



Avant propos :

La synthèse bibliographique qui va suivre est la première partie d'une synthèse globale sur l'absorption et l'assimilation des différentes formes d'azote par les végétaux supérieurs.

Cette première partie concerne le nitrate et l'ammonium. La deuxième partie concernera l'urée, les acides aminés et l'azote atmosphérique. La troisième partie sera orientée sur la nutrition azotée chez la vigne.

La quatrième et dernière partie sera une synthèse succincte des trois autres qui mettra l'accent sur les avantages et inconvénients de l'absorption et de l'assimilation des différentes formes d'azotes chez les plantes.



Partie I : absorption et assimilation du nitrate et de l'ammonium chez les végétaux supérieurs





Introduction

I) Rappel sur les transports actifs et passifs des ions dans la plante

II) Absorption et assimilation du nitrate

II.1) Absorption du nitrate

II.2) Régulation de l'absorption du nitrate

II.3) Assimilation et devenir du nitrate dans la plante

III) Absorption et assimilation de l'ammonium

III.1) Absorption de l'ammonium

III.2) Régulation de l'absorption de l'ammonium

III.3) Devenir et assimilation de l'ammonium dans la plante

III.3.a) Devenir de l'ammonium dans la plante

III.3.b) Assimilation de l'ammonium dans la plante

IV) Synthèse des acides aminés et des protéines

Références bibliographiques



Introduction

Les végétaux ont trois sources d'azote (Soltner, 2007) :

- **l'azote minéral du sol** qu'ils absorbent sous forme d'ions NO_3^- et NH_4^+ dissous dans l'eau du sol et provenant de la minéralisation des matières organiques du sol (minéralisation primaire et minéralisation de l'humus), des apports d'engrais azotés et de l'ammoniaque (NH_4OH) apporté par les pluies orageuses,
- **l'azote organique** que les végétaux peuvent absorber sous forme de petites molécules, certaines espèces étant plus capables que d'autres d'utiliser ces formes,
- **l'azote gazeux de l'air** (dans le sol par les racines et dans l'atmosphère par les tiges) que certains végétaux peuvent absorber généralement par l'intermédiaire de microorganismes avec lesquels ils vivent en symbiose.

La décomposition des matières azotées du sol aboutit à la formation d'ions ammonium NH_4^+ et d'ions nitrate NO_3^- au cours de processus microbiens que sont (Soltner, 2007) :

- la **protéolyse**, dégradation des protéines en acides aminés et en amides tels que l'urée,
- **l'ammonisation**, réduction de l'urée avec production d'ions ammonium NH_4^+ ,
- la **nitrification**, oxydation de l'ammoniac (NH_3) en acide nitreux (HNO_2) et ions nitreux NO_2^- (nitritation ou nitrosation), puis en acide nitrique (HNO_3) et ions nitrates NO_3^- (nitratation).





Donc, dans le sol, le nitrate et l'ammonium sont les deux principales formes d'azote inorganique disponibles pour la plante mais elle peut aussi absorber et assimiler de l'urée et des acides aminés (Raven et *al.*, 1992).

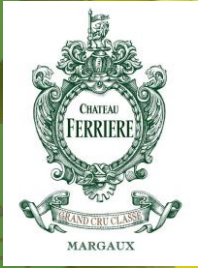
La disponibilité en azote du sol peut varier en fonction de facteurs tels que les précipitations, la température, le type de sol, le pH et les apports. Par conséquent, la forme préférée dans laquelle l'azote est prélevé par la plante dépend de l'adaptation des plantes aux conditions du sol.

En règle générale, les plantes adaptées aux sols acides, pauvres en oxygène (réducteurs) et détrempés ont tendance à absorber de l'ammonium ou des acides aminés tandis que les plantes adaptées aux sols à pH plus élevés et riches en oxygène absorbent préférentiellement du nitrate (Maathuis, 2009).

L'utilisation de l'azote par les plantes nécessite plusieurs étapes : l'absorption, l'assimilation, la translocation et quand les plantes vieillissent, le recyclage et la remobilisation (Masclaux-Daubresse et *al.*, 2010).



I) Rappel sur les transports actifs et passifs des ions dans la plante



L'énergie d'un ion « i » dans un compartiment donné est définie par son **potentiel électrochimique** μ_i (exprimé en $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$) qui dépend essentiellement de la **concentration** (C_i) de cet ion dans ce compartiment, de sa valence (z), et du **potentiel électrique** (Ψ_i) auquel se trouve ce compartiment (Morot-Gaudry et *al.*, 2017).



La variation du potentiel électrochimique ($\Delta\mu_i$) lors du passage de l'ion « i » d'un compartiment à un autre ne dépend donc que de la concentration C et du potentiel électrique Ψ dans chacun des compartiments (Morot-Gaudry et *al.*, 2017).





- Le transport d'un ion « i » est dit **passif** d'un compartiment 1 à un compartiment 2 (par exemple de la solution du sol au cytosol d'un poil absorbant racinaire), lorsqu'il s'effectue dans le sens d'une diminution du potentiel électrochimique de cet ion. Autrement dit quand l'énergie de l'ion est plus faible dans le compartiment d'arrivée que dans le compartiment d'origine : dans ce cas $\Delta\mu_i$ est négatif ($\Delta\mu_i < 0$) et l'ion emprunte une voie de pénétration dans le plasmalemme en migrant « spontanément » dans le sens d'une descente de son potentiel électrochimique (figure 1) (Morot-Gaudry et al., 2017).

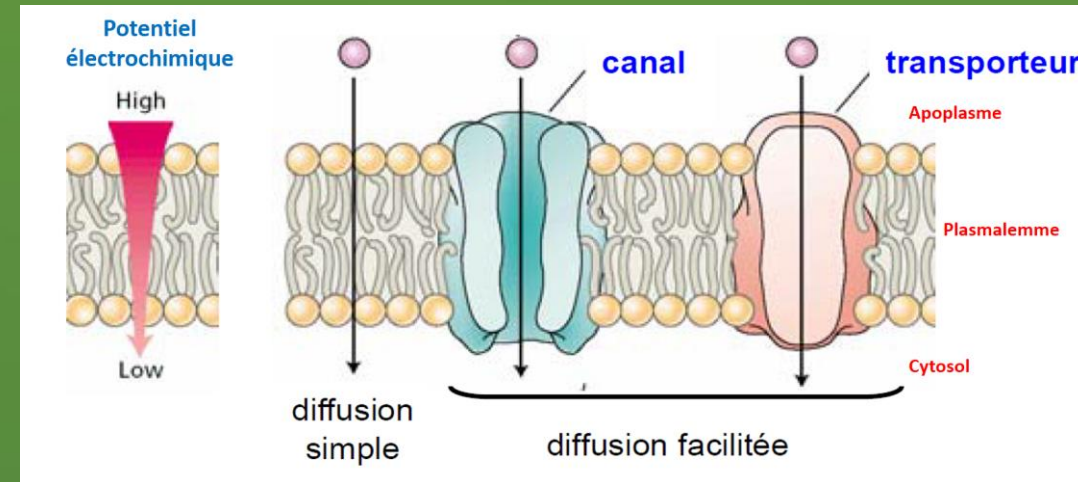
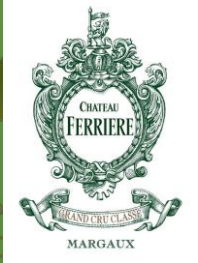


Figure 1 : les trois types de transport passif.

Il existe trois types de transport passif : par diffusion simple, par diffusion facilitée par des canaux et par diffusion facilitée par des transporteurs en uniport (figure 1).

- Le transport d'un ion « i » est dit **actif** lorsque l'énergie de l'ion est au contraire plus forte dans le compartiment d'arrivée que dans le compartiment d'origine. Le transport actif s'effectue dans le sens d'une augmentation du potentiel électrochimique de l'ion : dans ce cas $\Delta\mu_i$ est positif ($\Delta\mu_i > 0$) et l'ion est pris en charge par un système de transport qui lui transfère de l'énergie pour le faire passer d'un potentiel énergétique plus élevé dans le compartiment d'arrivée que dans celui de départ en traversant la membrane plasmique (Morot-Gaudry et al., 2017).



Deux types de système de transport sont capables de réaliser un **transport actif** (Morot-Gaudry et *al.*, 2017). :

- les **pompes ioniques primaires** ou pompe à protons H^+ /ATPases,
- les **systèmes de transport secondaire** ou **co-transport**.

- Les **pompes ioniques primaires** H^+ /ATPases (figure 2) tirent leur énergie directement de l'hydrolyse de l'ATP qui fournit l'énergie nécessaire au transport de protons (H^+) du cytosol vers le milieu extérieur contre son potentiel électrochimique (Morot-Gaudry et *al.*, 2017).

Puisque ce sont des charges électriques positives (H^+) qui se déplacent du cytosol vers le milieu extérieur, le cytosol acquiert un potentiel électrique négatif par rapport au milieu : elles permettent d'entretenir localement le gradient de protons entre milieu extracellulaire et cytosol, ce qui permet le fonctionnement des systèmes de transport secondaire (Morot-Gaudry et *al.*, 2017).

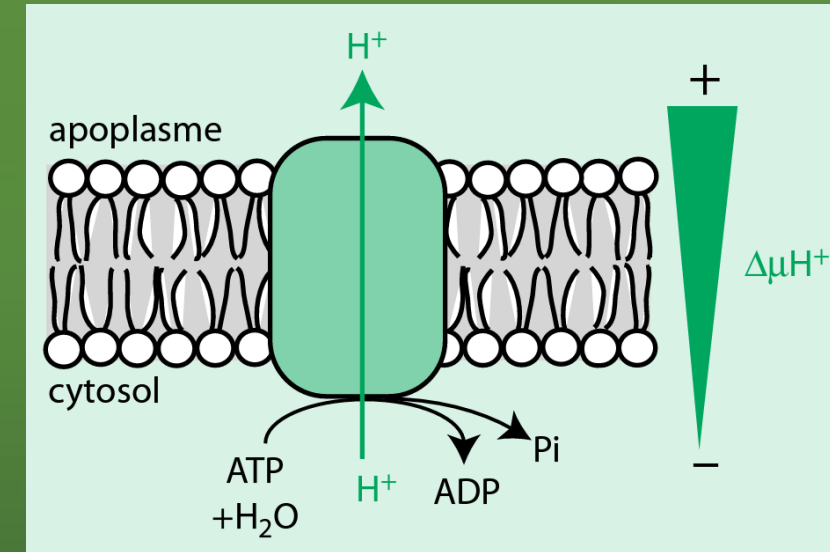


Figure 2 : principe de fonctionnement des pompes ioniques primaires (H^+ /ATPases de type P) de la membrane plasmique. Le transfert de protons d'un côté à l'autre de la membrane se traduit par l'établissement d'une différence de potentiel électrochimique de H^+ , c'est-à-dire d'une différence de potentiel électrique ($\Delta\Psi$) et de pH (ΔpH) (Morot-Gaudry et *al.*, 2017).



Les pompes ioniques primaires ont pour effet d'acidifier localement le sol : le rejet de protons au niveau des poils absorbants implique le remplacement progressif des cations présents dans la solution du sol (éventuellement associés au CAH) par des protons, ce qui induit localement une acidification progressive du sol (figure 3) (Campbell & Reece, 2004).

Ainsi, les protons en solution dans le sol contribuent à rendre disponibles certains éléments pour la plante. Pour ce faire, ils prennent la place des minéraux chargés positivement (des cations comme Ca^{2+}) qui étaient fermement liés à la surface des fines particules chargées négativement (figure 3) (Campbell & Reece, 2004).

Une plante contribue de deux façons à la concentration molaire volumique de H^+ dans le sol :

- par la sécrétion des protons
- par la respiration cellulaire dans ses racines.

La respiration cellulaire des racines libère dans le sol du CO_2 qui réagit avec l'eau pour donner de l'acide carbonique (H_2CO_3). La dissociation de cet acide carbonique augmente le nombre de protons dans le sol (figure 3).

➤ Les racines ne peuvent donc pas exploiter indéfiniment la même zone du sol et sont « condamnées » à croître.

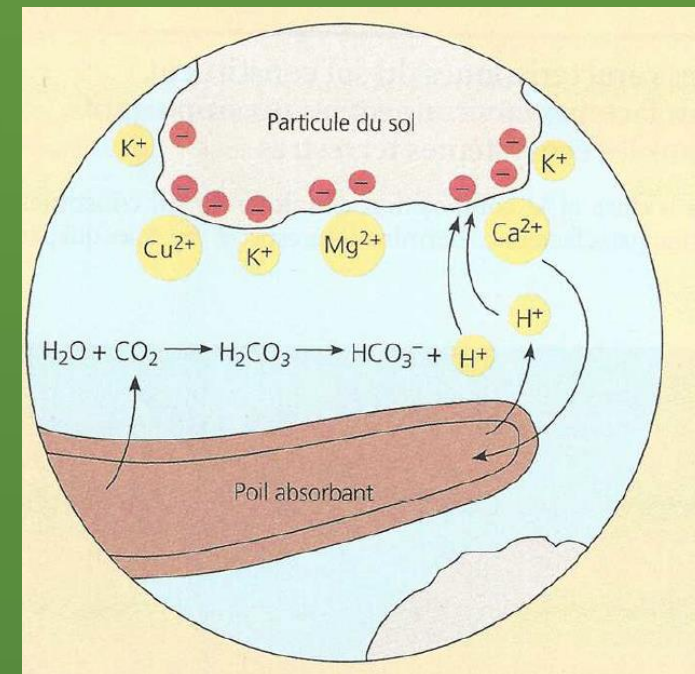


Figure 3 : l'acidification du sol, une conséquence de l'absorption racinaire (d'après Campbell & Reece, 2004).



- Les systèmes de transport secondaire ou co-transport (figure 4) réalisent un couplage énergétique entre une pompe ionique primaire qui transporte activement un ion (généralement des protons H^+) et un transporteur (symport ou antiport) qui assure à la fois le retour passif de l'ion délocalisé par la pompe (protons H^+) et le transport actif d'un autre ion (Morot-Gaudry et *al.*, 2017).

Il s'agit d'un symport si les deux substrats (le soluté et H^+), sont transportés dans le même sens (on parle alors de transport actif secondaire de type symport), et d'un antiport si les deux substrats sont transportés en sens contraire (on parle alors de transport actif secondaire de type antiport) (Morot-Gaudry et *al.*, 2017).

Contrairement aux pompes ioniques primaires, les systèmes de transport secondaire n'utilisent pas l'énergie qui leur sont directement fournie par l'hydrolyse de l'ATP mais c'est la différence de potentiel électrochimique qui est utilisée (Morot-Gaudry et *al.*, 2017).

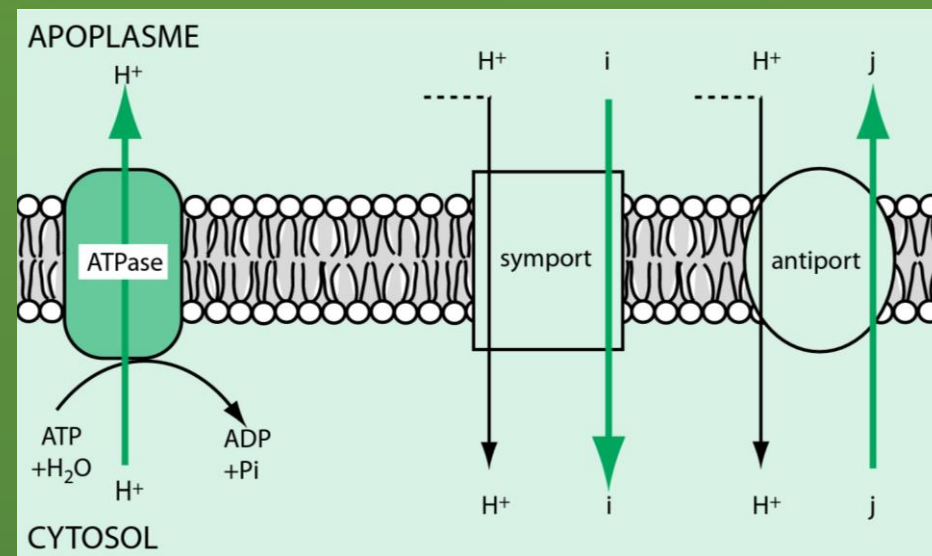
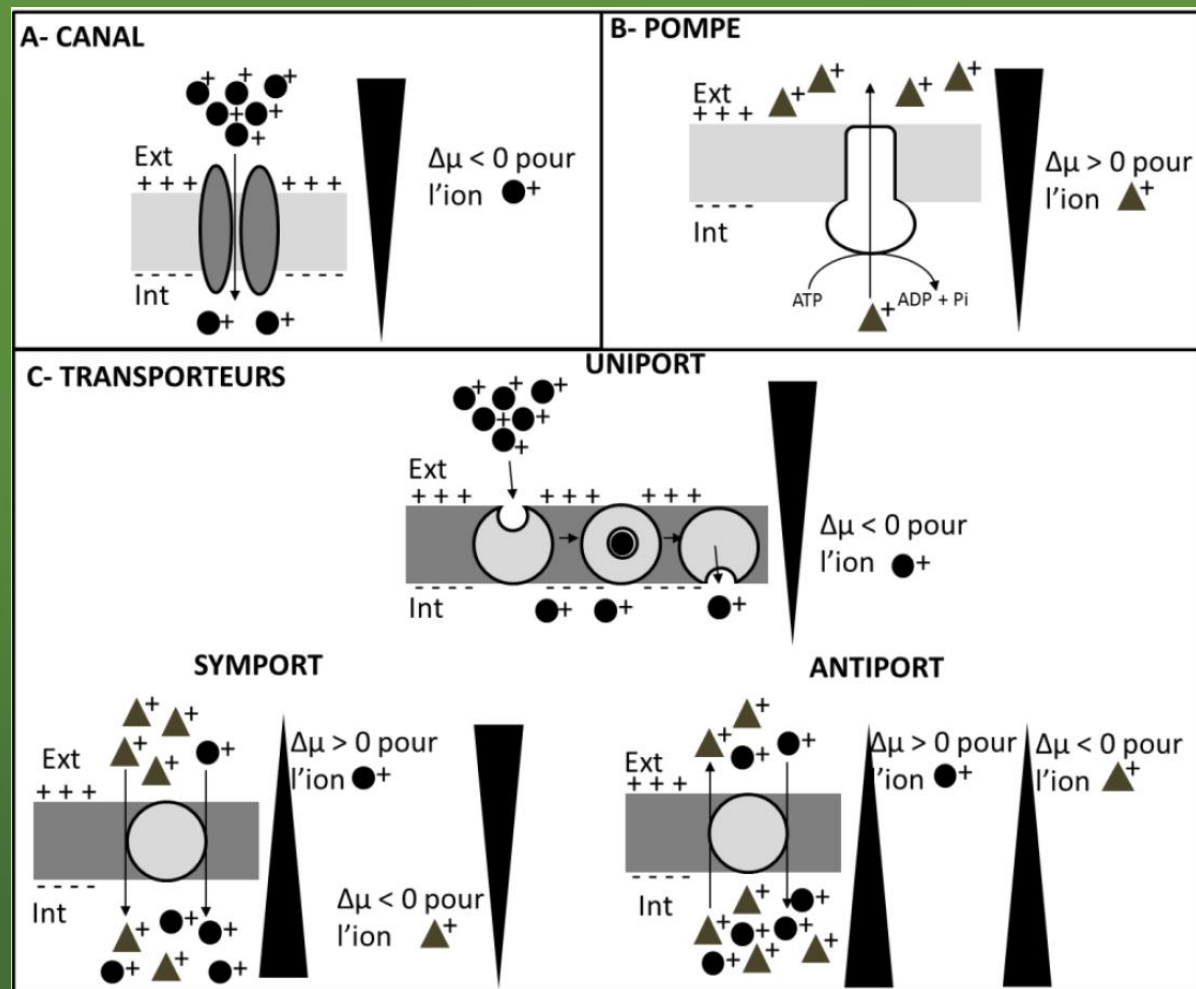


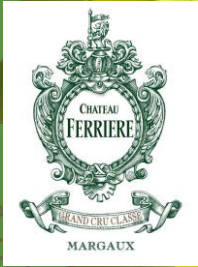
Figure 4 : principe de fonctionnement d'un transports secondaire ou co-transport de la membrane plasmique (Morot-Gaudry et *al.*, 2017). Les ions sont transportés activement soit dans le sens de l'influx (i) soit dans le sens de l'efflux (j). L'ATPase pompe à H^+ génère un gradient de H^+ ($\Delta\mu H^+$) à travers la membrane. Le gradient est alors utilisé pour diriger un flux de H^+ de retour vers le compartiment d'origine (le cytosol) à travers des systèmes de transport actifs i ou j. Au niveau des transporteurs de ces ions, le flux de retour spontané des H^+ est couplé soit à l'entrée active de l'ion i (symport), soit à la sortie active de l'ion j (antiport).

