

7
EN 890012
p 342
GUE

1989 (22)

MINISTERE DU DEVELOPPEMENT
RURAL

X

INSTITUT SENEGALAIS DE
RECHERCHES AGRICOLES

DIRECTION DES RECHERCHES SUR
LES PRODUCTIONS VEGETALES

PROGRAMME NIEBE

FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE
CHEZ L E NIEBE

par

Mamadou GUEYE

Juillet 1989

Centre National de Recherches
Agronomiques de Bambey

1. Introduction.

La Fixation Biologique de l'Azote (FBA) contribue considérablement à l'amélioration de la productivité des légumineuses. Cependant, des facteurs intrinsèques de la plante-hôte et du microsymbiote interviennent simultanément dans le mécanisme de la FBA. Il existe en effet chez la plante-hôte et chez le Rhizobium des facteurs héréditaires contrôlant non seulement l'apparition et le nombre des nodules, mais aussi l'effectivité de la symbiose fixatrice (Arrendell et al., 1985; Hohenberg et al., 1982).

L'accroissement de la productivité des légumineuses par la FBA dépend donc de la variabilité génétique naturelle existant chez les deux partenaires de la symbiose fixatrice d'azote.

Notre étude consiste dans le cas du niébé (Vigna unguiculata), comme dans celui de l'arachide (Arachis hypogaea), à cribler les variétés les plus fixatrices d'azote dans les différentes zones de production et d'isoler la (ou les) souche(s) de Rhizobium associée(s) à chacune de ces variétés. Dans une deuxième phase, nous envisagerons l'étude des interactions souche de Rhizobium x variété afin d'améliorer la performance symbiotique de la légumineuse en association avec le Rhizobium.

Dans ce présent rapport, nous décrivons les résultats obtenus dans le cadre de l'étude effectuée au Sénégal sur le criblage des variétés de niébé à haut potentiel fixateur d'azote.

2. Matériels et méthodes.

Dix variétés de niébé indiquées au Tableau 2 ont été semées en 1988 au champ selon le protocole décrit dans l'essai "densité de semis" de l'opération "amélioration du niébé" dans trois stations expérimentales : Bambey (pluviométrie : 639,5mm), Louga (pluviométrie : 441,8mm) et Thilmakha (pluviométrie : 438,8mm). La composition chimique des sols de ces trois stations expérimentales est indiquée au Tableau 1.

A 50% de floraison des différentes variétés, 10 pieds de niébé ont été prélevés par variété, par répétition et par station expérimentale. La nodulation de chaque variété a été évaluée par l'indice de nodulation observée dans chaque station expérimentale selon la méthode de Gueye et Bordeleau (1988); les nodules et les parties aériennes ont été séchés à l'étuve 60°C jusqu'à poids constant; la fixation de l'azote pour chaque variété a été évaluée dans chaque station expérimentale en déterminant la teneur en allantoïne des tiges selon la technique de Young et Conway modifiée par Elowad et al. (1987). Pour chaque variété, des souches de Rhizobium ont été isolées dans chaque station expérimentale selon les procédures habituelles (Vincent, 1970).

3. Résultats et discussion.

Tous les résultats sont indiqués au Tableau 2.

3.1. Nodulation.

A Bambey, seules les variétés 279 et 247 ont présenté une nodulation effective. A Louga et à Thilmakha, toutes les variétés ont présenté une nodulation effective à l'exception de la variété 32-36 (Tableau 2). La nodulation peu effective observée à Bambey sur les variétés autres que 279 et 247 pourrait être due à l'ineffectivité des Rhizobium présents dans le sol de Bambey. A l'inverse, les Rhizobium présents dans les sols de Louga et de Thilmakha sont effectifs comme l'indique la couleur interne rouge des nodules prélevés sur les plantes lors de la détermination de l'indice de nodulation. Cependant, la faible teneur du sol en phosphore assimilable (Tableau 1) réduit l'intensité de la nodulation.

La poids sec des nodules des différentes variétés a varié en fonction de la station expérimentale (Tableau 2). Cette variation est due à la différence observée dans la population de Rhizobium des sols des trois localités : le sol de Bambey renferme plus de Rhizobium infectifs sur le niébé que le sol de Louga qui en renferme plus que celui de Thilmakha. Cette variation peut également être due à la différence des teneurs en phosphore assimilable dans les trois types de sol : 57,50, 22,54 et 28,98ppm respectivement à Bambey, Louga et Thilmakha (Tableau 1). Le poids sec des nodules le plus élevé a été observé sur les variétés 32-36 et 279 à Bambey, 58-57 et 247 à Louga, 275 et 283 à Thilmakha (Tableau 2).

