FORDE (B. G.), 1996 - Molecular cloning of higher plant homologues of the high affinity nitrate transporters of *Chlamydomonas reinhardtii* and *Aspergillus nidulans*. *Gene*, 175 : 223-231.
- 31 - UNKLES (S. E.), HAWKER (K. L.), GRIEVE (C.), CAMPBELL (E. I.), MONTAGUE (P.), KINGHORN (J. R.), 1991 - *crnA* encodes a nitrate transporter in *Aspergillus nidulans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88 : 204-208.
- 32 - QUESADA (A.), GALVAN (A.), FERNANDEZ (E.), 1994 - Identification of nitrate transporter genes in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant J.*, 5 : 407-419.
- 33 - SIDDIQI (Y.), GLASS (A. D. M.), RUTH (J.), MALA (F.), 1990 - Studies of the uptake of nitrate in barley. I. Kinetics of  $^{13}\text{NO}_3^-$  influx. *Plant Physiol.*, 93 : 1426-1432.
- 34 - NEYRA (C. A.), HAGEMAN (R. H.), 1975 - Nitrate uptake and induction of nitrate reductase in excised corn roots. *Plant Physiol.*, 56 : 692-695.
- 35 - MACKOWN (C. T.), MACCLURE (P. R.), 1988 - Development of accelerated net nitrate uptake : effects of nitrate concentration and exposure time. *Plant Physiol.*, 87 : 162-166.
- 36 - LEE (R. B.), DREW (M. C.), 1986 - Nitrogen - 13 studies of nitrate fluxes in barley roots. II. Effect of plant N-status on the kinetic parameter of nitrate influx. *J. Exp. Bot.*, 37 : 1768-1779.
- 37 - LU (Q.), BRISKIN (D. P.), 1993 - Modulation of the maize plasma membrane  $\text{H}^+/\text{NO}_3^-$  symport carrier by  $\text{NO}_3^-$ . *Phytochem.*, 33 : 1-8.
- 38 - TOMPKINS (G. A.), JACKSON (W. A.), VOLK (R. J.), 1978 - Accelerated nitrate uptake in wheat seedlings : effects of ammonium and nitrite pretreatments and 6-



methylpurine and puromycine.  
*Physiol. Plant.*, 43 : 166-171.

39 - BEHL (R.), TISCHNER (R.),  
RASCHKE (K.), 1988 -  
Induction of a high-capacity nitrate-  
uptake mechanism in barley roots  
prompted by nitrate uptake through a  
constitutive low-capacity mechanism.  
*Planta*, 176 : 235-240.

40 - SHIRAISHI (N.), SATO (T.),  
OGURA (N.), NAKAGAWA (H.), 1992 -  
Control by glutamine of the synthesis  
of nitrate reductase in cultured  
spinach cells. *Plant Cell Physiol.*, 33 :  
727-731.

41 - DHUGGA (K.), WAINES (J.),  
LEONARD (T.), 1988 -  
Correlated induction of nitrate  
uptake and membrane polypeptides  
in corn roots. *Plant Physiol.*,  
87 : 120-125.

42 - GEORGES (A.), MOREL (M. H.),  
GROUZIS (J. P.), 1996 -  
High resolution 2-D electrophoresis  
of polypeptides of maize root  
plasma membrane : identification of  
polypeptides whose expression is  
regulated by nitrate. *Plant Physiol.*,  
*Biochem.*, 34 : 863-870.

43 - TOMPKINS (G. A.),  
JACKSON (W. A.), VOLK (R. J.), 1978 -  
Accelerated nitrate uptake in wheat  
seedlings : effects of ammonium and  
nitrite pretreatments and 6-  
methylpurine and puromycine.  
*Physiol. Plant.*, 43 : 166-171.

44 - SIDDIQI (M. Y.), KING (B. J.),  
GLASS (A. D. M.), 1992 -  
Effects of nitrite, chlorate, and chlorite  
on nitrate uptake and nitrate  
reductase activity. *Plant Physiol.*,  
100 : 644-650.

45 - WARNER (R. L.),  
HUFFAKER (R. C.), 1989 -  
Nitrate transport is independent of  
NADH and NAD(P)H nitrate  
reductases in barley seedlings.  
*Plant Physiol.*, 91 : 947-953.

46 - VESSEY (J. K.), RAPER (C. D.),  
HENRY (L. T.), 1990 -  
Cyclic variations in nitrogen uptake  
rate in soybean plants : uptake during  
reproductive growth. *J. Exp. Bot.*,  
41 : 1579-1584.