La figure 5 reprend les trois types de systèmes de transport.

Figure 5 : les trois types de systèmes de transport (Genies, 2017).

- A) Les canaux facilitent le transport des ions dans le sens du gradient électrochimique.
B) Les pompes ioniques permettent le transport des ions contre le sens du gradient électrochimique.
C) Les transporteurs regroupent un ensemble de protéines capables de faciliter le transport d'ions dans le sens du gradient électrochimique (uniport) ou dans le sens opposé grâce au couplage avec le transport d'un autre élément (symport ou antiport couplé à une pompe ioniques).





D'une manière générale :

- l'absorption des cations nutritifs (K^+ , Na^+ , Ca^{2+}) par les racines de la plante est presque toujours passive (diffusion simple ou diffusion facilitée au travers de canaux) mais nécessite un transport actif secondaire de type antiport pour les expulser du cytosol (Na^+ , Ca^{2+}) afin que leur entrée ne soit pas trop importante (figure 6).
- l'absorption des anions nutritifs (NO_3^- , PO_4^{3-}) par les racines de la plante est presque toujours active (transport actif secondaire de type symport) car ces ions sont souvent moins concentrés dans le sol que dans le cytosol et parce que le potentiel électrique négatif du cytosol les repousse (figure 6).

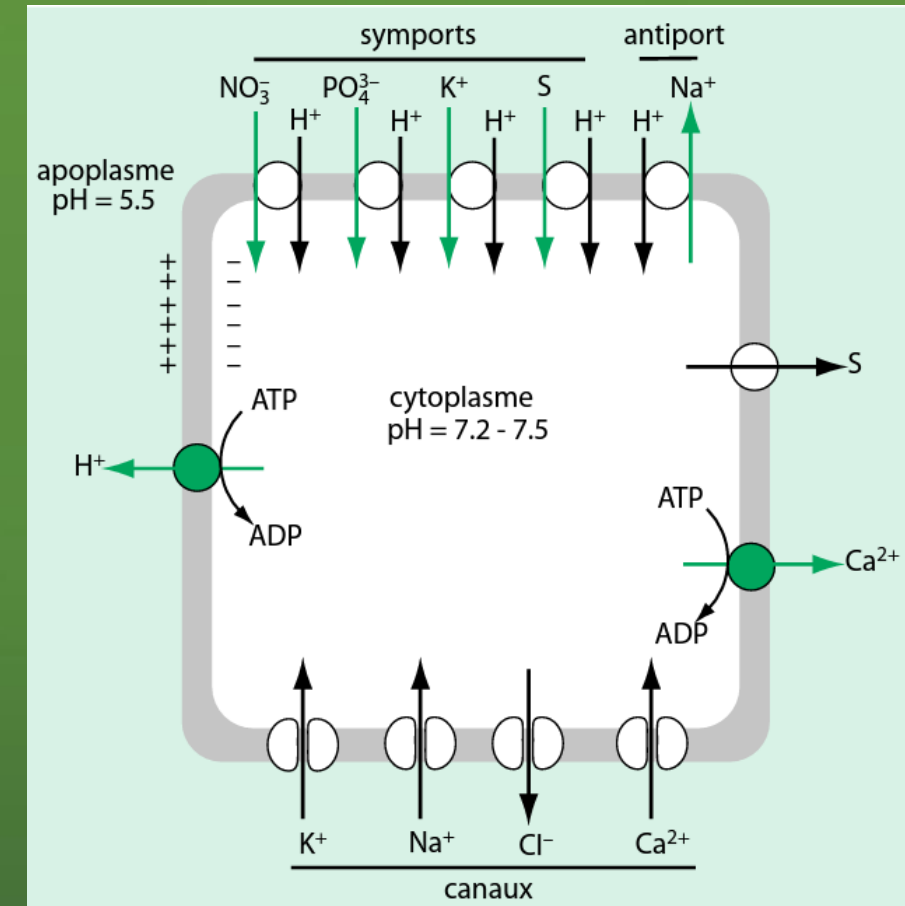


Figure 6 : Les principaux systèmes de transport de la membrane plasmique (Morot-Gaudry et al., 2017).



II) Absorption et assimilation nitrate

II.1) Absorption du nitrate

L'absorption du nitrate du sol implique tout d'abord le franchissement de la membrane plasmique (ou plasmalemm) des cellules racinaires. Dans le cas du nitrate, le potentiel négatif de la membrane plasmique ainsi que le gradient croissant de concentration ne permettent pas en général l'entrée passive du nitrate dans le cytosol : le nitrate est plus concentré dans le cytosol des cellules racinaires que dans le sol (Crawford, 1995 ; Miller et *al.*, 2009).

Un système de transport secondaire (transport actif) est donc nécessaire (Glass et Siddiqi, 1995 ; Morot-Gaudry et *al.*, 2006) : c'est l'utilisation d'inhibiteurs métaboliques qui a permis de mettre en évidence que le transport du nitrate est actif et qu'il nécessite de l'énergie (Bloom et *al.*, 1992 ; Forde, 2000).

Cette énergie est fournie par une hydrolyse d'ATP (pompes ioniques primaires H^+ /ATPases) et par exemple chez l'orge il faut 1 à 3 moles d'ATP pour transporter une mole de nitrate (Bloom et *al.*, 1992) soit 10 % à 20 % du coût énergétique total de l'assimilation du nitrate.

Le transport du nitrate à travers la membrane plasmique est un **transport actif secondaire de type symport couplé à une pompe à protons H^+ /ATPase** (Ourry et *al.*, 1997) : c'est un **symport impliquant 2 protons H^+ et 1 ion NO_3^-** (figure 7) (Glass et *al.*, 1992 ; Forde, 2000 ; Miller et *al.*, 2007 ; Tsay et *al.*, 2007), ce qui a pour effet d'alcaliniser le milieu extérieur (figure 8^a et 8^b).

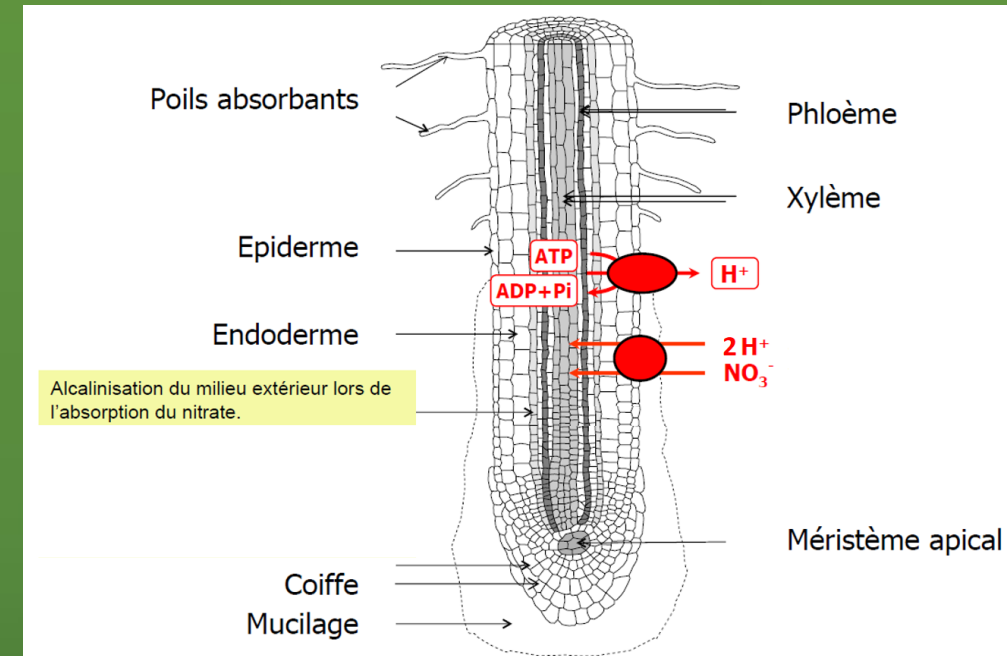
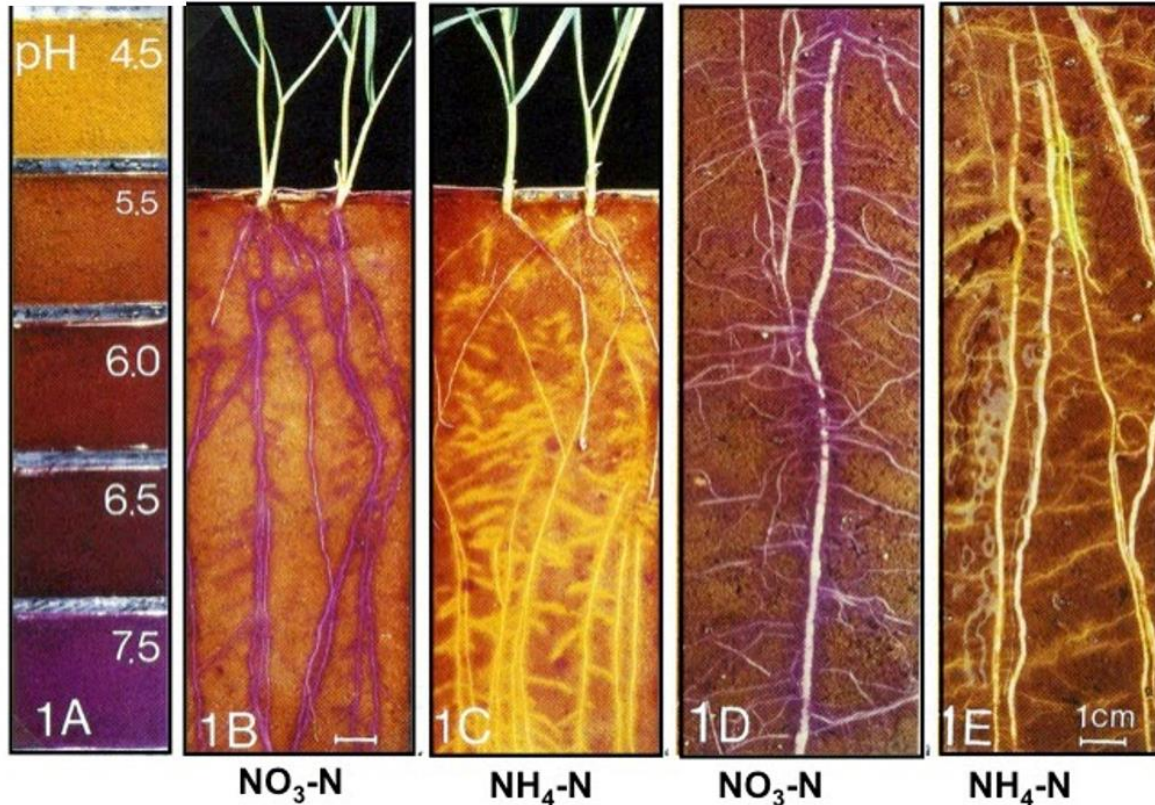


Figure 7 : coupe longitudinale d'une racine et mécanismes d'absorption du nitrate grâce à un transport actif secondaire de type symport impliquant 2 H^+ / NO_3^- couplé à une pompe à protons H^+ /ATPase (d'après Morot-Gaudry et *al.*, 2006)

Echelle **Blé âgé de 2 semaines** **Maïs âgé de 8 semaines**



Dose d'azote: 200 UN

Figure 8^a : effet de la nutrition azotée (nitrate ou ammonium) sur les modifications du pH de la rhizosphère du Blé et du Maïs (Marschner et al., 1986).

Figure 8^b : le pH de la rhizosphère est régulé par l'absorption de NH_4^+ et de NO_3^- dans les racines de riz (Feng et al., 2020).

(A) Le pH de la rhizosphère des racines de riz est indiqué par un indicateur de pH coloré.

(B) Profil de gélose montrant le pH de la rhizosphère après enlèvement des racines.

Les plants de riz (*Oryza sativa* L ssp. *japonica*, Nipponbare) ont été cultivés dans une solution nutritive complète contenant 1,25 mM de NH_4NO_3 pendant 4 semaines, puis transférés à 2,5 mM de NH_4^+ ou 2,5 mM de NO_3^- pendant 72 h.

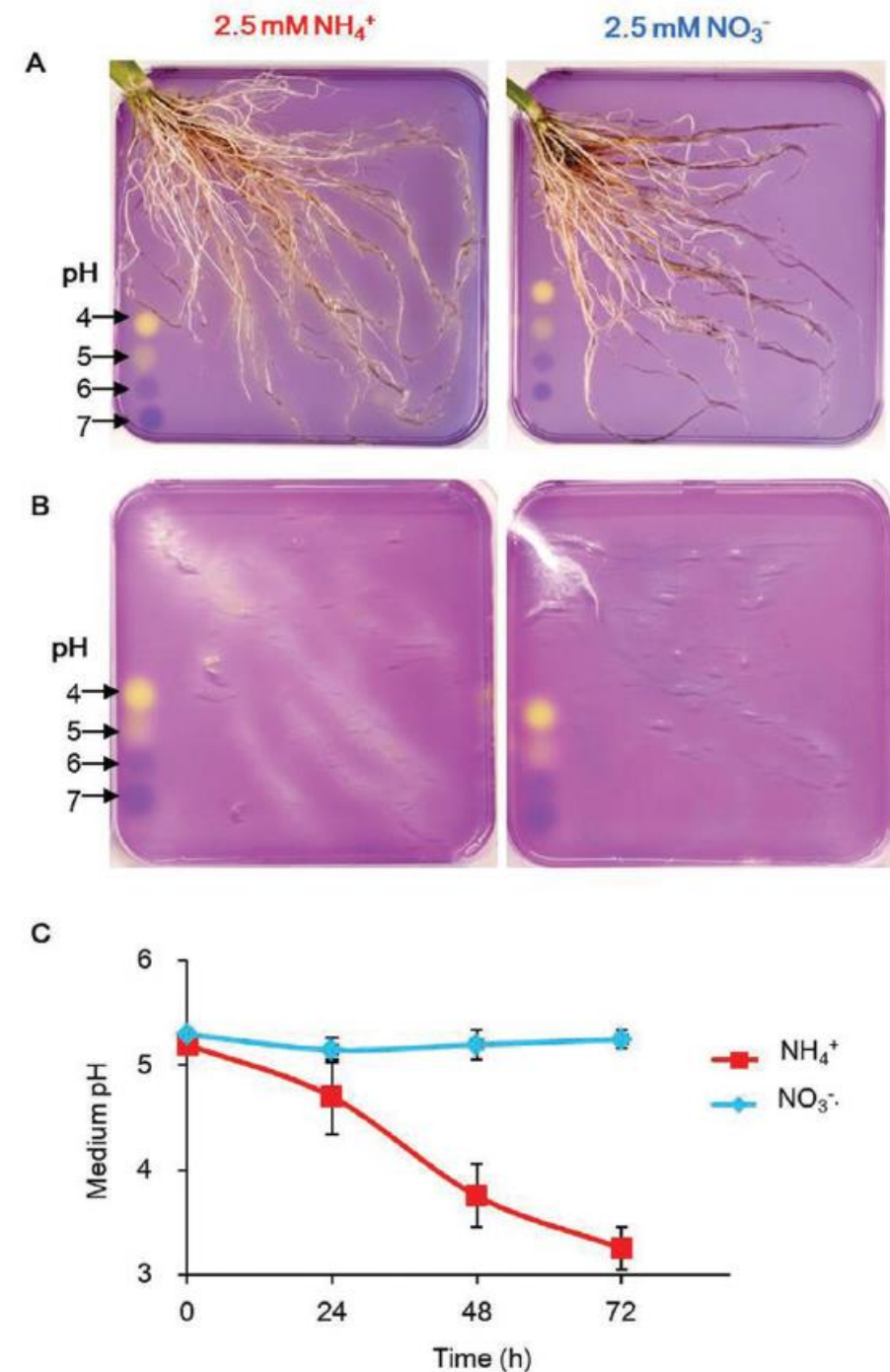
Après 72 h de traitement à l'azote, la racine de la plante a été lavée par trempage dans 0,2 mM de CaSO_4 pendant 1 min avant d'être placée sur la gélose.

Une plante intacte a été placée sur l'agar (0,9 g.l⁻¹) contenant 0,03 g.l⁻¹ de pourpre de bromocrésol comme indicateur de pH. Le pH initial était de 5,2-5,3 de 11 h à 11 h 30.

Les racines ont été maintenues dans l'obscurité et recouvertes d'un mouchoir en papier humide puis placées sous une plaque de plexiglas de 0,5×12×12 cm³.

La photo a été prise après 2-4 h en contact avec la gélose contenant l'indicateur de pH.

(C) pH du milieu de croissance hydroponique pendant 2,5 mM de NH_4^+ ou 2,5 mM de NO_3^- solution après 24, 48 et 72 h. Le pH initial était de 5,2-5,3.





