AC/Doc

CN0100768
P349
WEY

LA FIXATION BIOLOGIQUE DE N₂ PAR LA SYMBIOSE
RHIZOBIUM-LEGUMINEUSE

Synthèse des résultats de la campagne

1980

J. WEY

Programme de Recherches 2-4-13

Février 1981

Centre National de Recherches Agronomiques
de BAMBEY

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES AGRICOLES

(I. S. R. A.)

INTRODUCTION

En raison des prix sans cesse croissant de l'engrais azoté, il apparaît nécessaire de promouvoir les sources azotées gratuites, et l'occurrence la biosynthèse de l'azote atmosphérique par la symbiose rhizobium-legumineuse.

Avec son million d'hectares de cultures d'arachide, le Sénégal dispose d'un potentiel de production annuel par voie biologique de l'ordre de plusieurs dizaines de milliers de tonnes d'engrais azotés.

A ces intrants viennent s'ajouter la fixation de N₂ du Niébé (60.000 ha) , et des légumineuses fourragères spontanées qui sont abondantes et diversifiées.

De plus, le Sénégal envisage avec conviction de développer la culture du soja dans les régions du Sine-Saloum, Casamance et Sénégal Oriental (possibilité de cent mille hectares environ).

Il est donc nécessaire d'approfondir nos connaissances sur la symbiose de ces différentes légumineuses et de mettre au point les techniques d'intervention pour, selon le cas; induire la biosynthèse de l'azote, ou la valoriser au mieux.

Pendant la campagne agricole 1980, nous avons porté notre effort sur les thèmes suivants :

- Mise au point de l'inoculation bactérienne du soja: dose d'inoculum, technique d'inoculation, survie du rhizobium dans le sol.
- Influence de diverses techniques culturales sur la symbiose et le rendement de l'arachide.
- Diagnostic de la symbiose rhizobium x haricot vert, effet de l'inoculation et de l'azote minéral.

En laboratoire par ailleurs, nous nous sommes intéressés à l'étude d'un système simplifié de production semi-industrielle d'inoculum (projet unité pilote de production d'inoculum).

1 - LA SYMBIOSE RHIZOBIUM-SOJA

11- Détermination de la dose optimale d'inoculum liquide

La quantité d'inoculum (exprimée en litres d'inoculum liquide frais de concentration de 10^9 Rhizo./ml) utilisée couramment dans nos expérimentations est de l'ordre de 50 l/ha.

Il est évident que cette dose est surstimulée, et non applicable en milieu paysan d'où notre souci de rechercher la dose optimale.

Une première expérimentation menée en 1979 sur ce thème, nous laissait supposer qu'il n'y avait pas de différence significative sur la nodulation et le rendement entre 10 et 50 l/ha, la dose de 5 l/ha étant à la limite de la significativité.

L'expérimentation de cette année tend à confirmer ces résultats (graphique 1).

On ne note effectivement aucune différence significative entre les doses de 5 et 50 l/ha sur les paramètres de nodulation et de rendements; ces traitements sont toujours significativement différents du témoin.

*

* *

On peut donc conclure que l'apport de 5 l par hectare d'inoculum liquide (concentration 10^9 Rhizobium/ml) suffit amplement pour induire une nodulation correcte sur soja. Cependant, compte tenu des réponses encore aléatoires à cette dose, il serait plus prudent de préconiser pour l'instant une inoculation à une dose voisine de 5 à 10 l/ha. Des précisions supplémentaires seront données quand on maîtrisera mieux la technique d'inoculation (support de l'inoculum liquide, modalités d'application au champ).

12- Conditionnement de l'inoculum

L'inoculum liquide produit au laboratoire est conditionné de façon à pouvoir être incorporé au sol au moment du semis.

Plusieurs types de supports ont été testés au champ (tourbe, atapulgite). Malheureusement l'hétérogénéité marquée du terrain expérimental choisi en 1980, aggravée par les irrégularités climatiques de l'année, ont perturbé l'expérimentation, particulièrement les rendements en grains.

On peut cependant retenir les informations suivantes concernant l'effet des traitements sur la nodulation du soja (tableau n°1) :

- L'inoculum TOURBE (proportions: 1 litre d'inoculum liquide sur 1kg de tourbe sèche), apporté à 20 kg/ha, induit une nodulation très satisfaisante sur la soja;

- L'inoculum granulé (micro et macro), confectionné à partir de tourbe inoculée d'atapulгите et d'inoculum liquide, donne des résultats très encourageants, mais moindres que la tourbe seule. Cet inoculum présente cependant un avantage certain sur la tourbe: il peut être épandu mécaniquement au moment du semis.