47 - LIM (J. T.), WILKERSON (G. G.),  
RAPER (C. D. JR), GOLD (H. J.), 1990 -  
A dynamic model of vegetative  
soybean plants : model structure and  
behaviour under varying root  
temperature and nitrogen  
concentration. *J. Exp. Bot.*,  
41 : 221-241.

48 - ASLAM (M.), HUFFAKER (R. C.),  
RAINS (D. W.), RAO (K. P.), 1979 -  
Influence of light and ambient carbon  
dioxide concentration on nitrate  
assimilation by intact barley  
seedlings. *Plant Physiol.*,  
63 : 1205-1209.

49 - HANSEN (G.K.), 1980 -  
Diurnal variation of root respiration  
and nitrate uptake as influenced by  
nitrogen supply. *Physiol. Plant.*,  
48 : 421-427.

50 - RUFTY (T. W. JR),  
MACKOWN (C. T.), VOLK (R. J.), 1989 -  
Effects of altered carbohydrate  
availability on whole plant  
assimilation of  $^{15}\text{NO}_3^-$ .  
*Plant Physiol.*, 89 : 457-463.

51 - DELHON (P.), GOJON (A.),  
TILLARD (P.), PASSAMA (P.), 1995 -  
Diurnal regulation of  $\text{NO}_3^-$  uptake  
in soybean plants. II. *J. Exp. Bot.*,  
46 : 1595-1602.

52 - SASAKAWA (H.),  
LA RUE (T. A.), 1986 -  
Root respiration associated with  
nitrate assimilation in cowpea.  
*Plant Physiol.*, 81 : 972-975.

53 - BLOOM (A. J.), SUKRAPANNA (S. S.),  
WARNER (R.), 1992 -  
Root respiration associated with  
ammonium and nitrate absorption and  
assimilation by barley. *Plant Physiol.*,  
99 : 1294-1301.

- 54 - BOUMA (T. J.),  
DE VISSER (R.), 1993 -  
Energy requirements for maintenance  
of ion concentrations in roots.  
*Physiol. Plant.*, 89 : 113-142.
- 55 - ZHEN (R.- G.), KOYRO (H.- W.),  
LEIGH (R. A.), TOMOS (A. D.),  
MILLER (A. J.), 1991 -  
Compartmental nitrate concentrations  
in barley root cells measured with  
nitrate-selective microelectrodes and  
by single-cell sap sampling. *Planta*,  
185 : 356-361.
- 56 - MILLER (A. J.),  
SMITH (S. J.), 1992 -  
The mechanism of nitrate transport  
across the tonoplast of barley root  
cells. *Planta*, 187 : 554-557.
- 57 - PACE (G. M.),  
MACCLURE (P. R.), 1986 -  
Comparison of nitrate uptake kinetic  
parameters across maize inbred  
lines. *J. Plant Nutr.*, 9 : 1095-1011.
- 58 - MARSCHNER (H.),  
RÖMHELD (V.), 1983 -  
*In vivo* measurement of root-induced  
pH changes at the soil-root interface :  
effect of plant species and nitrogen  
source. *Z. Pflanzenphysiol*,  
111 : 241-251.
- 59 - BLOM-ZANDSTRA (M.),  
JUPEIJN (G. L.), 1987 -  
A computer-controlled multi-titration  
system to study transpiration, OH<sup>-</sup>  
efflux and nitrate uptake by intact  
lettuce plants. *Plant Cell Environ.*,  
10 : 545-550.
- 60 - KELTJENS (W. G.),  
NIJENSTEIN (J. H.), 1987 -  
Diurnal variation in uptake, transport  
and assimilation of NO<sub>3</sub><sup>-</sup> and efflux of  
OH<sup>-</sup> in maize plants. *J. Plant Nutr.*,  
10 : 887-900.
- 61 - NYE (P. H.) 1987 -  
Acid-base changes in the  
rhizosphere. *Adv. Plant. Nutr.*,  
2 : 129-153.
- 62 - LOSS (S. P.), ROBSON (A. D. M.),  
RITCHIE (G. S. P.), 1993 -  
H<sup>+</sup>/OH<sup>-</sup> excretion and nutrient uptake  
in upper and lower parts of lupin  
(*Lupinus angustifolius* L.) root  
systems. *Ann. Bot.*, 72 : 315-320.
- 63 - 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.*, 42 : 6-14.
- 64 - THIBAUD (J. B.),  
GRIGNON (C.), 1981 -  
Mechanism of nitrate uptake in corn  
roots. *Plant Sci.*, 22 : 279-289.
- 65 - MACCLURE (P. R.),  
KOCHIAN (L. V.), SPANSWICK (R. M.),  
SHAFF (J. E.), 1990 -  
Evidence for cotransport of nitrate  
and protons in maize roots. I. Effects  
of nitrate on the membrane potential.  
*Plant Physiol.*, 93 : 281-289.
- 66 - ULLRICH (C.),  
NOVACKY (A.), 1990 -  
Extra and intra cellular pH membrane  
and potential changes induced by K<sup>+</sup>,  
Cl<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> and NO<sub>3</sub><sup>-</sup> uptake and  
fusicoocin in root hairs of *Limnobium  
stoloniferum*. *Plant Physiol.*,  
94 : 1561-1567.
- 67 - RUIZ-CRISTIN (J.),  
BRISKIN (D. P.), 1991 -  
Characterization of a H<sup>+</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup>  
symport associated with plasma  
membrane vesicles of maize roots  
using <sup>36</sup>ClO<sub>3</sub><sup>-</sup> as a radiotracer analog.  
*Archiv. Biochem. Biophys.*,  
285 : 74-82.
- 68 - GLASS (A. D. M.), SHAFF (J. E.),  
KOCHIAN (L. V.), 1992 -  
Studies of the uptake of nitrate in  
barley. IV. Electrophysiology. *Plant  
Physiol.*, 99 : 456-463.
- 69 - RAVEN (J. A.), 1985 -  
pH regulation in plants. *Sci. Prog.  
Oxford*, 69 : 495-509.