L'absorption du NO_3^- s'effectue au niveau des racines grâce à des systèmes de transport secondaire de haute affinité (HATS : high affinity transport system) et de basse affinité (LATS : low affinity transport system) (Crawford et Glass, 1998 ; Forde, 2000).

- Les systèmes de transport secondaire HATS interviennent dans le transport des ions NO_3^- présent en faible concentration dans le sol ($< 0,5 \text{ mM}$) (Mérigout, 2006).
- Les systèmes de transport secondaire LATS interviennent dans le transport des ions NO_3^- présent en forte concentration dans le sol ($> 0,5 \text{ mM}$) (Mérigout, 2006).

HATS serait un système de transport actif et énergétiquement dépendant (Rao et *al.*, 1976).
Au contraire, le LATS serait un canal passif.

Cependant, Cerezo et *al.*, (2000) ont proposé grâce à l'utilisation d'inhibiteur métabolique l'existence de deux types de systèmes LATS chez le citron. Pour une concentration en nitrate inférieure à celle mesurée dans le cytosol (de l'ordre de 5 mM), le fonctionnement du LATS nécessiterait de l'énergie. A l'inverse pour des concentrations nettement plus élevées (30 mM), le LATS se comporterait comme un canal ionique.



▪ *Le système HATS* (figure 9)

Le système de transport à haute affinité (HATS ; $K_m^* < 200 \mu\text{M}$) fonctionne à de faibles concentrations en nitrate externe ($< 0,5 \text{ mM}$) et possède une composante constitutive (cHATS) ainsi qu'une composante inducible (iHATS) (Siddiqi et *al.*, 1989 ; Siddiqi et *al.*, 1990).

✓ *cHATS*

Lorsque les plantes n'ont jamais été cultivées en présence de nitrate, l'activité du HATS est caractérisée par une très forte affinité (K_m) pour le nitrate mais une faible capacité de transport (V_{max}), il s'agit de la composante constitutive du HATS ou cHATS (Morot-Gaudry et *al.*, 2006).

✓ *iHATS*

Lorsque les plantes sont mises en présence de nitrate, une deuxième composante du transport est induite, la capacité de transport du HATS est alors multipliée par 50. La composante inducible du HATS ou iHATS est caractérisée par une affinité pour le nitrate plus faible (K_m) mais une capacité de transport supérieure (V_{max}) (Morot-Gaudry et *al.*, 2006). Par ailleurs, la constante d'affinité K_m de l'iHATS est inférieure à $40 \mu\text{M}$ pour de nombreuses espèces végétales (Laine et *al.*, 1993 ; Van de Dijk et *al.*, 1982).

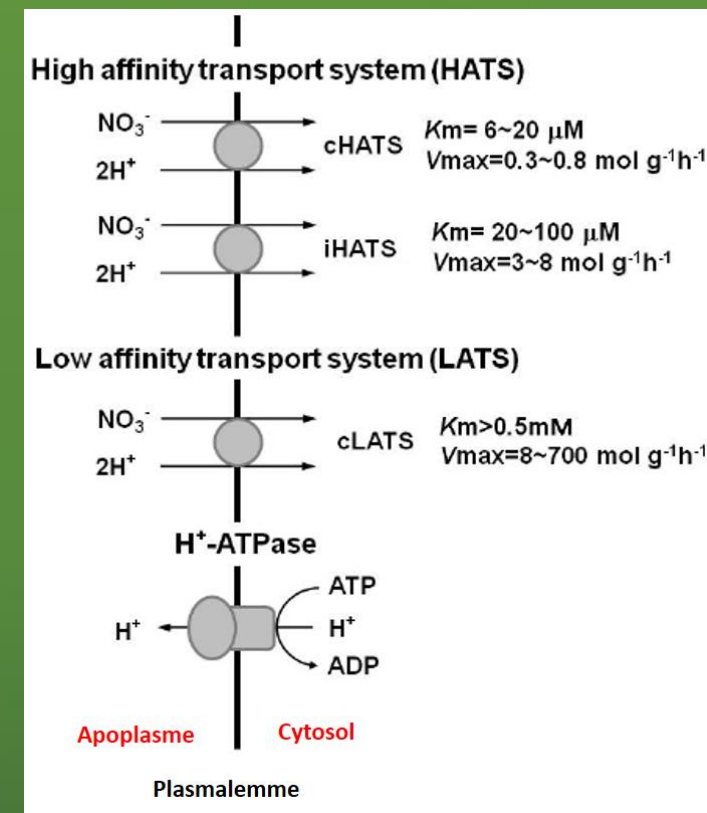


Figure 9 : exemple de modèle proposé pour les trois systèmes transport de nitrate actif secondaire de type symport (cHATS, iHATS et cLATS) couplé à une pompe à protons H^+/ATPase chez l'Orge (Seyoshi et *al.*, 2010).

* K_m est la constante de Michaelis ou constante d'affinité qui caractérise une réaction enzymatique. C'est l'un des deux paramètres d'une enzyme, utilisé dans le modèle de cinétique enzymatique simplifié de Michaelis-Menten, l'autre étant la constante catalytique k_{cat} de l'enzyme (également appelée turnover number, ou TON).
Le K_m correspond à la valeur de la concentration de substrat pour laquelle la vitesse de réaction enzymatique est égale à la moitié de la vitesse maximale V_{max} .



■ *Le système LATS (figure 9)*

Le système LATS fonctionne à de fortes concentrations en nitrate externe, supérieures à 0,5 mM, et ne présente aucun signe de saturation dans la plante, même à une concentration en nitrate aussi élevée que 50 mM (Siddiqi et *al.*, 1990).

En effet, une relation linéaire entre l'augmentation de la concentration en nitrate exogène et l'augmentation du nitrate incorporé a été mise en évidence (Wang et *al.*, 1993a ; Touraine et Glass, 1997).

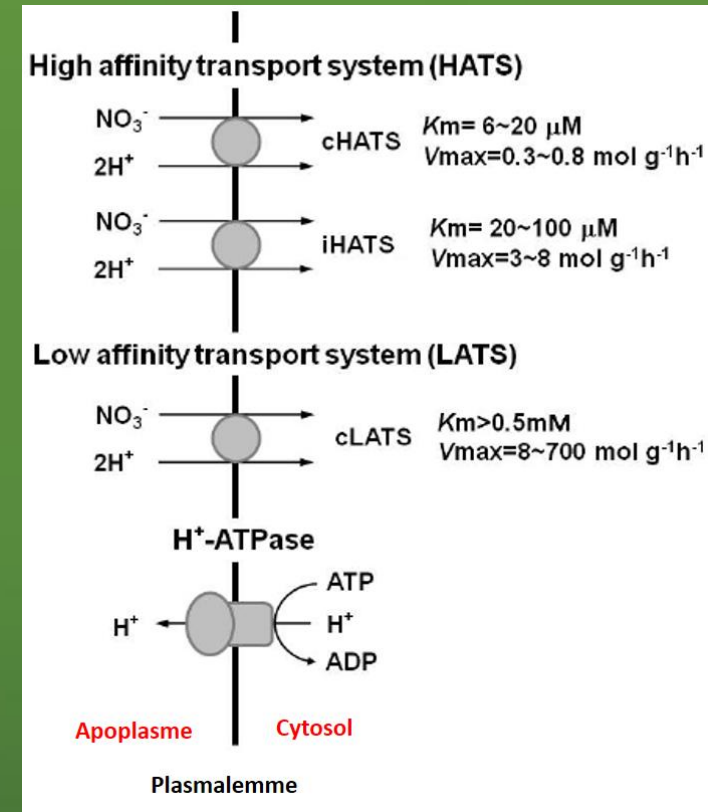


Figure 9 : exemple de modèle proposé pour les trois systèmes transport de nitrate actif secondaire de type symport (cHATS, iHATS et cLATS) couplé à une pompe à protons H^+ /ATPase chez l'Orge (Seyoshi et *al.*, 2010).



II) Absorption et assimilation nitrate

II.2) Régulation de l'absorption du nitrate

L'absorption du nitrate par la plante est un processus fortement régulé par (Malagoli, 2004 ; Morot-Gaudry et *al.*, 2006 ; Crawford et Glass, 1998 ; Méricout, 2006) :

- *le nitrate racinaire endogène*
- *la disponibilité en substrat azoté*
- *les produits d'assimilation du nitrate et/ou de la photosynthèse*
- *les fluctuations environnementales*



■ le nitrate racinaire endogène

Divers travaux ont montré qu'il existait une relation négative entre l'absorption nette du nitrate et sa concentration racinaire (Breteler et Nissen, 1982 ; Laine et *al.*, 1995) ou de la plante entière (Càrdenas-Navarro et *al.*, 1998) (figure 10).

En effet, il existerait une concentration seuil de nitrate qui régulerait l'absorption nette (Càrdenas-Navarro et *al.*, 1998).

Par exemple, une diminution de la concentration endogène en nitrate lors de la reprise de l'activité photosynthétique au lever du jour stimulerait l'absorption nette de NO_3^- chez la tomate (Càrdenas-Navarro et *al.*, 1998).

L'absorption nette du nitrate est la résultante d'un influx et d'un efflux entre le milieu extérieur et le cytosol de la cellule racinaire.

La chute de l'absorption nette pourrait donc être liée à une diminution de la valeur de l'influx et/ou à une augmentation de celle de l'efflux de NO_3^- (Malagoli, 2004).

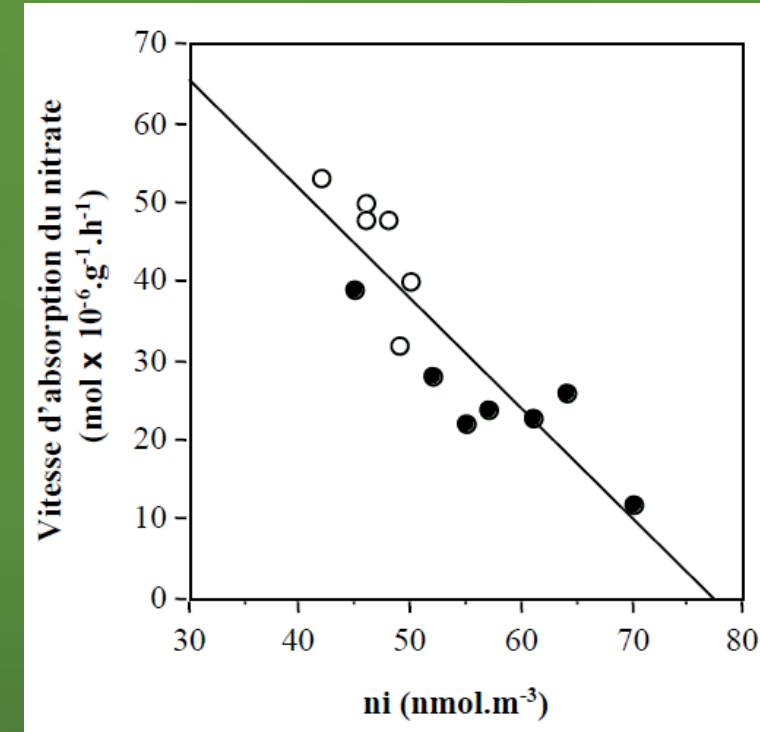


Figure 10 : relation entre la vitesse d'absorption nette du nitrate et sa concentration endogène dans la plante entière (ni) chez des plantes de tomate (*Lycopersicon esculentum* L.) âgées de 19 jours. (○ : plantes récoltées pendant la période diurne ; ● : plantes récoltées pendant la période nocturne). D'après Càrdenas-Navarro et *al.*, (1998).



- *la disponibilité en substrat azoté*

La régulation de l'absorption du nitrate est induite par l'ion nitrate lui-même.

L'influx à haute affinité du nitrate est transitoirement augmenté lorsque les plantes sont mises en présence de nitrate (Daniel-Vedele et *al.*, 1998; Crawford & Glass, 1998) : la composante inductible du HATS (iHATS) est induite par la présence de nitrate externe (Morot-Gaudry et *al.*, 2006).

De nombreuses études ont montré que la capacité d'absorption du nitrate par les racines est régulée à la baisse lorsque les plantes sont soumises à un fort approvisionnement en azote, et à la hausse en situation limitante ou de carence (Crawford et Glass, 1998 ; von Wirén et *al.*, 2000a,b ; Kojima et *al.*, 2007; Tsay et *al.*, 2007; Gojon et *al.*, 2009).

L'ammonium interagit également avec les systèmes d'absorption du nitrate.

A faible concentration, l'ammonium a un effet inducteur rapide (Bloom et Sukrapanna, 1990).

Par contre, à concentration plus élevée, l'ammonium inhibe rapidement et réversiblement l'absorption du nitrate (Lee et Drew, 1989).



- *les produits d'assimilation du nitrate et/ou de la photosynthèse*

D'un point de vue énergétique, les glucides produits par le système foliaire et alloués au système racinaire représentent une source d'énergie nécessaire à l'absorption de l'azote (Delaire, 2005).

D'un point de vue biochimique, les métabolismes azotés et carbonés sont intimement liés (figure 11).

Les acides organiques et les glucides produits par le métabolisme carboné constituent des squelettes carbonés utilisables pour l'incorporation de l'azote inorganique lors de la synthèse des acides aminés.

Ils agissent alors en tant qu'activateurs de l'absorption de l'azote : l'absorption azotée est donc fortement dépendante du pool relatif des composées carbonés et d'acides aminés dans les cellules racinaires (Delaire, 2005).

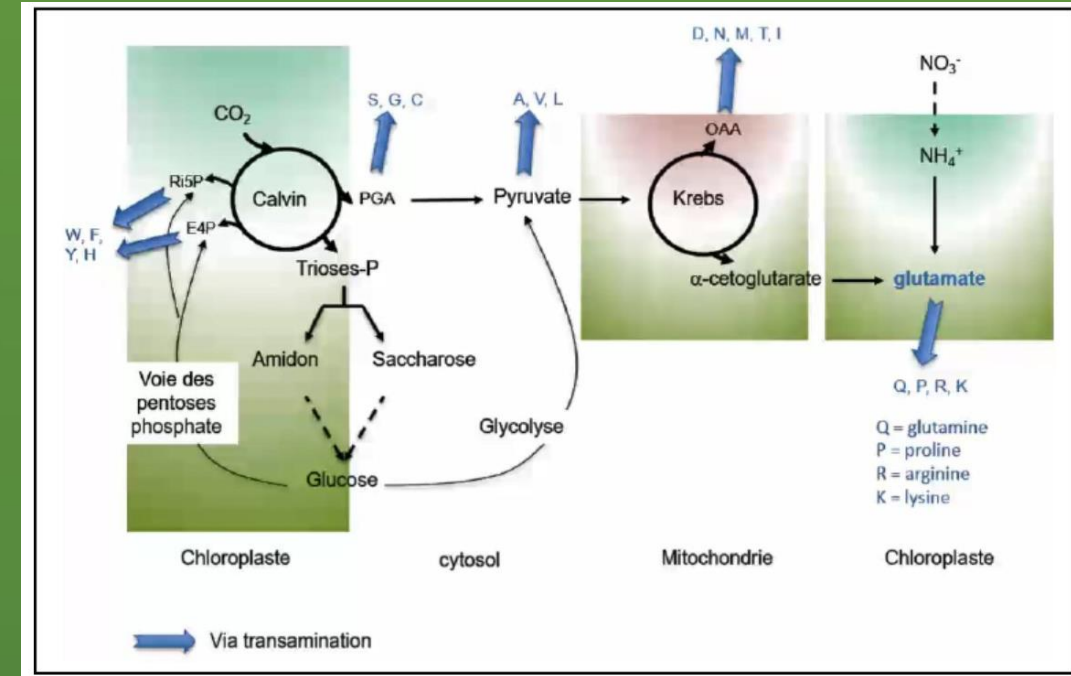


Figure 11 : lien entre le métabolisme carboné et le métabolisme azoté (Marques, 2019).

Le cycle de Calvin assimile le CO_2 dans le chloroplaste et fournit un carbone organique en forme de triose phosphate (Triose-P). Ce carbone organique en C_3 , peut être stocké sous forme d'amidon dans le chloroplaste ou exporté vers le cytoplasme sous forme de saccharose.

Ces sucres fournissent le glucose qui est transformé en pyruvate via la glycolyse dans le cytoplasme qui va entrer dans la mitochondrie.

L' α -cétoglutarate par l'intermédiaire du cycle de Krebs va fournir le squelette carboné sur lequel l'ion NH_4^+ sera incorporé pour la synthèse du glutamate dans le chloroplaste.

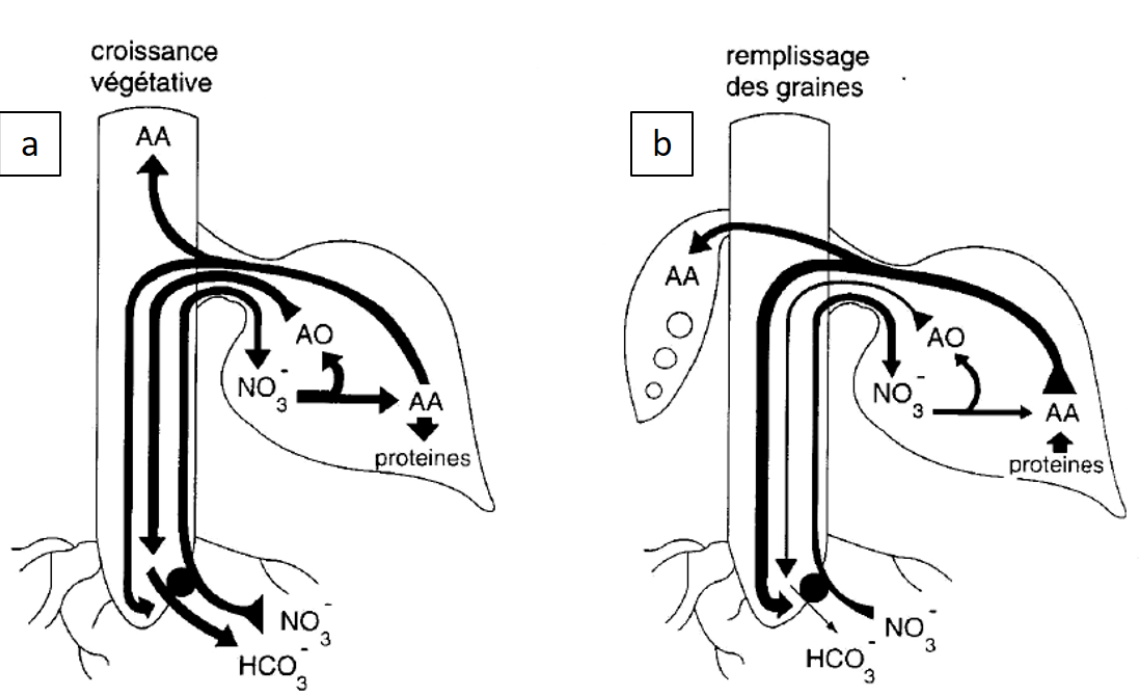


Figure 12 : modèle de régulation de l'absorption du nitrate par le système aérien chez une plante herbacée pendant la période de croissance végétative (à gauche) et à la chute des feuilles et au remplissage des graines (à droite). OA : acides organiques ; AA : acides aminés (d'après Imsande & Touraine 1994 *in* Touraine & Gojon 1997).

