

1982/92

MN. HSM/MS  
REPUBLIQUE DU SENEGAL  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

SECRETARIAT D'ETAT  
A LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
ET TECHNIQUE

CN 0100 853  
P342  
NDI

ALIMENTATION AZOTEE DU SOJA :  
ETUDE, SUR MILIEU CONTROLE DE L'INFLUENCE DE L'AZOTE  
ET DU FACTEUR WARIETAL SUR LA FIXATION DE L'AZOTE

M. NDIAYE  
Ingénieur de Recherches à l'ISRA/CNRA BAMBEY  
H. SAINT-MACARY  
Ingénieur de Recherches à l'IRAT/GERDAT/Montpellier

Mars 1982

Centre National de Recherches Agronomiques  
de BAMBEY

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES AGRICOLES  
(I. S. R. A.)

## I N T R O D U C T I O N

Dans la zone de culture potentielle du soja au Sénégal (carte du Sénégal) les premières pluies qui mettent fin à une longue période sèche (7 à 8 mois), déclenchent une phase de minéralisation de la matière organique du sol. Celle-ci se traduit par l'apparition, une dizaine de jours après la première pluie, de quantités de nitrates pouvant représenter entre 24 et 100 kg N/ha (BLONDEL, 1971).

Il est donc intéressant que les cultures puissent profiter de ces nitrates, car ces derniers sont lessivés par les pluies violentes, au fur et à mesure de leur apparition (BLONDEL, 1971).

Or cette période correspond à celle de l'installation des cultures, notamment à la mise en place du système fixateur sur les racines des légumineuses et on sait que la présence d'azote minéral dans le milieu peut influencer la nodulation et la fixation. Compte tenu des quantités de nitrates qui peuvent être présentes dans le sol et auxquelles s'ajoute éventuellement l'azote-engrais, on peut craindre qu'il y ait un antagonisme entre les deux systèmes d'assimilation d'azote du soja.

Cependant, une première expérimentation au champ (GANRY et WEY, 1980), a laissé apparaître des comportements différents, du point de vue de la fixation, de cultivars sénégalais, vis-à-vis d'un apport de 100 kg N/ha. Ce premier résultat laisse espérer qu'il existe des variétés "tolérantes" utilisant de manière efficace les nitrates présents dans le sol en début de cycle ; ce qui permet d'espérer une bonne vigueur végétative en début de cycle et un système fixateur moins perturbé.

Nous avons voulu, dans cette étude, préciser l'influence de l'azote minéral sur la nodulation et la fixation d'une part et l'aspect quantitatif du phénomène de concurrence ou de complémentarité du deux systèmes d'assimilation d'azote du soja, d'autre part.

Ces deux aspects sont, traités dans des conditions expérimentales

## I - MATERIEL ET METHODE

### 11 - Les conditions de culture

Nous avons adopté un dispositif de culture in vitro consistant en une culture sur brouillard nutritif et un dispositif de culture en vases de végétation en serre.

. La technique de culture sur brouillard nutritif est inspirer des travaux de ZOBEL. et coll (1976) et SAINT-MACARY et coll (1981).

Les graines des variétés Jupiter et ISRA 44 A 73 sont désinfectées 30 minutes à l'hypochlorite de calcium (6,7 %) et rincées à l'eau stérile. Elles sont mises à germer à 28°C dans de la vermiculite stérile. Après 72 heures, les plantules atteignant 2 à 5 cm, sont enroulées au niveau du collet, de mousse et insérées sur des plaques jointives en P.V.C. de 2 cm d'épaisseur et 10 cm de large servant de couvercle à une enceinte en plastique qui contient une solution nutritive pulvérisée par des humidificateurs,,

Quatre doses d'azote : 0, 25, 50 et 100 ppm N sont étudiées. Chaque enceinte correspond donc à une dose d'azote. L'azote est apporté sous forme  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . Le milieu liquide est inoculé, 2 jours après la mise en place des plantules, avec une suspension bactérienne de la souche C<sub>3</sub> St2 (USAID 138) contenant  $10^{10}$  bactéries/ml). Les plantules sont placées sous un éclairage de 40.000 à 50.000 lux 12 heures sur 24 à 25°C le jour et 15°C la nuit,

L'hygrométrie ambiante au sein des plantules a oscillé entre 30 et 50 %. Dans ces conditions de culture, le comptage et la mesure de l'activité réductrice de  $\text{C}_2\text{H}_2$ , sont effectués en cours de cycle végétatif et les plantes récoltées 50 jours après l'inoculation.