- 70 - ANDREWS (M.), 1986 -  
The partitioning of nitrate assimilation  
between root and shoot of higher  
plants. *Plant Cell Environ.*,  
9 : 511-519.
- 71 - DIJKSHOORN (W.),  
LARTHWELL (D. J.),  
DE WIT (C. T.), 1968 -  
Temporal changes in carboxylate  
content of rye grass with stepwise  
change in nutrition. *Plant Soil.*,  
29 : 369-390.
- 72 - BEN ZIONI (A.), VAADIA (Y.),  
LIPS (S. H.), 1971 -  
Nitrate uptake by roots as regulated  
by nitrate reduction products of the  
shoot. *Physiol. Plant.*, 24 : 288-290.
- 73 - TOURAINE (B.), GRIGNON (N.),  
GRIGNON (C.), 1988 -  
Charge balance in  $\text{NO}_3^-$  fed soybean.  
Estimation of  $\text{K}^+$  and carboxylate  
recirculation. *Plant Physiol.*,  
88 : 605-612.
- 74 - TOURAINE (B.), GRIGNON (N.),  
GRIGNON (C.), 1990 -  
Interaction between  $\text{NO}_3^-$  assimilation  
in shoots and  $\text{NO}_3^-$  uptake by roots of  
soybean (*Glycine max*) plants : role  
of carboxylate. *Plant Soil.*,  
124 : 169-174.
- 75 - TOURAINE (B.), MULLER (B.),  
GRIGNON (C.), 1992 -  
Effect of phloem-translocated malate  
on  $\text{NO}_3^-$  uptake by roots of intact  
soybean plants. *Plant Physiol.*,  
99 : 1118-1123.
- 76 - HALSE (N. J.),  
GREENWOOD (E. A. N.), LAPINS (R.),  
BOUNDY (C. A. P.), 1969 -  
An analysis of the effects of  
nitrogen deficiency on the growth  
and yield of a western australian  
wheat crop. *Austr. J. Agric. Res.*,  
20 : 987-998.
- 77 - CLEMENT (C. R.), HOPPER (M. J.),  
JONES (L. H. P.), 1978 -  
The uptake of nitrate by *Lolium  
perenne* from flowing nutrient  
solution. I. Effect of  $\text{NO}_3^-$   
concentration. *J. Exp. Bot.*,  
29 : 453-464.
- 78 - RODGERS (C. O.),  
BARNEIX (A. J.), 1988 -  
Cultivar differences in the rate of  
nitrate uptake by intact wheat plants  
as related to growth rate. *Physiol.  
Plant.*, 72 : 121-126.
- 79 - SWIADER (J. M.), CHYAN (Y.),  
SPLITTSTOESSER (W. E.), 1991 -  
Genotypic differences in nitrogen  
uptake, dry matter production, and  
nitrogen distribution in pumpkins  
(*Cucurbita moschata* Poir.). *J. Plant  
Nutr.*, 14 : 511-524.
- 80 - CLARKSON (D. T.), HOPPER (M. J.),  
JONES (L. H. P.), 1986 -  
The effect of root temperature on the  
uptake of nitrogen and the relative  
size of the root system in *Lolium  
perenne*. I. Solutions containing both  
 $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_3^-$ . *Plant. Cell. Environ.*,  
9 : 535-545.
- 81 - CLEMENT (C. R.), HOPPER (M. J.),  
JONES (L. H. P.), LEAF (E. L.), 1978 -  
The uptake of nitrate by *Lolium  
perenne* from flowing nutrient  
solution. II. Effect of light, defoliation  
and relationship of  $\text{CO}_2$  flux.  
*J. Exp. Bot.*, 29 : 453-464.
- 82 - GASTAL (F.), SAUGIER (B.), 1989 -  
Relationships between nitrogen  
uptake and carbon assimilation in  
whole plants of tall fescue. *Plant Cell  
Environ.*, 12 : 407-418.
- 83 - HELAL (H. M.), MENGEL (K), 1979 -  
Nitrogen metabolism of young barley  
plants as affected by NaCl-salinity and  
potassium. *Plant Soil.*, 51 : 457-462.
- 84 - LUQUE (A. A.),  
BINGHAM (F. T.), 1981 -  
The effect of osmotic potential and  
specific ion concentration of the  
nutrient solution on the uptake and  
reduction of nitrate by barley  
seedlings. *Plant Soil.*, 63 : 227-237.