✓ Les acides aminés et les acides organiques

Lee et *al.* (1992) ont montré qu'une baisse de la teneur en acides aminés cytosoliques obtenue, soit par une privation des plantes en NO_3^- , soit par l'utilisation d'inhibiteurs de la glutamine synthétase (MSO : D-L méthionine sulfoximide), entraînait une augmentation de l'absorption.

Cooper et Clarkson (1989) ont suggéré que l'existence d'un pool d'acides aminés libres circulant entre les racines et les parties aériennes via le xylème et le phloème pourrait participer au contrôle de l'absorption.

Selon le modèle proposé par Imsande & Touraine (1994), chez une plante herbacée, la synthèse d'acides organiques et aminés est essentiellement foliaire et l'absorption du nitrate est alors régulée par l'allocation différentielle de ces éléments organiques vers le système racinaire via les vaisseaux du phloème (figure 12) :

- pendant la période végétative (a), l'assimilation foliaire du nitrate permettrait la synthèse d'acides aminés nécessaires à la protéosynthèse. La faible quantité d'acides aminés transportés vers les racines n'exercerait pas de rétro-contrôle négatif sur l'activité du HATS et l'allocation racinaire d'acides organiques serait majoritaire et favoriserait ainsi l'absorption du nitrate (figure 12) (Imsande & Touraine, 1994).
- à l'inverse, pendant la période reproductrice (b), et plus particulièrement lors du remplissage des grains, la diminution de la protéosynthèse et l'augmentation de la protéolyse (dégradation des protéines foliaires en acides aminés) liée à la sénescence foliaire contribueraient à l'augmentation de la concentration en acides aminés dans le phloème : leur allocation vers les racines devient alors majoritaire et conduit ainsi à l'inhibition de l'absorption du nitrate par rétro-contrôle négatif sur l'activité du HATS (figure 12) (Imsande & Touraine, 1994).



✓ Les sucres

La chute de l'influx consécutive à une diminution de la teneur en CO_2 atmosphérique laisse suggérer que les molécules carbonées synthétisées au niveau des parties aériennes réguleraient l'absorption du nitrate afin de permettre une meilleure coordination entre l'activité photosynthétique et l'absorption du nitrate (figure 13) (Delhon *et al.*, 1996).

La diminution de l'influx de nitrate pendant la nuit pourrait s'expliquer par une limitation énergétique : la chute de la quantité de substrats carbonés pourrait réduire la production d'ATP et, par conséquent, limiter le fonctionnement des systèmes de transport HATS (Malagoli, 2004).

Par ailleurs, une réduction de la quantité de molécules carbonées véhiculées vers les racines pourrait être à l'origine d'une limitation de l'activité de la Nitrate Réductase (NR) racinaire.

Ainsi, l'augmentation de la concentration endogène en nitrate pourrait entraîner une inhibition de l'absorption du nitrate pendant la période nocturne (Malagoli, 2004).

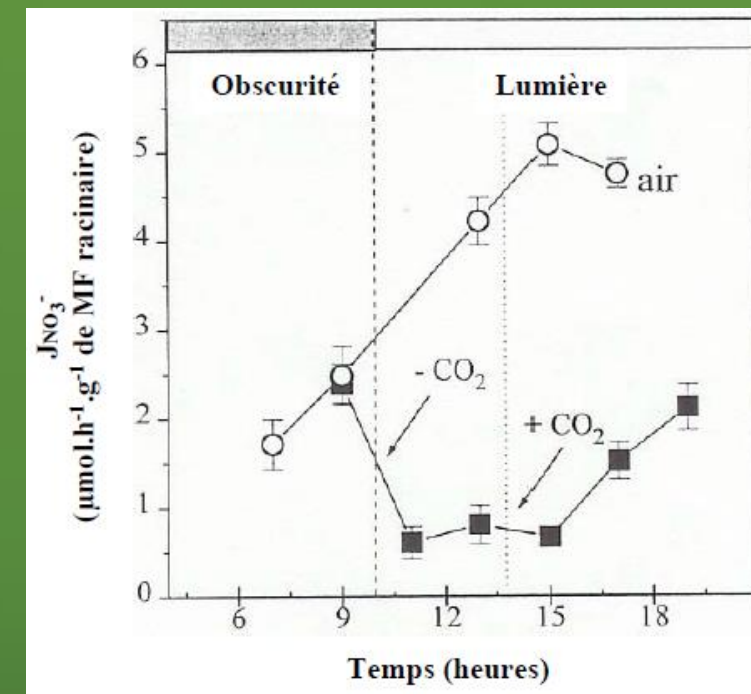


Figure 13 : effet de la concentration en CO_2 de l'atmosphère sur la vitesse d'absorption nette du NO_3^- ($J_{\text{NO}_3^-}$) par du soja âgé de 20 jours. Dans une chambre, la concentration en CO_2 est maintenue à 400 ppm pendant la période nocturne, décroît à 4-10 ppm pendant les 4 premières heures de la période diurne et revient à 400 ppm pendant les 6 heures qui suivent (■). Dans une autre chambre, des plantes témoins sont laissées à l'air ambiant pendant tout le cycle nuit/jour (○) (d'après Delhon *et al.*, 1996).

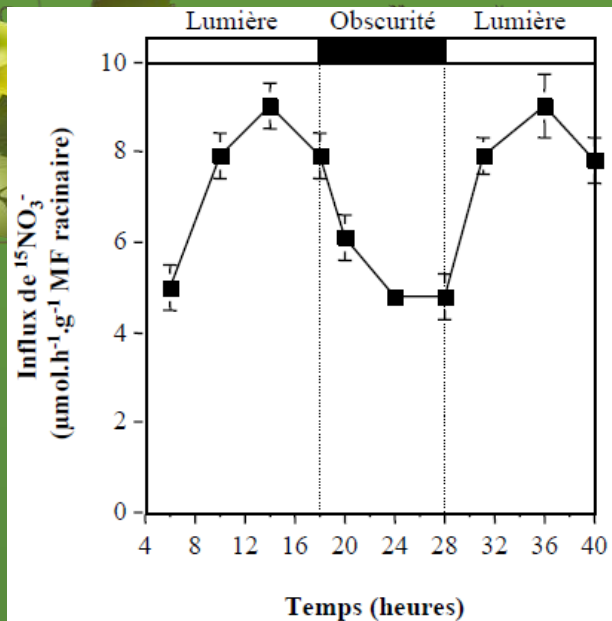


Figure 14 : variations nyctémérales de l'influx de $^{15}\text{NO}_3^-$ mesurées pendant une période de 34 heures chez des plantes de soja (*Glycine max* L.) âgées de 20 jours (d'après Delhon *et al.*, 1995).

De nombreuses expériences font état de l'influence de la température sur l'absorption (Macduff et Hopper, 1986 ; Macduff *et al.*, 1987 ; Clarkson *et al.*, 1992).

Chez l'orge, Macduff *et al.*, (1987) ont montré que la vitesse d'absorption du nitrate était augmentée lorsque la température passait de 3 à 17°C (figure 15).

■ les fluctuations environnementales (cycle jour/nuit et température)

Plusieurs travaux ont montré que l'absorption du nitrate variait au cours du cycle jour/nuit (Hansen, 1980 ; Le Bot et Kirkby, 1992 ; Scaife et Schloemer, 1994) : cela constitue un autre niveau de régulation qui permet de coordonner l'absorption du nitrate avec la photosynthèse et le métabolisme carboné.

L'absorption nette du nitrate augmente continuellement au cours de l'éclairement et décroît à l'obscurité (figure 14) (Delhon *et al.*, 1995 ; Lejay *et al.*, 1999). Les glucides, produits de la photosynthèse, seraient les acteurs de cette régulation de l'absorption du nitrate (Delhon *et al.*, 1996).

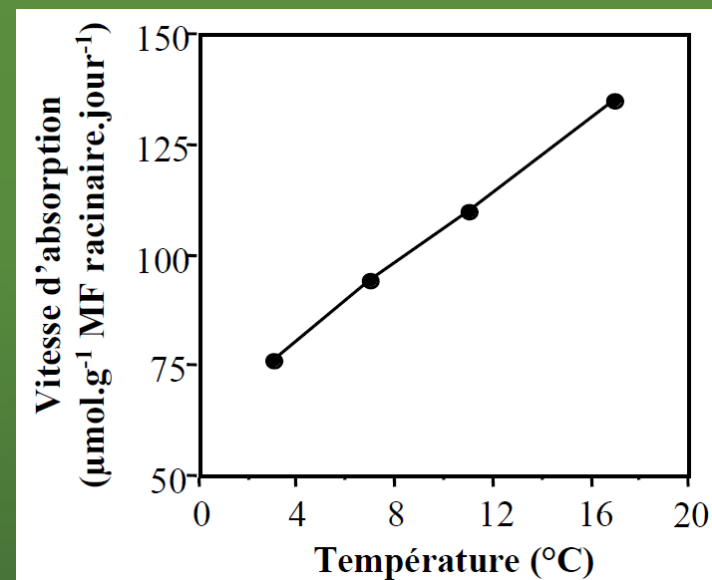


Figure 15 : variations de la vitesse d'absorption nette de NO_3^- (exprimée en $\mu\text{mol.g}^{-1}$ de MF racinaire.jour $^{-1}$) mesurées chez le colza (*Brassica napus* L.) en fonction de la température appliquée (3, 7, 11 et 17 °C) dans une solution nutritive contenant 10 mM de nitrate. L'absorption est mesurée après 4 jours d'acclimatation du système racinaire à la température testée (d'après Macduff *et al.*, 1987).



II) Absorption et assimilation nitrate

II.3) Assimilation et devenir du nitrate dans la plante

Après absorption du nitrate par les racines depuis le milieu exogène vers le cytoplasme, le nitrate incorporé à quatre sorts possibles (figure 16) (Crawford et Glass, 1998) :

- (1) sa réduction et assimilation sous la forme d'acides aminés
- (2) son efflux à travers la membrane plasmique de l'apoplasme
- (3) son influx et stockage dans la vacuole
- (4) le nitrate peut être transférés jusqu'aux parties aériennes par les vaisseaux du xylème.

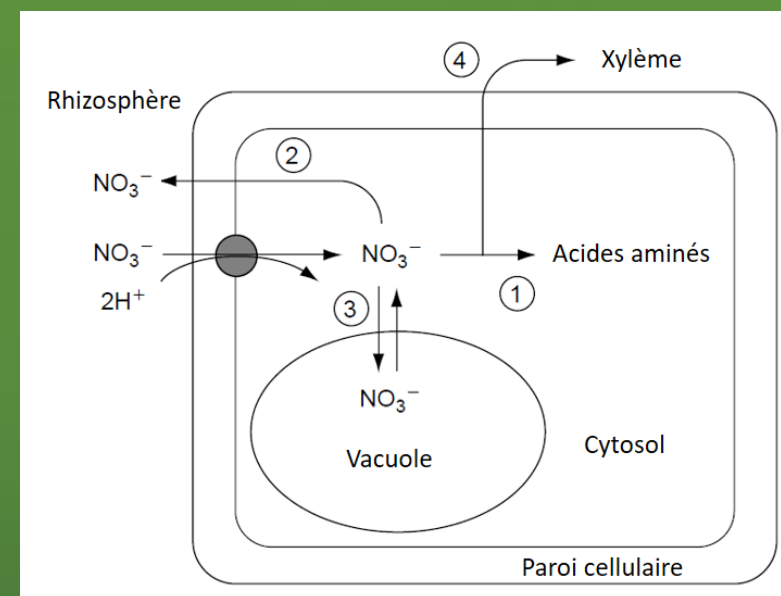
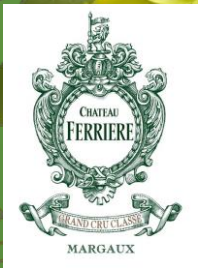


Figure 16 : absorption et devenir du nitrate dans une cellule végétale (Crawford et Glass, 1998) :

- 1 – Réduction et assimilation sous forme d'acides aminés
- 2 – Efflux
- 3 – Stockage vacuolaire
- 4 – Translocation et déversement dans les vaisseaux du xylème.



**CHÂTEAU
DURFORT
VIVENS**

Château
Haut-Bages
LIBÉRAL
GRAND CRU CLASSÉ
PAUILLAC

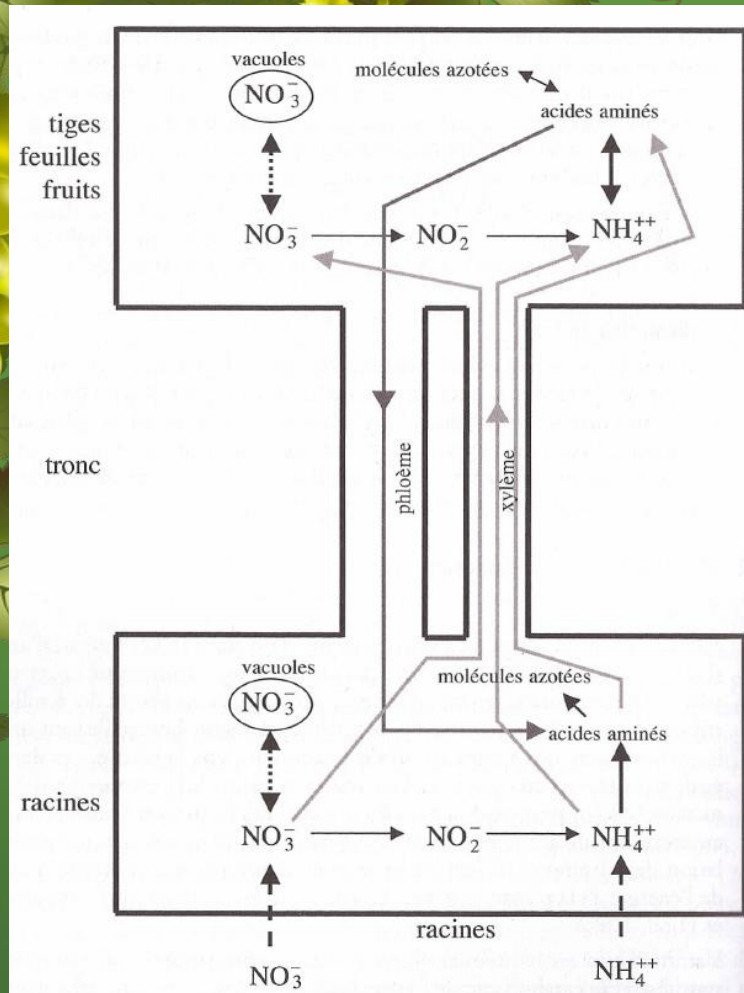


Figure 17 : schéma d'absorption de l'azote minéral par les racines : description de la circulation et du stockage des différentes formes d'azote dans la plante (d'après Loulakakis et Roubelakis-Angelakis, 2001).

(1) Réduction du nitrate et son assimilation sous la forme d'acides aminés

Chez la majorité des plantes, la réduction du nitrate peut se faire aussi bien dans les racines que dans les parties aériennes (figure 17).

Dans de nombreuses conditions, une part importante de l'assimilation du nitrate a lieu dans les parties aériennes puisque le pouvoir réducteur requis pour les processus d'assimilation provient de la photosynthèse (Wang et *al.*, 2012).

Chez les plantes herbacées, cette réduction s'effectue principalement dans les parties aériennes alors que chez les ligneux elle se produit majoritairement dans les racines (Faure et *al.*, 1997 ; Grignon et *al.*, 1997).

La plante doit procéder à la réduction du NO_3^- dont l'équation globale est (Soltner, 2007) :



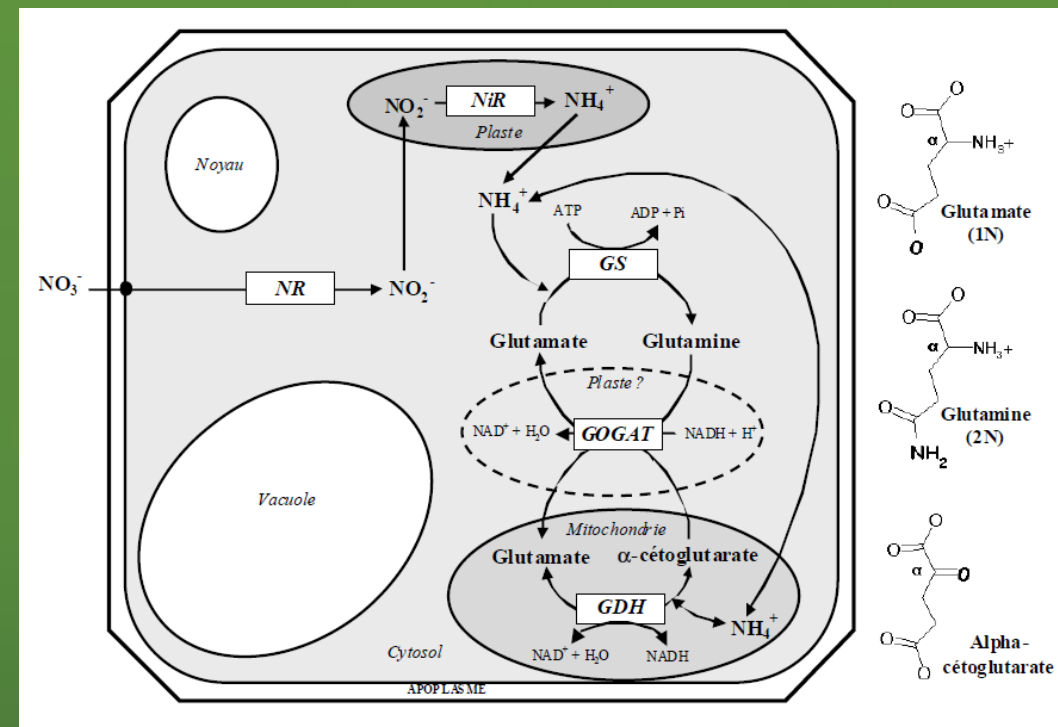
La réduction d'une mole de NO_3^- en NH_4^+ libère toujours une mole de OH^- . L'intérieur des cellules devient donc alcalin.

Dans les feuilles, cette alcalinisation est neutralisée par la biosynthèse d'acides organiques, principalement d'acide malique. Dans les racines, ces ions peuvent être relargués dans le sol via un système d'échange ionique (Lüttge et *al.*, 2002).