- L'atapulгите granulé, imbibé d'inoculum liquide donne des résultats moins intéressants, mais cependant supérieurs à l'inoculum liquide qui nous sert de traitement de référence.

Tableau 1: Effet de différents inoculum sur la nodulation et le rendement du soja (prélèvement au 55^e jour du cycle de la plante)

	Témoін non inoculé	Tourbe inoculée (1) 20kg/ha	Micro granulé (2) 26kg/ha	Macro granulé (3) 22kg/ha	Atapul- gite (4) 20kg/ha	Inocul. liquide 10 l/ha	C.V. %
Nombre de nodosités par plante	16 a	49 d	31 c	36 bc	72 ab	22 ab	28
Poids sec nodosités par plante	129 e	248 d	185 ab	213 cd	165 ab	157 ab	23
Rendements grains kg/ha	55	1011	1019	954	865	860	27

(1) Inoculum liquide	50	(3) Inoculum liquide	21
Tourbe stérilisée	50	Tourbe inoculée	43
		Atapulгите (φ=0,3mm)	36
(2) Inoculum liquide	14	(4) Inoculum liquide	50
Tourbe inoculée	43	Atapulгите (φ=0,5mm)	50
Atapulгите (φ=0,3mm)	36		

Remarque: Il est à noter que chaque traitement correspond à une dose de 10 litres d'inoculum liquide/ha, conditionnés selon des différents procédés énumérés.

La meilleure technique d'inoculation serait donc pour l'instant l'apport de 20 kg/ha de tourbe inoculée. Malheureusement l'épandage mécanique de cet inoculum est impossible avec les moyens technologiques simples. La granulation par enrobage de ce produit sur des paillottes d'atapulgites semble donner des résultats intéressants qui nécessitent cependant d'être confirmés.

13- Etude de la survie du rhizobium japonicum dans le sol

Vers la fin du cycle végétatif du soja, les nodosités formées sur les systèmes racinaires dégènerent et libèrent le rhizobium dans le sol. A ce stade, les bactéries vivent à l'état libre et vont subir les conditions particulièrement difficiles de survie qu'impose leur environnement.

Vu sous l'aspect agronomique, il importe de maintenir dans le sol une population de rhizobium suffisante pour permettre d'induire une nodulation correcte sur les systèmes racinaires des cultures de soja suivantes.

Sur une culture de soja conduite sur une sole cultivée en soja inoculé la campagne précédente (1970), nous avons procédé à des prélèvements de contrôle qui nous ont révélé l'absence totale de nodosités et ce, quelle que soit la souche de rhizobium utilisée (G3, 46 ZAMBIA, CB 1009, SH 31).

Ces résultats sont à confirmer encore sur d'autres types de sol; mais d'ores et déjà on peut estimer qu'il sera nécessaire de rechercher des souches de rhizobium d'efficacité égale à la souche G3, (couramment utilisée dans nos expérimentations) mais qui subsisteraient dans le sol, d'une culture de soja à l'autre.

14- Approche méthodologique des expérimentations soja

L'hétérogénéité des résultats de nodulation (nombre, poids frais, poids sec de nodosités par plante) obtenus sur des prélèvements de plantes en cours de cycle, nous ont amené à reconsidérer la méthodologie de prélèvement (procédé d'échantillonnage), et d'étudier avec plus de précision la distribution de ces variables.

Par ailleurs, il s'est avéré nécessaire, en raison de l'absence de données précises dans le cas des expérimentations de soja au Sénégal, ainsi que de l'augmentation très sensible des prix de revient des essais en plein champ, de définir les surfaces minimum et les formes parcellaires représentatives.

Trois thèmes principaux ont été retenus pour cette campagne :

- détermination des surfaces et formes parcellaires représentatives;
- étude de la distribution de la variable nombre et poids sec des nodosités;

- détermination sur dispositif, des combinaisons optima nombre de blocs x nombre de prélèvements internes.

Les résultats ont été envoyés au service de Méthodologie de l'IRAT-Montpellier qui, dans ce projet coordonné IRAT-ISRA, se charge de l'interprétation statistique de ces données.