. La culture de soja en serre est réalisée selon un dispositif en blocs de Fisher avec 6 répétitions,

Les traitements sont les suivants :

		Doses d'azote en ppm N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>			
	ISHA 26/72	25	0	75	100
Variétés					
	ISRA 44 A/73	25	50	75	100

Les graines désinfectées à l'hypochlorite de calcium (6,7 %), sont semées dans des pots en plastique désinfectés à raison de 10 graines (par pot) et remplis de sable stérilisé (5,5 kg) et de gravier au fond (1 kg).

Un démariage à 3 plantes par pot est opéré à la levée des plantules, suivi de l'inoculation et de la fertilisation azotée.

L'inoculation est faite à raison de  $10^9$  bactéries (Rhizobium USD 138) par pot (soit  $3,3 \times 10^8$  bactéries par plante).

La fertilisation azotée est faite à raison de 137,5, 275, 412,5 et 550 mg N sous forme de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  d'excès isotopique de 2,10 % de  $\text{N}^{15}$ .

Les plantes sont cultivées en serre où la température et l'humidité sont contrôlées. La nutrition minérale et hydrique est assurée par des apports, à la demande, de solution nutritive sans azote (SAINT-MACARY et coll., 1981).

## 12 - Les variétés de soja utilisées

Elles proviennent du CNRA de Bamboey où les variétés ISRA 44/A/73 et ISRA 26/72 ont été sélectionnées. Seules les variétés Jupiter et ISRA 44/A/73 ont été cultivées dans l'expérience sur brouillard nutritif.

## 13 - Observations et mesures

Dans l'expérience sur brouillard nutritif, nous avons effectué en cours de croissance des plantules, des comptages des nodosités et mesuré l'activité de la nitrogénase (méthode de HARDY et coll.; 1968) grâce à un dispositif adapté aux plantes cultivées en aéroponie et mis au point par SAINT-MACARY et coll. (1981). Pour les deux expériences conduites, nous avons dosé l'azote total selon la méthode KJELDHAL, compté le nombre des nodosités et pesé le poids sec de ces derniers à la fin de l'expérimentation.

Dans le cas du soja cultivé en serre, nous avons quantifié la fixation d'azote. En effet, pour étudier l'importance relative des deux processus d'utilisation d'azote d'une légumineuse, on mesure la participation de chacune des sources d'azote (azote minéral et azote de l'air) à la nutrition azotée de la plante. Pour cela, nous avons utilisé une méthode qui consiste à enrichir la source d'N minéral en isotope lourd  $^{15}\text{N}$ . La fixation est estimée par la formule suivante :

$$\text{QNF} = \text{QNX} \left[ 1 - \frac{\text{Ex}}{\text{Ec}} \right] = \text{QNg} \text{ où :}$$

QNF = quantité d'azote provenant de la fixation ;

QNX = azote total de la plante (indice x = parties aériennes, racines, nodosités, plante entière) ;

QNg = quantité d'azote contenu dans les graines ;

Ex = excès  $^{15}\text{N}$  dans la plante ;

Ec = excès  $^{15}\text{N}$  dans la solution de nitrates (on tenant compte de QNg).

Les contributions respectives de la fixation symbiotique et de l'absorption des nitrates à l'alimentation azotée du soja sont calculées pour chaque traitement. A ce propos, nous distinguons les parties aériennes, les racines et les nodosités (l'azote fixé sera surestimé du fait de la part de  $^{15}\text{N}$  des graines) et considéré la plante entière.

## II \* RESULTATS \* DISCUSSION

### 21 \* Résultats

#### 211 \* Influence des nitrates sur la symbiose

##### Culture sur brouillard

En absence de nitrates, les premières nodosités apparaissent une semaine après l'inoculation, alors que leur apparition est retardée d'une semaine en présence de 25 ppm N (graphique n°1). Cependant, comparé au traitement "inoculation seule", le traitement "inoculation + 25 ppm N" donna un nombre et un poids sec de nodosités plus élevés vers la fin du cycle (graphique n°2).