- 85 - TAN (K.), KELTJENS (W. G.), 1990 - « Effect of aluminium on growth, nutrient uptake, proton efflux and phosphorus assimilation of aluminium-tolerant and -sensitive sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes. » In : *Plant nutrition - physiology and applications*, (M. L.) Van Beusichem éd. Kluwer Academic Publ. Dordrecht : 397-401.
- 86 - SCHUBERT (S.), SCHUBERT (E.), MENGEL (K.), 1990 - « Effect of low pH of the root medium on proton release, growth and nutrient uptake of field beans (*Vicia faba*). » In *Plant nutrition - physiology and applications*, (M. L.) Van Beusichem éd. Kluwer Academic Publ. Dordrecht, 443-448.
- 87 - JACKSON (W. A.), KWIK (K. D.), VOLK (R. J.), 1976 - Nitrate uptake during recovery from nitrogen deficiency. *Plant Physiol.*, 36 : 174-181.
- 88 - MacKOWN, VOLK (R. J.), JACKSON (W. A.), 1981 - Nitrate accumulation, assimilation and transport by decapitated corn roots. *Plant Physiol.*, 68 : 133-138.
- 89 - LEE (R. B.), 1982 - Selectivity and kinetics of ion uptake by barley plants of following nutrient deficiency. *Ann. Bot.*, 50 : 429-449.
- 90 - LEE (R. B.), RUDGE (K. A.), 1986 - Effects of nitrogen deficiency on the absorption of nitrate and ammonium by barley plants. *Ann. Bot.*, 57 : 471-486.
- 91 - CHAPIN III (F. S.), CLARKSON (D. T.), LENTON (J. R.), WALTER (C. H. S.), 1988 - Effect of nitrogen stress and abscissic acid on nitrate absorption and transport in barley and tomato. *Planta*, 173 : 340-351.
- 92 - BOWMAN (D. C.), PAUL (J. L.), 1988 - Uptake and assimilation of  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NH}_4^+$  by nitrogen-deficient perennial ryegrass turf. *Plant Physiol.*, 88 : 1303-1309.
- 93 - RODGERS (C. O.), BARNEIX (A. J.), 1989 - The effect of N-deprivation on nitrate uptake and growth rate of two wheat cultivars selected for different fertility levels. *Plant Physiol. Biochem.*, 27 : 387-392.
- 94 - EDWARDS (J. H.), BARBER (S. A.), 1976 - Nitrogen flux into corn roots as influenced by shoot requirement. *Agron. J.*, 68 : 471-473.
- 95 - SIMPSON (R. J.), LAMBERS (H.), DALLING (M. J.), 1982 - Kinetin application to roots and its effect on uptake, translocation and distribution of nitrogen in wheat (*Triticum aestivum*) grown with a split root system. *Physiol. Plant.*, 56 : 430-435.
- 96 - DREW (M. C.), SAKER (L. R.), 1984 - Uptake and long-distance transport of phosphate, potassium and chloride in relation to internal ion concentrations in barley : evidence of non-allosteric regulation. *Planta*, 160 : 500-507.
- 97 - FELLOWS (R. J.), EGLI (D. B.), LEGGETT (J. E.), 1978 - A pod leakage technique for phloem translocation studies in soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Plant Physiol.*, 62 : 812-814.
- 98 - ALLEN (S.), RAVEN (J. A.), 1987 - Intracellular pH regulation in *Ricinus communis* grown with ammonium or nitrate as N sources : the role of long distance transport. *J. Exp. Bot.*, 38 : 580-596.