La transformation du nitrate comprend trois étapes enzymatiques successives (figure 18) (Márquez et *al.*, 2005) :

- 1) la réduction du nitrate NO_3^- en ion nitrite NO_2^- dans le cytosol grâce à la nitrate réductase (NR) qui comporte du molybdène et du fer
- 2) la réduction de l'ion nitrite (très toxique pour la cellule) par la nitrite réductase (NiR) dans les plastes (chloroplastes) qui produit une molécule d'ammoniac NH_3^+ et qui est sous la forme ammonium NH_4^+ au pH cellulaire
- 3) l'assimilation de l'ammonium en azote organique.





La NR est cytosolique, la NiR est plastidiale (Meyer et Stitt, 2001).

Du fait de sa toxicité pour la cellule, l'ammonium est très rapidement incorporé au glutamate (Glu) par la glutamine synthétase (GS) pour former la glutamine (Gln) (figure 18).

La glutamine grâce à la glutamate synthase (GOGAT) et l' α -cétoglutarate (acide organique issu du métabolisme carboné du cycle de Krebs) permet la synthèse de deux molécules de glutamate (figure 18) :

- l'une est utilisée comme substrat de la glutamine synthétase (GS) pour la formation de glutamine,
- l'autre est source d'azote organique pour les réactions de transamination qui aboutissent à la synthèse de l'ensemble des acides aminés.

La GS nécessite pour son fonctionnement de l'ATP, la GOGAT utilise le pouvoir réducteur de la ferrédoxine réduite (Hirel et Lea, 2001).

Enfin, une troisième enzyme est associée aussi au métabolisme de l'ammonium : la glutamate déshydrogénase (GDH) qui est généralement mitochondriale (figure 18).

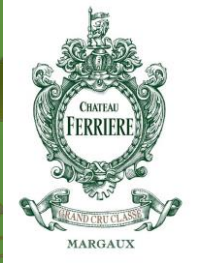
La GDH ne semble pas jouer un rôle majeur dans l'assimilation du NH_4^+ , sauf en cas de stress ou lors de phases particulières de développement comme la remobilisation de l'azote (Becker et *al.*, 2000 ; Dubois et *al.*, 2003 ; Masclaux-Daubresse et *al.*, 2006).

L'ensemble des études suggèrent qu'*in vivo*, en condition de culture non stressante, la GDH joue un rôle catabolique.

La régulation de la GDH repose sur les disponibilités cellulaires en carbone. En conditions limitantes en carbone, la GDH désamènerait le glutamate pour fournir de l' α -cétoglutarate au cycle de Krebs (Robinson et *al.*, 1991; Melo-Oliveira et *al.*, 1996 ; Masclaux-Daubresse et *al.*, 2002 ; Restivo, 2004).

Dans le cas précis de culture soumise à un stress ammoniacal, la GDH serait capable d'amèner de l' α -cétoglutarate en glutamate permettant de contrecarrer les effets toxiques d'un excès d'ammonium (Tercé-Laforgue et *al.*, 2004 ; Melo-Oliveira et *al.*, 1996).

Ces deux activités antagonistes de la GDH pourraient alors jouer un rôle régulateur pour l'équilibre carbone/azote chez les végétaux en favorisant dans un cas le métabolisme azoté et dans l'autre le métabolisme carboné (Mifflin & Habash, 2002).



Glutamine et glutamate sont donc les premiers acides aminés synthétisés après intégration de l'ammonium aux squelettes carbonés.

Par transamination, l'azote est ensuite transféré à d'autres substrats carbonés (acides α -cétoniques) pour former des nouveaux acides aminés (aspartate, alanine, glycine...) eux-mêmes précurseurs de tous les autres acides aminés.

Chez les végétaux, ces voies de synthèse, principalement chloroplastiques, sont complexes et très contrôlées (Morot-Gaudry et *al.*, 2001).

Certaines plantes, et plus particulièrement les légumineuses, peuvent également avoir comme source d'azote le N_2 atmosphérique.

L'interaction symbiotique de ces plantes avec les bactéries

symbiotiques du genre *Rhizobium* permet la réduction du N_2 assimilé en NH_4^+ dans les nodosités par l'action de la nitrogénase (figure 19).

Le N_2 réduit est ensuite transféré à l'ensemble de la plante par la voie GS-GOGAT (Gordon et *al.*, 2002 ; Márquez et *al.*, 2005).

L'ammonium est, par conséquent, la forme réduite de l'azote inorganique disponible pour les plantes, quelle que soit la source d'azote utilisée.

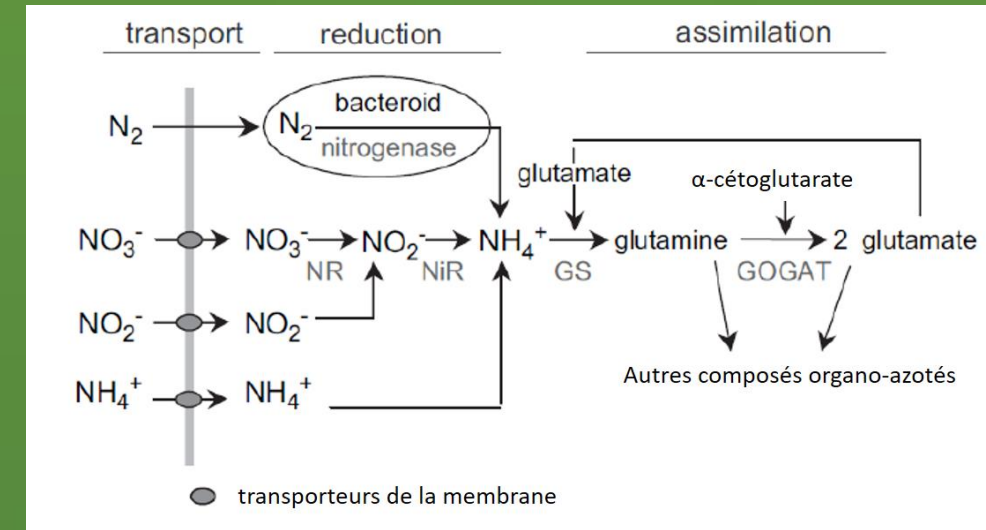


Figure 19 : représentation schématique du processus d'assimilation de l'azote chez les végétaux, d'après Márquez et *al.*, 2005. Abréviations : NR nitrate réductase, NiR nitrite réductase, GS glutamine synthetase, GOGAT Glutamate Synthase.



(2) Efflux du nitrate à travers la membrane plasmique (figure 16)

Le nitrate absorbé peut rapidement retourner au sol par un efflux à travers la membrane plasmique de l'apoplasme (figure 20).

Il est généralement admis que l'influx de nitrate est un processus actif, nécessitant de l'énergie obtenue à partir d'un couplage avec des protons, alors que l'efflux de nitrate est un processus passif ne dépendant que de la diffusion et des gradients de concentration (Morgan et *al.*, 1973).

L'efflux commence dès le début de l'absorption du nitrate (Aslam et *al.*, 1996).

Bien que le rôle physiologique de l'efflux de nitrate reste incertain, on sait qu'il augmente lors de variations environnementales telles que les stress ; il pourrait alors être un des acteurs possibles de la régulation de l'homéostasie cellulaire des ions nutritifs (Wang et *al.*, 2012).

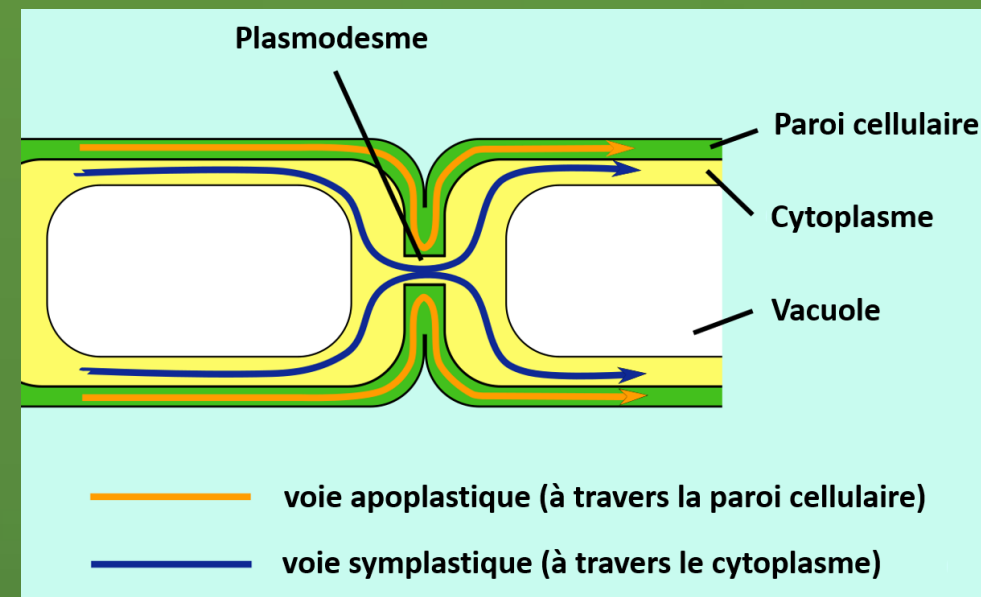
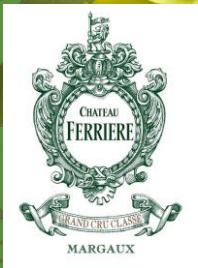


Figure 20 : modèle de transport de l'eau et des solutés par la voie apoplastique et symplastique (source : Wikipédia apoplasme)



(3) Influx et stockage du nitrate dans la vacuole / Compartimentation (figure 16)

En présence de nitrate, les vacuoles des plantes cultivées ont un contenu en nitrate représentant environ 60% du nitrate total cellulaire, valeur pouvant atteindre 99% chez l'orge (Martinoia et *al.*, 1981 ; Granstedt et Huffraker, 1982).

La vacuole représente donc le principal compartiment de stockage du nitrate des plantes (Martinoia et *al.*, 1981 ; Granstedt et Huffraker, 1982).

L'entrée de nitrate dans la vacuole est un mécanisme passif conduit par la charge très négative de la membrane vacuolaire (Delaire, 2005). Le nitrate peut être stocké dans les cellules des racines, des feuilles, des tiges et des fruits (figure 17).

Le nitrate transporté depuis la racine, organe source, vers les parties aériennes, qui représentent les organes puits, doit quitter le xylème et entrer dans l'apoplasme des feuilles pour atteindre les cellules du mésophylle. Il est alors de nouveau absorbé pour être soit réduit, soit stocké dans la vacuole (figure 17) (Crawford et Glass, 1998).

Le nitrate ainsi que l'azote organique, stockés dans une feuille âgée, peuvent ensuite être remobilisés pour les jeunes feuilles au cours de la croissance végétative de la plante et pour les semences au cours de la phase de reproduction (Diaz et *al.*, 2008; Fan et *al.*, 2009).

En fonction de l'espèce, l'absorption d'azote peut être partiellement ou totalement inhibée au cours de la phase de reproduction (Masclaux-Daubresse et *al.*, 2010). La remobilisation de l'azote des feuilles, devenues organes source, est alors nécessaire pour surmonter la forte demande en azote du remplissage des graines.

Au cours de la senescence foliaire, cet organe est devenu une source en azote ; les protéines subissent une protéolyse et les acides aminés libérés sont remobilisés vers les jeunes feuilles et les graines via le phloème (Masclaux-Daubresse et *al.*, 2010). En plus des acides aminés, de l'azote inorganique sous la forme de nitrate peut également être remobilisé à partir des feuilles source. Il s'agit alors d'un transport actif par des transporteurs qui permet d'assurer la charge du phloème en nitrate.

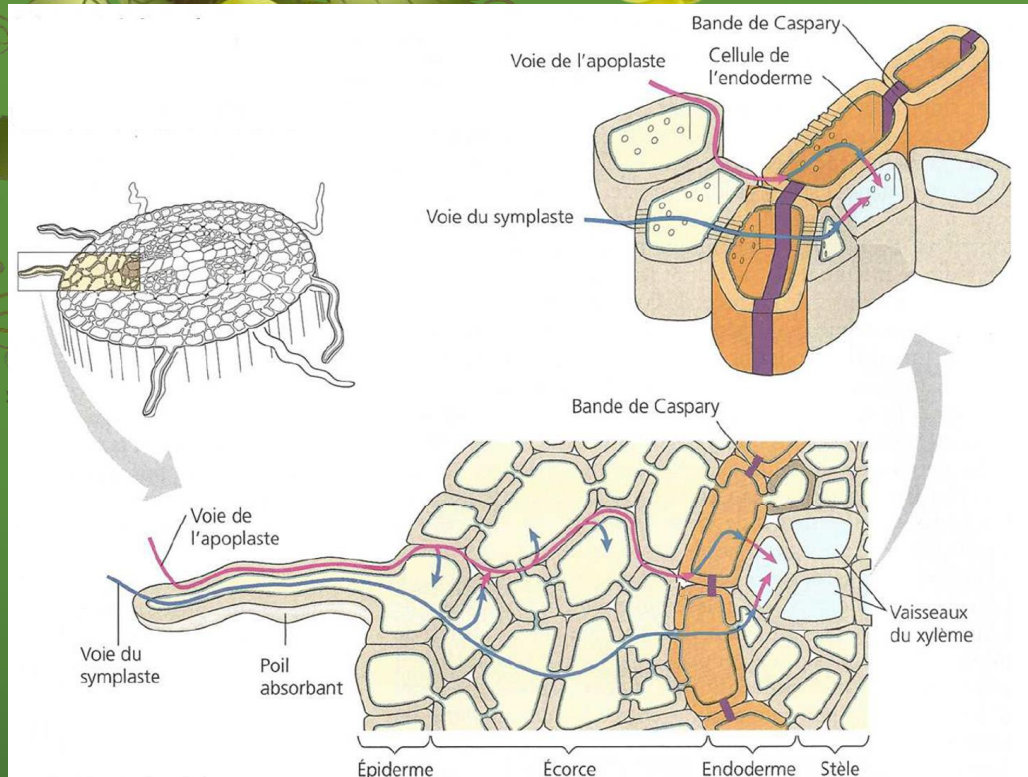


Figure 21 : voie du symplaste et voie de l'apoplaste (d'après Campbell et Reece, 2004).

(4) Transport du nitrate à longue distance vers les parties aériennes / Translocation (figure 16)

Comme nous l'avons vu, le nitrate peut être assimilé au niveau de la racine ou des parties aériennes de la plante.

Des considérations théoriques semblent indiquer que l'azote assimilé dans les feuilles est énergétiquement plus efficace que l'azote assimilé dans les racines quand la plante est en photopériode et que la compétition entre le dioxyde de carbone et le nitrate pour l'énergie photochimique est minimisée (Smirnoff et Stewart, 1985 ; Márquez et *al.*, 2005).

De ce fait, le nitrate doit donc être chargé dans les vaisseaux du xylème.

Le nitrate, transporté depuis le milieu exogène vers le rhizoderme, transite par l'apoplasme (voie de l'apoplaste, figure 21) et le symplaste (voie du symplaste, figure 21) de la zone corticale de la racine (Steudle et *al.*, 1993 ; Gojon et Gaymard, 2010).

L'épiderme et le cortex délimitent un espace où les ions, qui ne passent pas la membrane plasmique des cellules, peuvent diffuser librement dans l'apoplasme (figure 21) (Steudle et *al.*, 1993 ; Gojon et Gaymard, 2010).

Au niveau de l'endoderme, la bande de Caspary est un obstacle à la diffusion libre des ions à travers l'apoplasme pour ensuite rejoindre les vaisseaux du xylème, suggérant alors un transport actif au niveau de l'endoderme et du xylème assuré par des transporteurs (figure 21) (Steudle et *al.*, 1993 ; Gojon et Gaymard, 2010).

Le potassium, K^+ , cation majoritaire des cellules végétales est généralement considéré comme l'ion accompagnateur du NO_3^- qui permet de maintenir l'électroneutralité du transport du nitrate dans la plante. Les efflux de K^+ et de NO_3^- sont donc fortement corrélés, en particulier lors de l'étape de translocation vers les parties aériennes (Frost et *al.*, 1978 ; Rufty et *al.*, 1981).



III) Absorption et assimilation de l'ammonium

III.1) Absorption de l'ammonium

L'absorption de NH_4^+ est d'une importance majeure pour la nutrition de l'azote dans de nombreuses circonstances.

D'une part, la nutrition NH_4^+ joue un rôle essentiel dans les sols gorgés d'eau et acides, ou dans les climats froids où la nitrification est inhibée (Marschner, 1995).

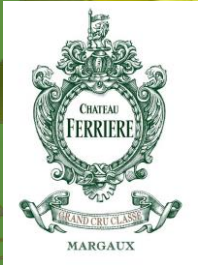
D'autre part, dans le cas d'une nutrition mixte (NO_3^- et NH_4^+), le NH_4^+ est souvent la forme préférentielle d'azote absorbée par la plante (Sasakawa et Yamamoto, 1978 ; Gojon et *al.*, 1986 ; Glass et Siddiqi, 1995 ; Gazzarrini et *al.*, 1999).

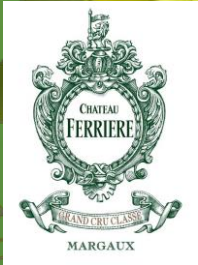
La préférence d'absorption de l'ammonium par rapport au nitrate est expliquée par l'énergie supplémentaire que la plante doit dépenser pour réduire le nitrate en ammonium avant d'être incorporé dans des composés organiques (Bloom et *al.*, 1992).

Cependant, d'autres impératifs tels que la nécessité maintenir l'homéostasie du pH pendant l'assimilation de l'azote (Smith et Raven, 1979) entraînent l'utilisation simultanée d'ammonium et de nitrate dans des conditions normales.

Les plantes cultivées à l'ammonium présentent souvent une concentration d'acides aminés plus élevée que les plantes cultivées au nitrate (Allen et Smith, 1986 ; Causin et Barneix, 1993).

Compte tenu du gradient électrochimique décroissant entre l'extérieur et l'intérieur de la cellule ($\Delta\mu_i < 0$), l'absorption de NH_4^+ a souvent été considérée comme ne nécessitant pas d'énergie et se faisant par simple diffusion passive à travers la membrane plasmique (Ourry et *al.*, 1997).





Cependant, l'absorption de l'ammonium au niveau des racines nécessite l'intervention des deux systèmes de transport HATS (High Affinity Transport System) et LATS (Low Affinity Transport System) (figure 22) où contrairement au nitrate, il y est principalement assimilé (Mérigout, 2006).

▪ Le système HATS (figure 22)

Le système HATS (système saturable) fonctionne pour des concentrations en ammonium inférieures à 1 mM avec un K_m qui varie selon les espèces de 10 à 170 μM (Glass et Siddiqi, 1995).

En général, les conditions de privation d'azote entraînent une augmentation de l'activité de la HATS, tandis que de fortes concentrations d'ammonium ou de produits de son assimilation, tels que la glutamine, entraînent une répression de l'activité de la HATS (Howitt et Udvardi, 2000) : le système HATS est régulé par le statut azoté des plantes (Gazzarrini et al., 1999 ; Kronzucker et al., 1998).