3.2. Isolement des souches de Rhizobium.

Trente et huit souches de Rhizobium ont été isolées à partir des différentes variétés dans les trois stations expérimentales. Ces souches se présentent sous la forme de petites colonies (diamètre 1mm) blanchâtres, et ont une croissance lente. Une étude de taxonomie numérique utilisant les galeries API 20 NE (Geiss et al., 1985; Monget et al., 1983) est en cours.

3.3 Poids sec des parties aériennes.

La production de matière sèche a varié en fonction du site expérimental : à l'exception des variétés 247 et CB5, le poids sec des parties aériennes a été plus élevé à Bambey et plus faible à Thilmakha. Les variétés les plus productives ont été 275, Ndiambour, Mougne, 58-57 et 239 à Bambey, 58-57, CB5, Ndiambour, 275 et 279 à Louga puis CB5, 275, 283, 58-57 et Mougne à Thilmakha.

3.4. Estimation de la fixation de l'azote.

La fixation de l'azote, estimée par la concentration en uréides dans les tiges des plantes a montré une grande différence entre les variétés dans chaque station expérimentale. La plus grande concentration en allantoina a été observée dans les variétés 275, 58-57, Mougne, 283 et Ndiambour à Bambey, 279, 247, Ndiambour, 283 et Mougne à Louga puis 58-57, 247, 239, 283 et Ndiambour à Thilmakha. Il

apparaît donc que parmi les variétés testées, les variétés 283 et Ndiambour ont un potentiel fixateur d'azote plus stable, car dans les trois stations expérimentales, elles figurent parmi les cinq variétés dont la concentration en allantoiné est la plus élevée. D'autre part, à Bambey et à Thilmakha, la variété 58-57 figure parmi les cinq variétés à forte concentration en allantoiné. Il en est de même pour la variété 247 à Louga et à Thilmakha.

L'estimation de la fixation biologique de l'azote par la concentration en uréides dans les tiges est une méthode actuellement très peu utilisée car il est difficile de collecter la sève des tiges. Dans notre étude, l'extraction des uréides par l'eau bouillie offre l'avantage d'être rapide avec un taux d'extraction satisfaisant. Cependant, les limites de la méthode des uréides doivent être évaluées en relation avec les contraintes environnementales car les facteurs de l'environnement agissent simultanément sur la plante-hôte et sur le Rhizobium, donc sur la fixation de l'azote et sur le transfert de l'azote fixé des nodules aux parties supérieures de la plante sous la forme d'allantoiné et/ou d'acide allantoinique.

4. Conclusion.

En estimant l'azote fixé au champ par la concentration en uréides, deux variétés de niébé peuvent être considérées comme les plus fixatrices d'azote : 283 et Ndiambour. Les variétés 247 et 58-57 peuvent également être sélectionnées comme des variétés à haut potentiel fixateur d'azote.

Rappelons que les associations symbiotiques légumineuse-Rhizobium sont fortement influencées par les interactions génétiques qui ont de très grands effets imprévisibles sur la fixation biologique de l'azote. En conséquence, une amélioration de la productivité des légumineuses par la fixation biologique de l'azote nécessite une étude préalable des interactions entre les différents génotypes de la plante-hôte, la population de Rhizobium et les facteurs de l'environnement : chaque variété de légumineuse existante ou nouvellement créée doit avoir la souche de Rhizobium qui lui convient dans sa zone de production. Ce principe est une donnée fondamentale pour le succès d'un programme d'amélioration de la productivité d'une légumineuse par la fixation biologique de l'azote.

Il convient donc, pour augmenter la productivité du niébé dans les différentes zones de production par la fixation biologique de l'azote, de pouvoir tirer le maximum de profit de la variabilité génétique existant entre les deux partenaires de la symbiose (la plante-hôte et le Rhizobium) étant entendu que la quantité d'azote fixé varie également avec les conditions pédoclimatiques de l'environnement. La collection de souches de Rhizobium constituée à partir des différentes variétés étudiées dans les trois stations expérimentales peut servir de base pour l'étude des interactions variété x souche de Rhizobium en vue d'améliorer la fixation biologique de l'azote chez le niébé au Sénégal.