2 - LA SYMBIOSE RHIZOBIUM-ARACHIDE, ET INCIDENCE DE QUELQUES TECHNIQUES CULTURALES

La symbiose Rhizobium-Arachide est induite spontanément dans les sols du Sénégal. L'arachide qui est une plante peu spécifique vis-à-vis du Rhizobium infectant, nodule abondamment (plus d'une centaine de nodosités par système racinaire) en absence de facteurs limitants déterminants.

Dependant ^{des} ses potentialités fixatrices sont très fortement sujettes à/variations importantes, sous l'action de certains facteurs limitants tels que l'humidité du sol, le pH, les nématodes, etc...

Une expérience pluriannuelle a été mise en place (1972) en vue d'étudier l'influence de certaines pratiques culturales (labour, chaulage avec et sans labour, enfouissement de fumier avec et sans chaulage) sur le comportement symbiotique et le rendement de l'arachide. Ces différents traitements sont appliqués tous les deux ans (pour respecter la rotation arachide-mil) sur la culture d'arachide.

21- Relations techniques culturales-symbiose (graphique n°3)

Si les premières années d'application de différents thèmes culturaux (1972-1976), on ne remarque qu'un effet bénéfique sur l'efficacité des nodosités mais nul sur l'importance de la nodulation des systèmes racinaires, on s'aperçoit que l'effet cumulatif des techniques culturales se révèle spectaculaire. Ainsi, l'absence d'amendement organique ou calcique entraîne progressivement une réduction très sensible du système nodulaire, alors que l'apport d'amendement permet de maintenir une nodulation très satisfaisante.

22- Relations techniques culturales x rendement de l'arachide (Tab.n°2)

Malgré le niveau très faible des rendements de l'arachide en 1980, dû à la pluviométrie déficitaire (250mm), on constate comme sur les paramètres symbiotiques, un effet très marqué de l'amendement avec cependant une supériorité nette de l'enfouissement de fumier sur les fanes d'arachide.

Tableau -: Résultats de rendements selon les différents traitements culturaux.

	TU00in	Labour	Labour+ fumier	Chaux	Labour+ chaux	Lab.+Fum +chaux	C.V. %
Rendements en gousses kg/ha	353 a	413 a	669 b	652 b	725 b	816 b	31
Rendements en fanes kg/ha	429 a	677 a	1162 c	802 b	833 b	1357 c	12

Dans ces sols très dégradés, la fumure minérale préconisée ne suffit pas pour maintenir la fertilité du sol ; cette expérimentation prouve au contraire, que l'application unique de ce thème cultural conduit progressivement à une régression très sensible de la fertilité du sol ainsi que probablement de son activité biologique. L'extériorisation de ce phénomène se traduit en premier lieu par le jaunissement de l'arachide (tache jaune) et à un stade plus avancé par un nanisme jaune. Cette chlorose azotée qui est causée par une réduction notable de la fixation de N₂ de l'arachide, se manifestait initialement par des taches jaunes sans distinction de traitement sur l'ensemble de l'aire expérimentale; actuellement, ce phénomène de jaunissement a totalement disparu sur les parcelles amendées, alors qu'il s'est propagé largement sur les autres parcelles.

La chlorose azotée semblerait s'expliquer essentiellement par le dépassement d'un seuil critique de fertilité en deçà duquel se manifestent 13s différents facteurs limitants (nématodes, antagonistes microbiens, toxicité manganique et aluminique), la nature du facteur prédominant semblerait Fonction des conditions pluviométriques de l'année.

L'enfouissement de fumier et dans une moindre mesure le chaulage se présentent comme étant les moyens les plus efficaces, pour remédier à la dégradation rapide de la fertilité des sols.

3 - DIAGNOSTIC DE LA SYMBIOSE DU HARICOT VERT - TEST D'INOCULATION

La culture du haricot vert (*Phaseolus vulgaris*) est déjà pratiquée assez couramment dans les zones de maraîchage autour des grandes agglomérations et, est appelée à se développer sur de plus grandes surfaces dans les projets irrigués du fleuve Sénégal.

Mais cette plante ne produit malheureusement qu'avec le renf ort d'intenses fumures minérales azotées.