Le système HATS permet un transport actif de NH_4^+ c'est-à-dire dans le sens des potentiels électrochimiques croissants ($\Delta\mu_i > 0$; Wang et al., 1993a).

Le transport d'ammonium via ce système est accompagné d'une forte dépolarisation membranaire et il est de deux types (Morot-Gaudry, 1997 ; Ludewig et al., 2002) :

- un uniport $\text{NH}_4^+/\text{ATPase}$ (uniport énergie dépendant)
- un symport NH_4^+/H^+ (symport proton dépendant)

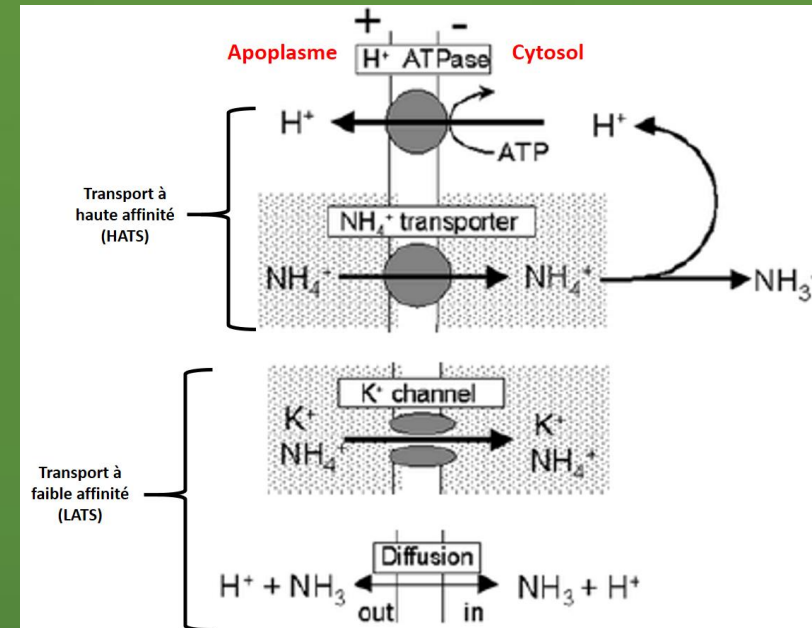


Figure 22 : mécanisme physiologique d'absorption de l'ammonium chez la plante : système HATS et LATS.



■ Le système LATS (figure 22)

Le système **LATS** fonctionne lorsque la concentration en ammonium est supérieure à 1mM (Glass et Siddiqi, 1995) et présente une augmentation linéaire de l'activité en réponse à l'augmentation de la concentration d'ammonium (Rawat et *al.*, 1999 ; Wang et *al.*, 1993b ; Kronzucker et *al.*, 1996) : le système LATS semble être un système non saturable (Howitt et Udvardi, 2000) et non énergie dépendant, suggérant que ce système facilite la diffusion passive de l'ammonium.

Selon Wang et *al.*, (1993b) LATS réalise un transport passif le long du gradient de potentiel électrochimique.

Dans le système **LATS** il y a deux types de transport possible pour NH_4^+ :

- par diffusion simple où les ions NH_4^+ traversant la membrane sont présents soit sous forme de NH_4^+ soit sous forme de NH_3
- par un cotransport K^+/NH_4^+ car l'ion NH_4^+ peut être capable de traverser la membrane plasmique par les canaux K^+ car il ressemble à l'ion K^+ en termes de rayon ionique (Li et *al.*, 2013).

L'absorption d'ammonium s'accompagne d'une expulsion de protons via la pompe à protons H^+/ATPase de la membrane plasmique pour maintenir l'équilibre des charges (Meharg et Blatt, 1995 ; Britto et Kronzucker, 2005). Ainsi il y a acidification au niveau de la rhizosphère (Escobar et *al.*, 2006).

La conversion microbienne de l'ammonium en nitrate (c'est-à-dire la nitrification) est supprimée par le pH acide, ce qui diminue la disponibilité des nitrates dans le sol (Hachiya et Sakakibara, 2017).

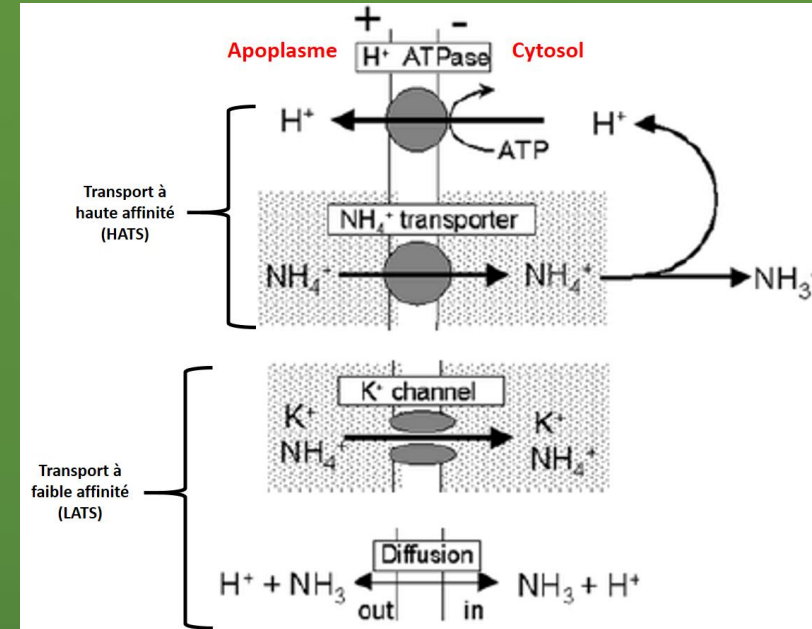
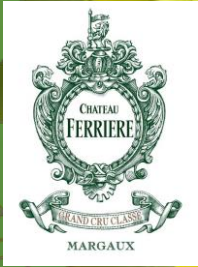


Figure 22 : mécanisme physiologique d'absorption de l'ammonium chez la plante : système HATS et LATS.



III) Absorption et assimilation de l'ammonium

III.2) Régulation de l'absorption de l'ammonium



Le transport de l'ammonium est très probablement régulé par rétroaction au niveau cellulaire par l'efflux, la compartimentation et l'assimilation de l'ammonium (Loqué et von Wirén, 2004).

L'absorption d'ammonium serait principalement régulée par le statut azoté régnant localement autour de la racine (Gansel et *al.*, 2001) : un apport local d'ammonium et/ou de glutamine au niveau des racines exercent une forte inhibition de l'influx d'ammonium (Loqué et von Wirén, 2004).

L'absorption d'ammonium par les racines varie aussi en fonction du rythme diurnal. Après une augmentation continue durant la période lumineuse, l'absorption de l'ammonium diminue à l'obscurité (Ourry et *al.*, 1996 ; Gazzarrini et *al.*, 1999). Les photoassimilats seraient responsables de cette régulation au cours du cycle jour/nuit (Mérigout, 2006).



III) Absorption et assimilation de l'ammonium

III.3) Devenir et assimilation de l'ammonium dans la plante

III.3.a) Devenir de l'ammonium dans la plante

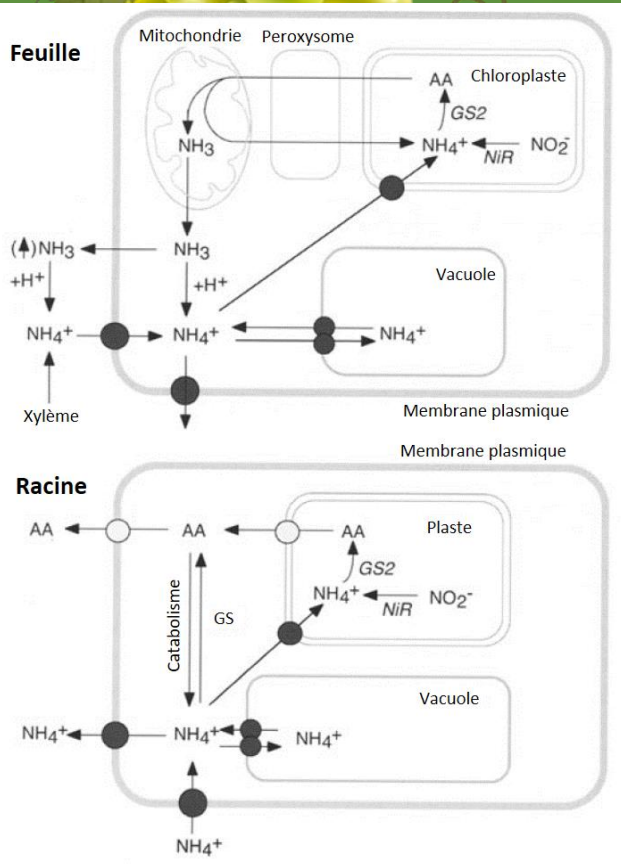


Figure 24 : devenir de l'ammonium après absorption et localisation possible des transporteurs d'ammonium (points noirs) dans les cellules des racines et des feuilles des plantes. Le catabolisme des acides aminés se produit également dans les cellules des feuilles mais n'est pas représenté. GS - Glutamine synthétase. NiR - Nitrate Réductase (d'après von Wirén *et al.*, 2001).

Une fois absorbé par les racines, l'ammonium est distribué aux compartiments intracellulaires via différents transporteurs où il sera assimilé soit dans le cytoplasme, soit dans les plastes par la glutamine synthétase (GS) et éventuellement aussi dans les mitochondries (figures 23 et 24). L'ammonium peut également entrer dans la vacuole des cellules racinaires où il est "stocké" temporairement (figures 23 et 24) (Howitt et Udvardi, 2000).

Il peut être aussi transporté vers les parties aériennes où il sera stocké dans les vacuoles et/ou assimilé dans les chloroplastes (figure 24).

L'ammonium cytoplasmique peut aussi s'échapper des cellules végétales et cet efflux peut être considérable, du moins dans certaines conditions expérimentales (figures 23 et 24) (Forde et Clarkson, 1999).

L'ammonium peut également être généré de nouveau à partir de l'azote atmosphérique N_2 par des bactéries qui fixent l'azote dans certaines cellules végétales (*rhizobium*). La plupart de cet ammonium est transféré dans le cytoplasme où il est assimilé par le GS (figures 19 et 23) (Ireland et Lea, 1999).

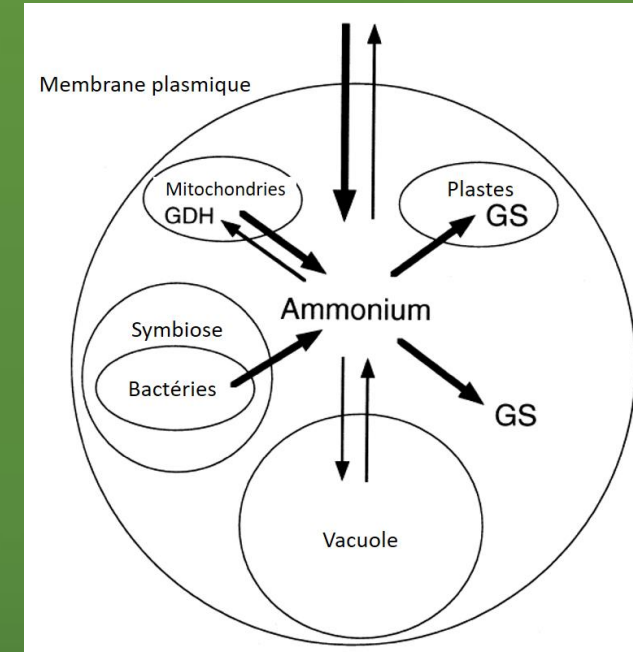


Figure 23 : flux d'ammonium intracellulaire dans une hypothétique cellule végétale. Les flèches indiquent les directions des flux d'ammonium, les flèches plus épaisses indiquant les flux prédominants (Howitt et Udvardi, 2000).



III) Absorption et assimilation de l'ammonium

III.3) Devenir et assimilation de l'ammonium dans la plante

III.3.b) Assimilation de l'ammonium dans la plante

Le NH_4^+ présent au sein de la plante peut avoir plusieurs origines.

Il peut être issu soit de son absorption directe au niveau des racines, de la réduction des NO_3^- , soit de l'action de diverses enzymes telles que la phénylalanine ammonia-lyase (PAL) lors de la biosynthèse des lignines (Joy, 1988).

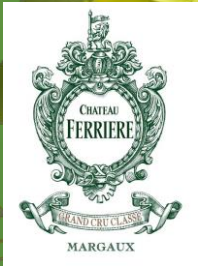
Il peut également provenir de l'activité photorespiratoire (Hirel et Lea, 2001), du catabolisme protéique ainsi que du catabolisme de certains acides aminés, comme l'asparagine, ou des uréides (allantoïne, acide allantoïque), dont la dégradation conduit à la formation d'ammonium et de CO_2 (Blevins, 1989 ; Mifflin et Lea, 1980).

Généralement, les concentrations en ammonium n'excèdent pas 1 à 30 mM dans le cytosol et 2 à 45 mM dans les vacuoles (Miller et al., 2001). L'ammonium est un composé toxique même lorsqu'il est présent à faible concentration dans les cellules végétales pouvant amener la nécrose des tissus. Son assimilation ou sa réassimilation rapide est donc une nécessité vitale pour les cellules.

Chez les végétaux supérieurs, l'incorporation du NH_4^+ dans des molécules organiques implique deux enzymes clés (Lea et Forde, 1994) :

- la glutamine synthétase (GS)
- la glutamate synthase (GOGAT).

D'autres enzymes telles que la glutamate déshydrogénase (GDH) ou l'asparagine synthétase (ASN) jouent également un rôle important dans l'assimilation du NH_4^+ (Masclaux-Daubresse et al., 2010).



■ Cycle GS/GOGAT (figure 25)

L'ammonium est incorporé dans les acides aminés par l'action combinée de la GS et de la GOGAT au cours du cycle GS/GOGAT.

L'ion ammonium est incorporé au glutamate par la GS pour former la glutamine. Le groupement amide de la glutamine est alors transféré à l' α -cétooglutarate par la GOGAT.

Deux molécules de glutamate sont ainsi formées, l'une étant recyclée pour la formation de glutamine, l'autre utilisée pour la synthèse des acides aminés (Hirel & Lea, 2001 ; Mifflin & Habash, 2002).

Glutamine et glutamate sont les premières sources d'azote réduit dans la cellule, et peuvent alors être utilisés pour former aspartate et asparagine via les deux enzymes aspartate aminotransférase (AAT) et asparagine synthétase (ASN), ainsi que les autres acides aminés et molécules azotées.

Glutamine, glutamate, aspartate et asparagine, assurent alors la translocation de l'azote inorganique des organes source vers les organes puits (Peoples & Gifford, 1993).

Deux isoformes de glutamine synthétase (GS) existent, aux rôles et localisations différents :

- la GS1 cytoplasmique est présente principalement dans les racines et plus généralement les tissus non-photosynthétiques
- la GS2 est majoritaire dans les tissus photosynthétiques, en particulier les feuilles jeunes, et est localisée dans le chloroplaste.

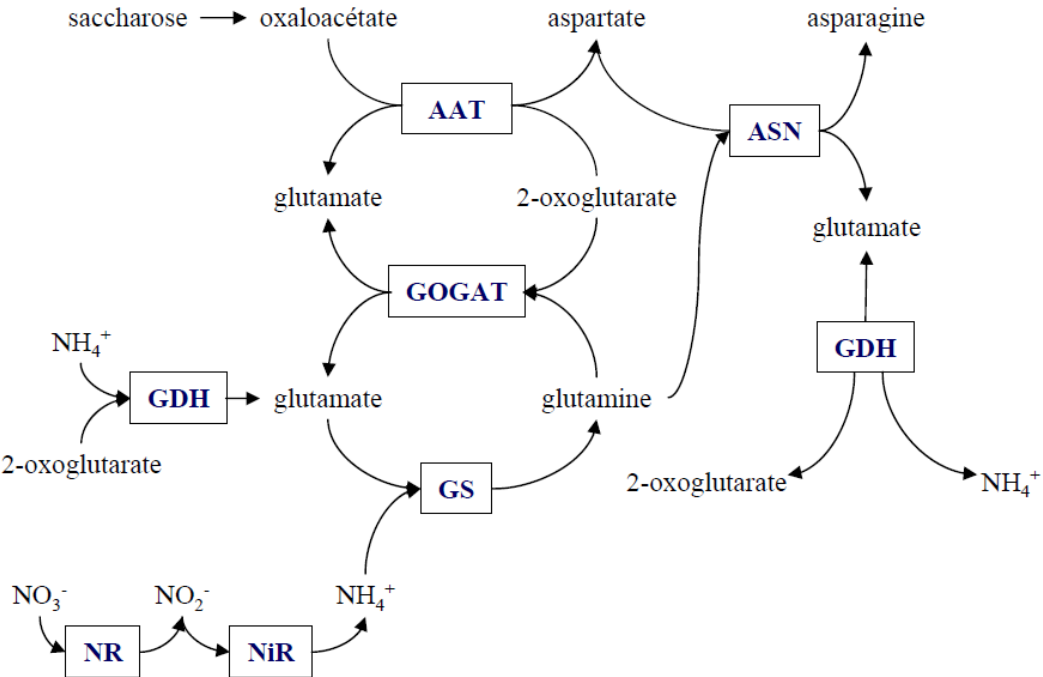


Figure 25 : voie d'assimilation de l'azote (d'après Coruzzi, 2003). GS, glutamine synthétase ; GOGAT, glutamate synthase ; AAT, aspartate aminotransférase ; ASN, asparagine synthétase ; GDH, glutamate déshydrogénase ; NiR, nitrite réductase ; NR, nitrate réductase ; 2-oxoglutarate ou α -cétooglutarate.

L'expression de la GS est en particulier induite par la lumière et le saccharose, et réprimée par des applications de glutamate ou glutamine.

Deux types de glutamate synthase (GOGAT) existent, localisées dans le chloroplaste, qui se distinguent par le donneur d'électrons, ferrédoxine (Fd-GOGAT) ou NADH (NADH-GOGAT) (Hirel & Lea, 2001).

La Fd-GOGAT est prépondérante dans les feuilles photosynthétiques, assurant 95% de l'activité GOGAT, alors que la NADH-GOGAT est surtout active dans les tissus non photosynthétiques comme les racines.



La glutamate déshydrogénase (GDH) est un enzyme qui catalyse la conversion du glutamate en ammonium et α -cétooglutarate ainsi que la réaction inverse, c'est-à-dire l'amination de l' α -cétooglutarate (Aubert et *al.*, 2001).

Deux formes majeures de GDH ont été décrites : une forme à NADH dépendante dans les mitochondries et une forme à NADPH dépendante dans les chloroplastes (Melo-Oliveira et al., 1996).