5. Bibliographie.

- ARRENDALL, S., WYNNE, J.C., ELKAN, G.H. and ISLEIB, T.G. 1985 Variation for nitrogen fixation progenies of a Virginia x Spanish peanut cross. Crop Science, 25, 865-869.
- DUNCAN, D.B. 1955 Multiple range and multiple F tests. Biometrics 1, 1-42.
- ELOWAD, H.O.A., HALL, A.E. and JARRELL, W.M. 1987 Comparisons of ureide and acetylene reduction methods for estimating biological nitrogen fixation by glasshouse-grown cowpea. Field Crops Research, 15, 215-227.
- GEISS, H.K., PIDTROVSKI, H.G., and HINGST, V. 1985 Evaluation of API 20 NE in routine diagnostic of non fermenting gram-negative rod shaped bacteria. Zbl. Bakt. Mikrobiol. Hyg. A-Med., 259 (1), 35-42.
- GUEYE, M. and BORDELEAU, L.M. 1988 Nitrogen fixation in bambara groundnut, Voandzeia subterranea (L.) Touars. Mircen Journal, 4, 365-375.
- HOHENBERG, J.S., MUNNS, D.N. and TUCKER, C.L. 1982 Rhizobium-host specificities in Phaseolus coccineus L. and Phaseolus vulgaris L. Crop Science, 22, 445-459.
- MONGET, D., BOEUFGRAS, J.M., DESMONCEAUX, M., PONCHON, S. and GUICHERD, M. 1983 A new system for identification of clinical non enteric gram-negative rods : API 20 NE. First European Congress of Clinical Microbiology. Bologne 429.
- VINCENT, J.M. 1970 A manual for practical study of root-nodule bacteria. IBP Handbook No. 15, Blackwell Scientific Publications (Oxford, Edinburg).

Tableau 1. Caractéristiques physicochimiques des sols de Bambey, Louga et Thilmakha.

Sol	-----ppm-----				----granulométrie (%)----			-----pH-----	
	Ctotal	Ntotal	Ptotal	P A*	Argile	Limon	Sable	Eau	KCl
Bambey	3320	320	388	57,50	4,0	2,0	94,0	6,63	5,52
Louga	1170	120	178	22,54	2,3	1,0	96,7	6,29	4,93
Thilmakha	1470	150	223	28,98	2,3	1,3	96,4	6,20	4,84

* : Le phosphore assimilable (P A) a été déterminé par la méthode
d. CLSEN

Toutes les analyses chimiques ont été effectuées au laboratoire
central du Centre National de Recherches Agronomiques de Bambey.

239	77,00	132,00 a	E	2,20 a
58-57	132,60	132,00 a	e	2,20 a
Mougna	129,20	119,00 a	E	1,80 bc
CB5	194,50	146,00 a	E	0,50 d
32-36	43,50 b	127,18 a	I	1,50 c

Tableau 2. Poids sec des parties aériennes et des nodules, Indice de nodulation et concentration en allantoiné des tiges de 10 variétés de niébé (*Vigna unguiculata*) cultivées au champ dans les stations expérimentales de Bambo, Louga et Thilmakha.

Sites	Variétés	-----Poids sec -----		Indice de Nodulation *	Concentration en Allantoïne (mmole/Kg MS)**
		Poids Aér. (g/10pl.)	Nod. (mg/10pl.)		
Bambo	275	413,70 a	989,00 d	g	3,80 a
	279	212,00 cd	2270,00 b	E	1,70 bc
	283	253,00 bcd	811,00 d	.	3,40 a
	247	91,20 g	1934,5% bc	E	1,30 c
	239	291,30 b c	821,00 d	g	3,10 a
	58-57	304,70 b c	978,50 cd	g	3,80 a
	Mougne	350,30 ccd b	1150,00 c d	.	3,40 a
	CB5	162,50 de	1180,00 c d	.	1,00 c
	32-36	291,00 bc	3429,00 a	l	2,70 ab
	Ndiambour	365,50 ab	1444,00 bcd	g	3,10 a
Louga	275	194,00 bcd	214,00 b	E	2,50 ab
	279	196,00 bc	210,00 b	E	3,50 a
	283	191,50 bed	195,00 b	E	2,90 ab
	247	117,10 d	317,00 ab	E	3,20 ab
	239	188,30 c d	254,00 b	E	2,50 ab
	58-57	276,00 a	404,50 .	E	2,80 ab
	Mougne	143,00 c d	256,00 b	E	2,80 ab
	CB5	199,10 b c	307,00 ab	E	2,70 ab
	32-36	118,40 d	286,00 ab	g	2,30 b
	Ndiambour	262,20 ab	222,50 b	E	3,20 ab
Thilmakha	275	157,50 a	156,00 a	E	2,80 abc
	279	104,00 a	145,00 .	E	2,80 cccc
	283	137,00 a	149,00 a	E	2,20 a
	247	101,00 a	130,00 a	E	2,20 a
	239	77,00 a	132,00 a	E	2,20 a
	58-57	132,60 a	132,00 a	.	2,20 a
	Mougne	129,20 .	119,00 a	E	1,80 bc
	CB5	194,50 a	146,00 a	E	0,50 d
	32-36	43,50 b	127,00 .	l	1,50 c
	Ndiambour	122,00 .	132,00 a	E	2,80 ab

*: E = Nodulation très effective (Ind.Nod. > 4); . = Nodulation moyennement effective (2 < Ind.Nod. < 4);
1 = Nodulation ineffective (Ind.Nod. < 2).

** MS = Matière Sèche

Pour chaque site, et dans chaque colonne, les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% d'après le test de Duncan (1955).