- 99 - COOPER (H. D.), CLARKSON (D. T.), 1989 - Cycling of amino-nitrogen and other nutrients between shoots and roots in cereals - A possible mechanism integrating shoot and root in the regulation of nutrient uptake. *J. Exp. Bot.*, 40 : 753-762.
- 100 - CHAPIN III (F. S.), 1990 - Effects of nutrient deficiency on plant growth : evidence for a centralized stress-response system. In *Importance of root to shoot communication in the responses to environmental stress*. (W. J.) Davies *et al.* éd. British Society for Plant Growth Regulation, Bristol, 135-148.
- 101 - LEE (R. B.), 1993 - Control of net uptake of nutrients by regulation of influx in barley plants recovering from nutrient deficiency. *Ann. Bot.*, 72 : 223-230.
- 102 - BLOOM (A. J.), SUKRAPANNA (S. S.), 1990 - Effects of exposure to ammonium and transplant shock upon the induction of nitrate absorption. *Plant Physiol.*, 94 : 85-90.
- 103 - DELHON (P.), GOJON (A.), TILLARD (P.), PASSAMA (P.), 1995 - Diurnal regulation of  $\text{NO}_3^-$  uptake in soybean plants. I. *J. Exp. Bot.*, 46 : 1585-1594.
- 104 - MINOTTI (P. L.), WILLIAMS (D. C.), JACKSON (W. A.), 1968 - Nitrate uptake and reduction as affected by calcium and potassium. *Soil. Sci. Soc. Am. Proc.*, 32 : 692-698.
- 105 - CLARKSON (D. T.), LÜTTGE (U.), 1991 - Mineral nutrition : inducible and repressible nutrient transport systems. *Progress in Botany*, 52 : 61-83.
- 106 - KING (B. J.), SIDDIQI MY, RUTH (T. J.), WARNER (R. L.), GLASS (A. D. M.), 1993 - Feedback regulation of nitrate influx in barley roots by nitrate, nitrite, and ammonium. *Plant Physiol.*, 102 : 1279-1286.
- 107 - LEE (R. B.), DREW (M. C.), 1989 - Rapid, reversible inhibition of nitrate influx in barley by ammonium. *J. Exp. Bot.*, 40 : 741-752.
- 108 - BRETLETER (H.), SIEGERIST (M.), 1984 - Effect of ammonium on nitrate utilization by roots of dwarf bean. *Plant Physiol.*, 75 : 1099-1103.
- 109 - DODDEMA (H.), OTTEN (H.), 1979 - Uptake of nitrate by mutants of *Arabidopsis thaliana*, disturbed in uptake or reduction of nitrate. III. Regulation. *Physiol. Plant.*, 45 : 339-346.
- 110 - BRETLETER (H.), ARNOZIS (P. A.), 1985 - Effects of amino compounds on nitrate utilization by roots of dwarf bean. *Phytochem.*, 24 : 653-658.
- 111 - MULLER (B.), TOURAINE (B.), 1992 - Inhibition of  $\text{NO}_3^-$  uptake by various phloem translocated amino acids in soybean seedlings. *J. Exp. Bot.*, 43 : 617-623.
- 112 - MULLER (B.), TILLARD (P.), TOURAINE (B.), 1995 - Nitrate fluxes in soybean seedling roots and their response to amino acids : an approach using  $^{15}\text{N}$ . *Plant Cell Environ.*, 18 : 1267-1279.
- 113 - HOLE (D. J.), EMRAN (A. M.), FARES (Y. F.), DREW (M. C.), 1990 - Induction of nitrate transport in maize roots, and kinetics of influx, measured with nitrogen-13. *Plant Physiol.*, 93 : 642-647.