Les gènes codant pour la GDH sont régulés négativement par les sucres et positivement par l'ammonium, contrairement aux gènes codant pour la GS.

Le rôle majeur de la GDH serait la désamination du glutamate pour fournir énergie et squelettes carbonés (Mifflin et Habash, 2002 ; Masclaux-Daubresse et *al.*, 2006).

- *L'aspartate aminotransférase (AAT)* (figure 25)

L'aspartate aminotransférase (AAT), enzyme phosphate-dépendant, catalyse le transfert réversible d'un groupe aminé du glutamate vers l'oxaloacétate pour former l'aspartate et l' α -cétooglutarate.

- *L'asparagine synthétase (ASN)* (figure 25)

L'asparagine synthétase (ASN) catalyse le transfert ATP-dépendant d'un groupe aminé de la glutamine vers une molécule d'aspartate pour former glutamate et asparagine .

Même si l'ammonium est un substrat potentiel, la glutamine est le substrat privilégié de l'ASN chez la majorité des plantes supérieures (Sieciechowicz et *al.*, 1988).

L'asparagine a été le premier acide aminé découvert et, comparé à la glutamine, l'asparagine est relativement inerte et transporte plus d'azote par carbone.

Ainsi l'asparagine assure le stockage de l'azote et le transport à longue distance de l'azote par le phloème chez les plantes supérieures.

Par transamination, l'azote est ensuite transféré à d'autres substrats carbonés (acides α -cétoniques) pour former de nouveaux acides aminés (aspartate, alanine, glycine ...), eux-mêmes précurseurs de tous les autres acides aminés.

Les acides aminés synthétisés peuvent aussitôt contribuer à la biosynthèse des protéines, ou être transitoirement stockés dans les vacuoles, ou transportés vers d'autres tissus.

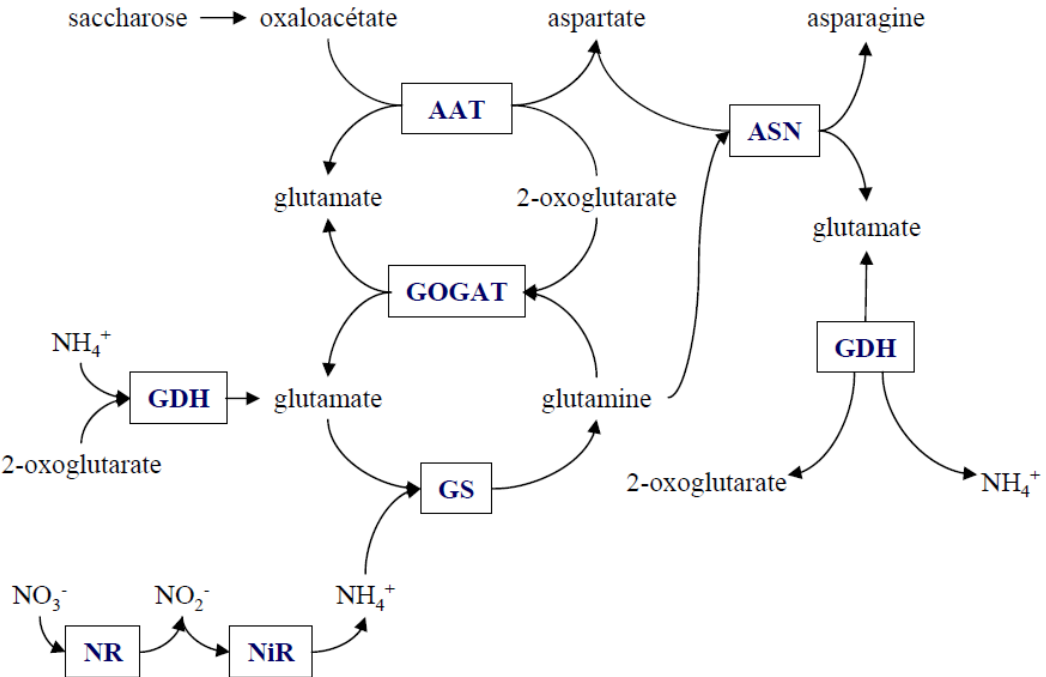


Figure 25 : voie d'assimilation de l'azote (d'après Coruzzi, 2003). GS, glutamine synthétase ; GOGAT, glutamate synthase ; AAT, aspartate aminotransférase ; ASN, asparagine synthétase ; GDH, glutamate déshydrogénase ; NiR, nitrite réductase ; NR, nitrate réductase ; 2-oxoglutarate ou α -cétooglutarate.

Ces enzymes se trouvent dans différents compartiments de la cellule : cytosol, mitochondries, plastes, et peroxysomes (Forde et Lea, 2007).



Comme nous l'avons vu, la glutamine puis le glutamate sont les deux premiers acides aminés synthétisés par les plantes après l'intégration de l'ion NH_4^+ aux squelettes carbonés au cours du cycle GS/GOGAT (figures 25 et 26).

Le groupement amine peut ensuite être transféré de la glutamine et du glutamate vers l'aspartate au cours d'une réaction catalysée par l'aspartate aminotransférase (AAT) ou vers l'asparagine par l'asparagine synthétase (ASN) (figures 25 et 26).

Ces quatre acides aminés sont majoritaires chez la plupart des plantes supérieures.

L'aspartate est un précurseur de la proline et de la glycine (Forde et Lea, 2007), de l'asparagine (Lea et *al.*, 2007) et de la lysine, la thréonine, la méthionine et isoleucine (Azevedo et *al.*, 2006) (figure 26).

Le glutamate est également le précurseur de l'arginine et permet la synthèse de l'ornithine, la citrulline, et l'arginosuccinate (Slocum, 2005).

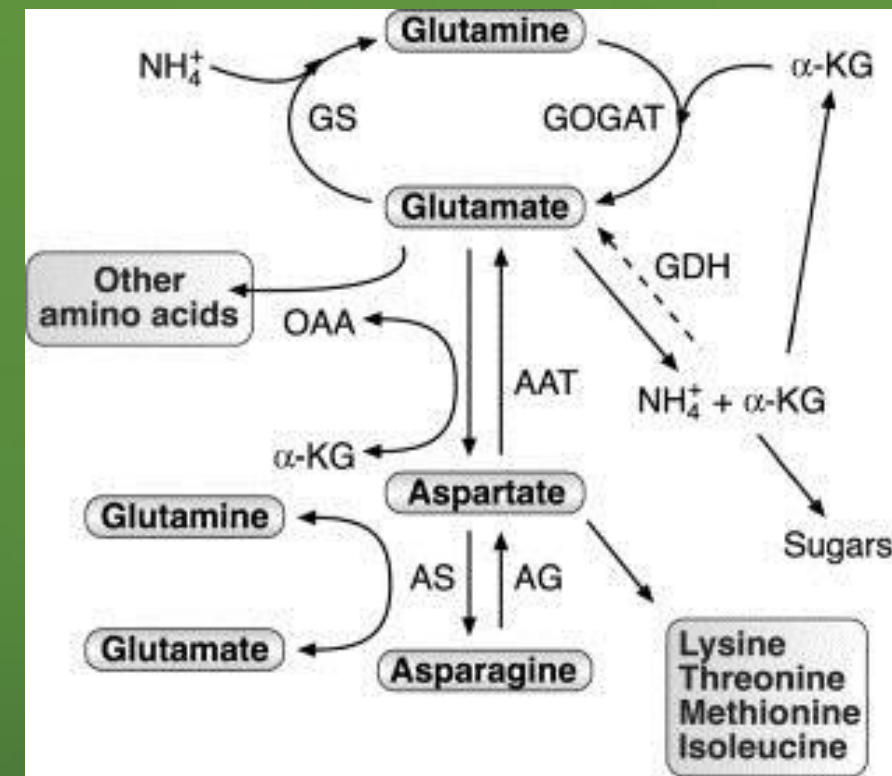


Figure 26 : représentation schématique de l'assimilation de l'ammonium et de la synthèse des autres acides aminés GS : glutamine synthétase ; GOGAT : glutamate synthase ; AAT : aspartate amino-transférase ; GDH : glutamate déshydrogénase ; AS : ASN : asparagine synthétase ; AG : asparaginase ; OAA : oxaloacétate ; α -KG : α -cétooglutarate (Galili *et al.*, 2008).



▪ *Synthèse des protéines*

Les protéines sont des polymères linéaires d'acides aminés unis par une liaison peptidique établie.

Les acides aminés sont assemblés par les ribosomes au cours de la traduction de l'ARNm lui-même issu de la transcription de l'ADN.

Chez les plantes, la synthèse de protéines se passent dans trois compartiments cellulaires distincts : environ 75% sont synthétisées dans le cytoplasme, 20% dans les chloroplastes et 2 à 5% dans les mitochondries (Buchanan *et al.*, 2000).

L'azote assimilé au cours de la croissance est surtout utilisé pour l'élaboration de l'équipement enzymatique et en particulier pour la construction de la machinerie photosynthétique.

Chez les céréales, au cours de la sénescence, ces protéines enzymatiques sont hydrolysées et l'azote qui en est issu est réutilisé pour la synthèse des protéines du grain. Les protéines représentent 10 à 15% de la matière sèche dans les graines de céréales 40 à 50% chez certaines légumineuses. Environ 50 à 85% de ces protéines sont des protéines de stockage (Shewry, 2007).

Chez les herbacées, l'azote est stocké temporairement sous forme de protéines de réserve dans les racines. Après la coupe, ces protéines sont hydrolysées pour assurer les besoins en azote des nouvelles repousses.

Chez les ligneux, l'azote est stocké dans les racines, l'écorce et les parenchymes ligneux et réutilisé au besoin lors de la croissance des nouvelles tiges et feuilles.

Des protéines particulières de réserve (Vegetative Storage Proteins) ont été mises en évidence dans les différents tissus des plantes herbacées et ligneuses (Morot-Gaudry *et al.*, 2001).

Les VSP peuvent représenter jusqu'à 50% des protéines solubles totales dans les divers organes de stockage. Les VSP se distinguent des protéines de stockage des graines dans le sens où elles s'accumulent transitoirement et sont dégradées au sein d'un cycle de vie de la plante.



Références bibliographiques

- Allen, S., & Smith, J. A. C. (1986). Ammonium nutrition in *Ricinus communis* : its effect on plant growth and the chemical composition of the whole plant, xylem and phloem saps. *Journal of Experimental Botany*, 37(11), 1599-1610.
- Aslam, M., Travis, R. L., & Rains, D. W. (1996). Evidence for substrate induction of a nitrate efflux system in barley roots. *Plant physiology*, 112(3), 1167-1175.
- Aubert, S., Bligny, R., Douce, R., Gout, E., Ratcliffe, R. G., & Roberts, J. K. M. (2001). Contribution of glutamate dehydrogenase to mitochondrial glutamate metabolism studied by ¹³ C and ³¹ P nuclear magnetic resonance. *Journal of Experimental Botany*, 52(354), 37-45.
- Azevedo, R. A., Lancien, M., & Lea, P. J. (2006). The aspartic acid metabolic pathway, an exciting and essential pathway in plants. *Amino acids*, 30(2), 143-162.
- Becker, T. W., Carrayol, E., & Hirel, B. (2000). Glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase isoforms in maize leaves : localization, relative proportion and their role in ammonium assimilation or nitrogen transport. *Planta*, 211(6), 800-806.
- Blevins, D. G. (1989). An overview of nitrogen metabolism in higher plants. In *Plant nitrogen metabolism* (pp. 1-41). Springer, Boston, MA.
- Bloom, A. J., & Sukrapanna, S. S. (1990). Effects of exposure to ammonium and transplant shock upon the induction of nitrate absorption. *Plant Physiology*, 94(1), 85-90.
- Bloom, A. J., Sukrapanna, S. S., & Warner, R. L. (1992). Root respiration associated with ammonium and nitrate absorption and assimilation by barley. *Plant Physiology*, 99(4), 1294-1301.
- Breteler, H., & Nissen, P. (1982). Effect of exogenous and endogenous nitrate concentration on nitrate utilization by dwarf bean. *Plant Physiology*, 70(3), 754-759.
- Britto, D. T., & Kronzucker, H. J. (2005). Nitrogen acquisition, PEP carboxylase, and cellular pH homeostasis: new views on old paradigms. *Plant, Cell & Environment*, 28(11), 1396-1409.
- Buchanan, B. B., Gruissem, W., & Jones, R. L. (2000). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (Rockville, Maryland, American Society of Plant Physiologists).
- Campbell, R., & Reece, L. G. Mitchell. (2004). *Biologi jilid*, 3.



Càrdenas-Navarro R., Adamowicz S. & Robin P. (1998). Diurnal nitrate uptake in young tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants : test of a feedback-based model. *Journal of experimental Botany*, 49, 721-730.

Causin, H. F., & Barneix, A. J. (1993). Regulation of NH_4^+ uptake in wheat plants : effect of root ammonium concentration and amino acids. *Plant and Soil*, 151(2), 211-218.

Cerezo, M., Flors, V., Legaz, F., & Garcia-Agustín, P. (2000). Characterization of the low affinity transport system for NO_3^- uptake by Citrus roots. *Plant Science*, 160(1), 95-104.

Clarkson, D. T., Jones, L. H. P., & Purves, J. V. (1992). Absorption of nitrate and ammonium ions by *Lolium perenne* from flowing solution cultures at low root temperatures. *Plant, Cell & Environment*, 15(1), 99-106.

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. *Journal of Experimental Botany*, 40, 753-762.

Coruzzi, G. M. (2003). Primary N-assimilation into amino acids in Arabidopsis. *The Arabidopsis Book/American Society of Plant Biologists*, 2.

Crawford, N. M. (1995). Nitrate: nutrient and signal for plant growth. *The plant cell*, 7(7), 859.

Crawford, N. M., & Glass, A. D. (1998). Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. *Trends in plant science*, 3(10), 389-395.

Daniel-Vedele, F., Filleur, S., & Caboche, M. (1998). Nitrate transport : a key step in nitrate assimilation. *Current opinion in plant biology*, 1(3), 235-239.

Delaire, M. (2005). *Variations de la capacité d'absorption minérale par les racines du jeune Acer pseudoplatanus, L. (Acéracées) consécutives à l'histoire nutritionnelle récente et ancienne de la plante. Application à la culture hors sol des végétaux ligneux* (Doctoral dissertation).

Delhon, P., Gojon, A., Tillard, P. & Passama, L. (1995). Diurnal regulation of NO_3^- uptake in soybean plants I. Changes in NO_3^- influx, efflux, and N utilization in the plant during the day/night cycle. *Journal of Experimental Botany*, 46(10), 1585-1594.



Delhon, P., Gojon, A., Tillard, P., & Passama, L. (1996). Diurnal regulation of NO_3^- uptake in soybean plants IV. Dependence on current photosynthesis and sugar availability to the roots. *Journal of Experimental Botany*, 47(7), 893-900.

Diaz C, Lemaitre T, Christ A, Azzopardi M, Kato Y, Sato F, Morot-Gaudry JF, Le Dily F, Masclaux-Daubresse C. (2008). Nitrogen recycling and remobilization are differentially controlled by leaf senescence and development stage in *Arabidopsis* under low nitrogen nutrition. *Plant Physiology*, 147(3), 1437-1449.

Dubois, F., Tercé-Laforgue, T., Gonzalez-Moro, M. B., Estavillo, J. M., Sangwan, R., Gallais, A., & Hirel, B. (2003). Glutamate dehydrogenase in plants: is there a new story for an old enzyme?. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41(6-7), 565-576.

Escobar, M. A., Geisler, D. A., & Rasmusson, A. G. (2006). Reorganization of the alternative pathways of the *Arabidopsis* respiratory chain by nitrogen supply: opposing effects of ammonium and nitrate. *The Plant Journal*, 45(5), 775-788.

Fan, S. C., Lin, C. S., Hsu, P. K., Lin, S. H., & Tsay, Y. F. (2009). The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT1. 7, expressed in phloem, is responsible for source-to-sink remobilization of nitrate. *The Plant Cell*, 21(9), 2750-2761.

Faure J.D., Meyer C., Caboche M. (1997). Assimilation du nitrate: nitrate et nitrite réductases. In: Morot-Gaudry, J.-F., (Ed.), Assimilation de l'azote chez les plantes, aspects physiologique, biochimique et moléculaire. INRA, Paris, pp. 45-65.

Feng, H., Fan, X., Miller, A. J., & Xu, G. (2020). Plant nitrogen uptake and assimilation : regulation of cellular pH homeostasis. *Journal of Experimental Botany*.

Forde, B. G. (2000). Nitrate transporters in plants : structure, function and regulation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1465(1-2), 219-235.

Forde, B. G., & Clarkson, D. T. (1999). Nitrate and ammonium nutrition of plants : physiological and molecular perspectives. In *Advances in botanical research* (Vol. 30, pp. 1-90). Academic Press.

Forde, B. G., & Lea, P. J. (2007). Glutamate in plants : metabolism, regulation, and signalling. *Journal of experimental botany*, 58(9), 2339-2358.



Frost, W. B., Blevins, D. G., & Barnett, N. M. (1978). Cation pretreatment effects on nitrate uptake, xylem exudate, and malate levels in wheat seedlings. *Plant physiology*, 61(3), 323-326.

Galili, S., Amir, R., & Galili, G. (2008). Genetic engineering of amino acid metabolism in plants. *Advances in Plant Biochemistry and Molecular Biology*, 1, 49-80.

Gansel, X., Muñoz, S., Tillard, P., & Gojon, A. (2001). Differential regulation of the NO_3^- and NH_4^+ transporter genes AtNrt2. 1 and AtAmt1. 1 in *Arabidopsis* : relation with long-distance and local controls by N status of the plant. *The Plant Journal*, 26(2), 143-155.

Gazzarrini, S., Lejay, L., Gojon, A., Ninnemann, O., Frommer, W. B., & von Wirén, N. (1999). Three functional transporters for constitutive, diurnally regulated, and starvation-induced uptake of ammonium into *Arabidopsis* roots. *The Plant Cell*, 11(5), 937-947.

Genies, L. (2017). *Etude des transporteurs impliqués dans l'absorption racinaire et la translocation aux parties aériennes du césium chez Arabidopsis thaliana* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille).

Givan, C. V. (1980). Aminotransferases in Higher Plants. *The Biochemistry of Plants* (Mifflin, B.J., ed.) Vol. 5.

Glass, A. D. M., & Siddiqi, M. Y. (1995). Nitrogen absorption in higher plants. *Nitrogen nutrition in higher plants.*, 21-55.

Glass, A. D., Shaff, J. E., & Kochian, L. V. (1992). Studies of the uptake of nitrate in barley : IV. Electrophysiology. *Plant Physiology*, 99(2), 456-463.

Gojon, A., & Gaymard, F. (2010). Keeping nitrate in the roots : an unexpected requirement for cadmium tolerance in plants. *Journal of molecular cell biology*, 2(6), 299-301.