La première étude se fixait les objectifs suivants :

- 1- diagnostic de la symbiose rhizobium natif X haricot vert.
- 2- effet de l'inoculation de souches sélectionnées pour leur efficacité
- 3- influence d'une fumure azotée sur la nodulation et la fixation de N₂.

Ce programme de recherche, mené en collaboration avec l'Université du Minnesota, a été mis en place en début de la saison sèche 60-61. L'expérimentation est en cours; mais au regard des premiers résultats de nodulation obtenus sur des prélèvements de plante en cours de cycle, on peut déjà préciser (Tableau n° 3) :

1- Le haricot vert ne nodule pas, ou très peu (dans nos conditions expérimentales). L'absence de symbiose se traduit d'ailleurs par le jaunissement généralisé de la plante en fin de cycle, signe de carence azotée.

2- L'inoculation avec le rhizobium spécifique induit sur le système racinaire du haricot une nodulation; les plantes nodulées sont vertes.

3- Parmi les différentes souches de rhizobium testées, OLIVIA et CIAT 57 se révèlent plus infectives (nombre et poids sec des nodosités) que CIAT 676 et BEL 71. Il faut cependant attendre les résultats d'analyses N15 pour vérifier leur qualité d'efficacité. Pour l'instant, on ne note cependant aucune différence notable sur la végétation.

Tableau n°3: Résultats de nodulation (prélèvement au 30e jour du cycle de la plante). Selon les différents traitements.

	OLIVIA			Non inoculé		CIAT 57	CIAT676	BEL 71
	0 N	20 N	100 N	20 I	100 N	20 N	20 N	20 N
Nombre de nodosités/plante	57	60	40	2	2	53	31	33
Poids sec nodosités mg/plante	29	23	11	2	1	23	12	11

4 - MISE AU POINT D'UNE UNITE PILOTE DE PRODUCTION D'INOCULUM SEMI-INDUSTRIELLE

La nécessité impérieuse d'inoculer le soja, pose inévitablement le problème de l'approvisionnement en inoculum. Il existe sur les marchés internationaux divers produits qui sont malheureusement de qualité très variable. NITRAGIN (USA) et LIPHA (France) proposent toutefois des produits très satisfaisants.

Cependant en raison des difficultés d'approvisionnement et du caractère ^{élevé} périssable de l'inoculum, ainsi que des prix de revient "rendus sur place" /, il serait préférable de produire l'inoculum au Sénégal.

Dans cette optique, le laboratoire de rhizobiologie du CNRA propose d'étudier la conception d'une unité de production d'inoculum soja à partir de matériaux simples et robustes, donnant néanmoins un inoculum de qualité.

41- Situation actuelle

L'atelier actuel de production se compose de quatre modules de fermentation autonomes, de capacité de 20 litres, et qui peuvent produire mensuellement 60 litres d'inoculum liquide chacun.

Les prototypes sont techniquement au point, et leur modalité d'utilisation définie.

Nous envisageons dès lors, de procéder à l'étude de module de fermentation, de capacité de 50 à 60 litres. Ce volume représente en fait à notre échelle, la limite maximum volumétrique possible pour une production en atelier semi-industriel. Au-delà, la manutention des modules nécessiterait une technologie plus complexe (transport des cuves, autoclavage).

Par contre, il est possible d'augmenter la production d'inoculum en multipliant le nombre de modules de fermentation jusqu'à concurrence de la demande d'inoculum.

42- Caractéristiques techniques d'un module de fermentation (cf. schéma ci-joint)

- Cuve de fermentation : 50 litres en inox.
- Milieu nutritif : Y.E.H.
- Aération du milieu: débitmètre air expédiant 2 litres/mn d'air stérile (filtre Whatmann) dans le fermenteur à travers un embout de verre fritté.
- Agitation du milieu par barreaux magnétique mû par un agitateur magnétique géant.
- Régulation thermique ($37^{\circ} \pm 1^{\circ}$): commandée par une sonde de régulation thermique en contact indirect avec le milieu nutritif, et reliée à l'agitateur magnétique chauffant. Le refroidissement du milieu nutritif s'effectue par échange calorique avec le milieu ambiant (pièce climatisée).
- Inoculation par une entrée indépendante qui sert également de sonde de prélèvement (pour contrôle de qualité en cours de fabrication).
- Prix de revient approximatif (H.T.) du module de fermentation :
250 000 CFA.