Gojon, A., Nacry, P., & Davidian, J. C. (2009). Root uptake regulation : a central process for NPS homeostasis in plants. *Current opinion in plant biology*, 12(3), 328-338.

Gojon, A., Soussana, J. F., Passama, L., & Robin, P. (1986). Nitrate reduction in roots and shoots of barley (*Hordeum vulgare* L.) and corn (*Zea mays* L.) seedlings : I. ^{15}N study. *Plant Physiology*, 82(1), 254-260.

Gordon, A. J., Skøt, L., James, C. L., & Minchin, F. R. (2002). Short-term metabolic responses of soybean root nodules to nitrate. *Journal of experimental botany*, 53(368), 423-428.



Granstedt, R. C., & Huffaker, R. C. (1982). Identification of the leaf vacuole as a major nitrate storage pool. *Plant Physiology*, 70(2), 410-413.

Grignon, C., Thibaud, J. B., & Lamaze, T. (1997). Transport du nitrate par la racine. *Assimilation de l'azote chez les plantes*. Morot-Gaudry, JF, INRA, Paris, 422.

Hachiya, T., & Sakakibara, H. (2017). Interactions between nitrate and ammonium in their uptake, allocation, assimilation, and signaling in plants. *Journal of Experimental Botany*, 68(10), 2501-2512.

Hansen, G. K. (1980). Diurnal variation of root respiration rates and nitrate uptake as influenced by nitrogen supply. *Physiologia Plantarum*, 48(3), 421-427.

Hirel B., & Lea P. (2001). Ammonium assimilation, dans Lea P.J. et Morot-Gaudry J.F. Ed., Plant Nitrogen, p. 79-100, Springer-Verlag, Berlin et INRA edition, Versailles, France.

Howitt, S. M., & Udvardi, M. K. (2000). Structure, function and regulation of ammonium transporters in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1465(1-2), 152-170.

Imsande, J., & Touraine, B. (1994). N demand and the regulation of nitrate uptake. *Plant physiology*, 105(1), 3.

Ireland R.J. & Joy K.W. (1985). Plant transaminases In, Christen P., Metzler D.E., Eds. Transaminases, Vol. 2., Wiley, New York, pp 376-384.

Ireland, R. J., & Lea, P. J. (1999). The enzymes of glutamine, glutamate, asparagine and aspartate metabolism. *Plant Amino Acids : Biochemistry and Biotechnology*, 49-110.

Joy, K. W. (1988). Ammonia, glutamine, and asparagine : a carbon–nitrogen interface. *Canadian Journal of Botany*, 66(10), 2103-2109.

Kojima, S., Böhner, A., Gassert, B., Yuan, L., & Wirén, N. V. (2007). AtDUR3 represents the major transporter for high-affinity urea transport across the plasma membrane of nitrogen-deficient *Arabidopsis* roots. *The Plant Journal*, 52(1), 30-40.

Kronzucker, H. J., Schjoerring, J. K., Erner, Y., Kirk, G. J., Yaeesh Siddiqi, M., & Glass, A. D. (1998). Dynamic interactions between root NH_4^+ influx and long-distance N translocation in rice : insights into feedback processes. *Plant and cell physiology*, 39(12), 1287-1293



Kronzucker, H. J., Siddiqi, M. Y., & Glass, A. D. (1996). Kinetics of NH_4^+ influx in spruce. *Plant physiology*, 110(3), 773-779.

Laine, P., Ourry, A., & Boucaud, J. (1995). Shoot control of nitrate uptake rates by roots of *Brassica napus* L. : effects of localized nitrate supply. *Planta*, 196(1), 77-83.

Laine, P., Ourry, A., Macduff, J., Boucaud, J., & Salette, J. (1993). Kinetic parameters of nitrate uptake by different catch crop species : effects of low temperatures or previous nitrate starvation. *Physiologia plantarum*, 88(1), 85-92.

Le Bot J. & Kirkby E.A. (1992). Diurnal uptake of nitrate and potassium during the vegetative growth of tomato plants. *Journal of Plant Nutrition*, 15, 247-264.

Lea P.J., Sodek L., Parry M.A.J., Shewry P.R., Halford N.G. (2007). Asparagine in plants. *Annals of Applied Biology*. 150, 1-26.

Lea, P. J., & Forde, B. G. (1994). The use of mutants and transgenic plants to study amino acid metabolism. *Plant, cell & environment*, 17(5), 541-556.

Lee, R. B., & Drew, M. C. (1989). Rapid, reversible inhibition of nitrate influx in barley by ammonium. *Journal of Experimental Botany*, 40(7), 741-752.

Lee, R. B., Purves, J. V., Ratcliffe, R. G., & Saker, L. R. (1992). Nitrogen assimilation and the control of ammonium and nitrate absorption by maize roots. *Journal of Experimental Botany*, 43(11), 1385-1396.

Lejay, L., Tillard, P., Lepetit, M., Olive, F. D., Filleur, S., Daniel-Vedele, F., & Gojon, A. (1999). Molecular and functional regulation of two NO_3^- uptake systems by N- and C-status of *Arabidopsis* plants. *The Plant Journal*, 18(5), 509-519.

Li, S. X., Wang, Z. H., & Stewart, B. A. (2013). Responses of crop plants to ammonium and nitrate N. In *Advances in agronomy* (Vol. 118, pp. 205-397). Academic Press

Loqué, D., & von Wirén, N. (2004). Regulatory levels for the transport of ammonium in plant roots. *Journal of experimental botany*, 55(401), 1293-1305.

Loulakakis, K. A., & Roubelakis-Angelakis, K. A. (2001). Nitrogen assimilation in grapevine. In *Molecular Biology & Biotechnology of the Grapevine* (pp. 59-85). Springer, Dordrecht.



Ludewig, U., von Wirén, N., & Frommer, W. B. (2002). Uniport of NH_4^+ by the root hair plasma membrane ammonium transporter LeAMT1; 1. *Journal of Biological Chemistry*, 277(16), 13548-13555.

Lüttge U, Kluge M, Bauer G, (2002). Nutrition minérale des plantes. Botanique. Tec&Doc, P, Lüttge, U., Kluge, M., Bauer, G.: 604.

Maathuis, F. J. (2009). Physiological functions of mineral macronutrients. *Current opinion in plant biology*, 12(3), 250-258.

Macduff J.H., & Hopper M.J. (1986). Effects of root temperature on uptake of nitrate and ammonium by barley (*Hordeum vulgare* L.) grown in flowing solution culture. *Plant Soil*, 91, 303-306.

Macduff, J. H., Hopper, M. J., & Wild, A. (1987). The effect of root temperature on growth and uptake of ammonium and nitrate by *Brassica napus* L. cv. bien venu in flowing solution culture: II. uptake from solutions containing NH_4NO_3 . *Journal of Experimental Botany*, 38(1), 53-66.

Malagoli, P. (2004). *Modélisation de l'absorption de l'azote nitrique, de son allocation et de sa remobilisation chez le colza d'hiver (Brassica napus L.) de la reprise de la végétation au stade maturité des graines* (Doctoral dissertation, Institut national agronomique Paris-Grignon).

Marques, M. (2019). *Lien entre le métabolisme carboné et le métabolisme azoté*. Studocu. <https://www.studocu.com/fr/document/sorbonne-universite/biologie-vegetale/notes-de-cours/chapitre-2-assimilation-de-lazote/8045398/view>

Márquez, A. J., Betti, M., García-Calderón, M., Pal'ove-Balang, P., Díaz, P., & Monza, J. (2005). Nitrate assimilation in *Lotus japonicus*. *Journal of experimental botany*, 56(417), 1741-1749.

Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants 2nd edition. *Academic, Great Britain*.

Marschner, H., Römheld, V., Horst, W. J., & Martin, P. (1986). Root-induced changes in the rhizosphere : importance for the mineral nutrition of plants. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 149(4), 441-456.

Martinoia, E., Heck, U., & Wiemken, A. (1981). Vacuoles as storage compartments for nitrate in barley leaves. *Nature*, 289(5795), 292-294.



Masclaux-Daubresse C., Reisdorf-Cren M., Pageau K., Lelandais M., Grandjean O., Kronenberger J., Valadier M.H., Feraud M., Jouglet T., Suzuki A. (2006). Glutamine synthetase-glutamate synthase pathway and glutamate dehydrogenase play distinct roles in the sink-source nitrogen cycle in tobacco. *Plant physiology*, 140(2), 444-456.

Masclaux-Daubresse C., Daniel-Vedele, F., Dechorgnat, J., Chardon, F., Gaufichon, L., & Suzuki, A. (2010). Nitrogen uptake, assimilation and remobilization in plants : challenges for sustainable and productive agriculture. *Annals of botany*, 105(7), 1141-1157.

Masclaux-Daubresse, C., Valadier, M. H., Carrayol, E., Reisdorf-Cren, M., & Hirel, B. (2002). Diurnal changes in the expression of glutamate dehydrogenase and nitrate reductase are involved in the C/N balance of tobacco source leaves. *Plant, Cell & Environment*, 25(11), 1451-1462.

Meharg, A. A., & Blatt, M. R. (1995). NO_3^- transport across the plasma membrane of *Arabidopsis thaliana* root hairs : kinetic control by pH and membrane voltage. *The Journal of membrane biology*, 145(1), 49-66.

Melo-Oliveira, R., Oliveira, I. C., & Coruzzi, G. M. (1996). *Arabidopsis* mutant analysis and gene regulation define a non redundant role for glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(10), 4718-4723.

Mérigout, P. (2006). *Étude du métabolisme de la plante en réponse à l'apport de différents fertilisants et adjuvants culturels. Influence des phytohormones sur le métabolisme azoté* (Doctoral dissertation).

Meyer, C., & Stitt, M. (2001). Nitrate reduction and signalling. In *Plant nitrogen* (pp. 37-59). Springer, Berlin, Heidelberg.

Miflin, B. J., & Habash, D. Z. (2002). The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops. *Journal of experimental botany*, 53(370), 979-987.

Miflin, B. J., & Lea, P. J. (1980). Biochemistry of Plants, (ed.) BJ, Miflin.

Miflin, B. J., & Lea, P. J. (1982). Ammonia assimilation and amino acid metabolism. In *Nucleic Acids and Proteins in Plants I* (pp. 5-64). Springer, Berlin, Heidelberg.



Miller, A. J., Cookson, S. J., Smith, S. J., & Wells, D. M. (2001). The use of microelectrodes to investigate compartmentation and the transport of metabolized inorganic ions in plants. *Journal of Experimental Botany*, 52(356), 541-549.

Miller, A. J., Fan, X., Orsel, M., Smith, S. J., & Wells, D. M. (2007). Nitrate transport and signalling. *Journal of experimental Botany*, 58(9), 2297-2306.

Miller, A. J., Shen, Q., & Xu, G. (2009). Freeways in the plant: transporters for N, P and S and their regulation. *Current opinion in plant biology*, 12(3), 284-290.

Morgan, M. A., Volk, R. J., & Jackson, W. A. (1973). Simultaneous influx and efflux of nitrate during uptake by perennial ryegrass. *Plant Physiology*, 51(2), 267-272.

Morot-Gaudry, J. F. (1997). *Assimilation de l'azote chez les plantes: aspects physiologique, biochimique et moléculaire*. Editions Quae.

Morot-Gaudry, J. F., Job, D., & Lea, P. J. (2001). Amino acid metabolism. In *Plant nitrogen* (pp. 167-211). Springer, Berlin, Heidelberg.

Morot-Gaudry, J. F., Moreau, F., Prat, R., Maurel, C., & Sentenac, H. (2017). *Biologie végétale : nutrition et métabolisme-3^{ème} éd.* Dunod.

Morot-Gaudry, J. F., Orsel, M., Diaz, C., Daniel-Vedele, F., & Masclaux-Daubresse, C. (2006). Absorption et assimilation du nitrate et recyclage de l'azote organique chez les plantes : intérêt pour le colza. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 13(6), 393-402.

Ourry, A., Gordon, A. J., & Macduff, J. H. (1997). *Nitrogen uptake and assimilation in roots and root nodules* (pp. 237-254). London: Taylor and Francis.

Ourry, A., Macduff, J. H., Prudhomme, M. P., & Boucaud, J. (1996). Diurnal variation in the simultaneous uptake and 'sink' allocation of NH_4^+ and NO_3^- by *Lolium perenne* in flowing solution culture. *Journal of experimental Botany*, 47(12), 1853-1863.

Peoples M. B. & Gifford R. M. (1993). Long distance transport of carbon and nitrogen from sources to sinks in higher plants. In *Plant Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Edited by DT Dennis DT, Turpin DH. New York, 434-47.

Rao, K. P., & Rains, D. W. (1976). Nitrate absorption by barley : I. Kinetics and energetics. *Plant physiology*, 57(1), 55-58.



Raven, J. A., Wollenweber, B., & Handley, L. L. (1992). A comparison of ammonium and nitrate as nitrogen sources for photolithotrophs. *New Phytologist*, 121(1), 19-32.

Rawat, S. R., Silim, S. N., Kronzucker, H. J., Siddiqi, M. Y., & Glass, A. D. (1999). AtAMT1 gene expression and NH_4^+ uptake in roots of *Arabidopsis thaliana* : evidence for regulation by root glutamine levels. *The Plant Journal*, 19(2), 143-152.

Restivo, F. M. (2004). Molecular cloning of glutamate dehydrogenase genes of *Nicotiana plumbaginifolia* : structure analysis and regulation of their expression by physiological and stress conditions. *Plant Science*, 166(4), 971-982.

Robinson S.A., Slade A.P., Fox G.G., Phillips R., Ratcliffe R.G., Stewart G.R. (1991). The role of glutamate dehydrogenase in plant nitrogen metabolism. *Plant Physiology* 95, 509-516.

Rufty, T. W., Jackson, W. A., & Raper, C. D. (1981). Nitrate reduction in roots as affected by the presence of potassium and by flux of nitrate through the roots. *Plant Physiology*, 68(3), 605-609.

Sasakawa, H., & Yamamoto, Y. (1978). Comparison of the uptake of nitrate and ammonium by rice seedlings : influences of light, temperature, oxygen concentration, exogenous sucrose, and metabolic inhibitors. *Plant Physiology*, 62(4), 665-669.

Scaife, A., & Schloemer, S. (1994). The diurnal pattern of nitrate uptake and reduction by spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Annals of Botany*, 73(3), 337-343.

Seyoshi, K., Ishikawa, S., & Abdel-latif, H. I. S. (2010). 5. Nitrate transport in barley. *Nitrogen Assimilation in Plants*.

Shewry, P. R. (2007). Improving the protein content and composition of cereal grain. *Journal of cereal science*, 46(3), 239-250.

Siddiqi MY, Glass AD, Ruth TJ, Rufty TW. (1990). Studies of the Uptake of Nitrate in Barley : I. Kinetics of $^{13}\text{NO}_3^-$ Influx. *Plant Physiol* 93(4), 1426-32.

Siddiqi, M. Y., Glass, A. D., Ruth, T. J., & Fernando, M. (1989). Studies of the regulation of nitrate influx by barley seedlings using $^{13}\text{NO}_3^-$. *Plant Physiology*, 90(3), 806-813.

Sieciechowicz, K. A., Joy, K. W., & Ireland, R. J. (1988). The metabolism of asparagine in plants. *Phytochemistry*, 27(3), 663-671.



Slocum, R. D. (2005). Genes, enzymes and regulation of arginine biosynthesis in plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 43(8), 729-745.

Smirnov, N., & Stewart, G. R. (1985). Nitrate assimilation and translocation by higher plants : comparative physiology and ecological consequences. *Physiologia plantarum*, 64(2), 133-140.

Smith, F. A., & Raven, J. A. (1979). Intracellular pH and its regulation. *Annual Review of Plant Physiology*, 30(1), 289-311.

Soltner, D. (2007). Les bases de la production végétale Tome III, la plante. *Collection sciences et technique agricole Paris*, 304p.

Steudle, E., Murrmann, M., & Peterson, C. A. (1993). Transport of water and solutes across maize roots modified by puncturing the endodermis (further evidence for the composite transport model of the root). *Plant Physiology*, 103(2), 335-349.

Tercé-Laforgue, T., Mäck, G., & Hirel, B. (2004). New insights towards the function of glutamate dehydrogenase revealed during source-sink transition of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants grown under different nitrogen regimes. *Physiologia Plantarum*, 120(2), 220-228.

Touraine, B. & Gojon, A. (1997). Intégration de l'absorption du nitrate dans la plante. In Assimilation de l'azote chez les plantes. Aspects physiologique, biochimique et moléculaire. Ed. J.M. Morot Gaudry. INRA, Paris France, pp. 109-128.

Touraine, B., & Glass, A. D. (1997). NO_3^- and ClO_3^- fluxes in the chl1-5 mutant of *Arabidopsis thaliana* (Does the CHL1-5 gene encode a low-affinity NO_3^- transporter?). *Plant Physiology*, 114(1), 137-144.

Tsay, Y. F., Chiu, C. C., Tsai, C. B., Ho, C. H., & Hsu, P. K. (2007). Nitrate transporters and peptide transporters. *FEBS letters*, 581(12), 2290-2300.

Van de Dijk, S. J., Lanting, L., Lambers, H., Posthumus, F., Stulen, I., & Hofstra, R. (1982). Kinetics of nitrate uptake by different species from nutrient-rich and nutrient-poor habitats as affected by the nutrient supply. *Physiologia plantarum*, 55(2), 103-110.

von Wirén, N., Gazzarrini, S., Gojon, A., & Frommer, W. B. (2000a). The molecular physiology of ammonium uptake and retrieval. *Current opinion in plant biology*, 3(3), 254-261.



von Wirén, N., Gojon, A., Chaillou, S., & Raper, D. (2001). Mechanisms and regulation of ammonium uptake in higher plants. In *Plant nitrogen* (pp. 61-77). Springer, Berlin, Heidelberg.

von Wirén, N., Lauter, F. R., Ninnemann, O., Gillissen, B., Walch-Liu, P., Engels, C., ... & Frommer, W. B. (2000b). Differential regulation of three functional ammonium transporter genes by nitrogen in root hairs and by light in leaves of tomato. *The Plant Journal*, 21(2), 167-175.

Wang YY, Hsu PK, Tsay YF. (2012). Uptake, allocation and signaling of nitrate. *Trends Plant Science*, 17, 458-67.

Wang, M. Y., Siddiqi, M. Y., Ruth, T. J., & Glass, A. D. (1993a). Ammonium uptake by rice roots (I. Fluxes and subcellular distribution of $^{13}\text{NH}_4^+$). *Plant Physiology*, 103(4), 1249-1258.

Wang, M. Y., Siddiqi, M. Y., Ruth, T. J., & Glass, A. D. (1993b). Ammonium uptake by rice roots (II. Kinetics of $^{13}\text{NH}_4^+$ influx across the plasmalemma). *Plant physiology*, 103(4), 1259-1267.