Par contre, aux doses de 50 et 100 ppm N-NO<sub>3</sub>, la nodulation est presque complètement inhibée. Les plantes en alimentation mixte (25 ppm N + N<sub>2</sub> de l'air) manifestent une activité fixatrice d'azote plus intense que celles ayant l'azote de l'air comme seule source d'azote (graphique n°3).

##### Culture en serre

L'analyse de variance des données fait ressortir un effet positif significatif de l'azote sur le poids sec de nodosités alors qu'il est non significatif sur leur nombre.

La réponse de la variable "\*\*poids sec nodosités" aux doses croissantes de NO<sub>3</sub> est de type quadratique (parabole); le maximum de masse nodulaire est atteint avec une dose théorique de 73 ppm N, au-delà de laquelle l'effet inhibiteur de l'azote se manifeste (graphique n°4).

Les résultats obtenus sur la quantification de la fixation de N<sub>2</sub> sont illustrés par les graphiques n°s 5, 6, 7, 8. Ils montrent que la contribution des nitrates à la mobilisation en azote des parties aériennes, des nodosités et de la plante entière augmente avec la dose de nitrates alors que celle de la fixation diminue et ceci quelle que soit la variété considérée (graphique n°s 5, 7 et 8). En outre, on peut remarquer que la contribution des nitrates est beaucoup plus forte dans les racines que dans les parties aériennes et les nodosités (graphique n°6).

#### 212 \* Influence du facteur variétal sur la symbiose

##### Culture sur brouillard

En absence de nitrates, c'est la variété ISRA 44/A/73 qui forme le plus de nodosités jusqu'au 48<sup>e</sup> jour, mais au-delà de cette période Jupiter révèle un nombre de nodosités plus élevé. Les comportements des deux variétés sont similaires en présence de 25 ppm N, mais la supériorité de Jupiter apparaît une semaine plus tôt (graphique n°1).

Dans nos conditions expérimentales, le potentiel fixateur de Jupiter est supérieur à celui de ISRA 44/A/73 lorsqu'elles sont inoculées sans apport d'azote minéral ou en présence de 25 ppm N (graphique n°3). On note des augmentations de l'activité spécifique (nanomoles C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>) de g M.S nodosité + 29 % et de t 10 % par rapport au traitement "inoculation seule", respectivement pour Jupiter et ISRA 44/A/73.

## Culture en serre

L'absence d'interaction dose do nitrates X variété indique que les doux variétés, en l'occurrence ISAA 44/A/73 et ISRA 26/72, ont des comportements identiques du point de vue statistique. Cependant, on peut noter la tendance suivante : ISRA 26/72 forme un maximum do nodosités avec 50 ppm N alors que ISRA 44/A/73 forme plus de nodosités avec 75 ppm N.

### 22 . Discussion dos résultats

En conditions de culture sur brouillard, les quantités de nitrates sont apportées en une seule fois, à la mise en place des plantules. Comme la concentration dos nitrates diminue au fur et à mesure de leur absorption par la plante, dès lors, on peut penser que plus la dose d'azote est élevée, plus l'épuisement dans le milieu est lent et par conséquent plus la nodulation est retardée,

Le nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) induirait une inhibition de la production d'auxines, au niveau des sites d'infection ; le nitrate en catalysant la destruction de l'acide indol-acétique (AIA), entraînerait l'inhibition de la courbure dos poils absorbants (DART, 1975), étape préalable à la pénétration du Rhizobium. Par contre, pour le soja cultivé en serre, le nitrate induit un effet significatif sur le poids sec do nodosités uniquement ; ce qui semble indiquer que l'effet du nitrate sur la nodulation intervient sur le développement de la nodosité, une fois qu'elle est formée, plus que sur l'infectivité. Ce résultat corrobore ceux déjà trouvés par MUNNS (1768) et HARPER et COOPER (1971) qui ont mis en évidence des effets inhibiteurs de l'azote combiné sur les stades do nodulation /Postérieurs à la pénétration du Rhizobium.

L'analyse dos contributions des deux systèmes d'assimilation d'azote exprimées en pourcentage de N total révèle qu'il peut avoir soit une concurrence soit une complémentarité. En effet, lorsque dos quantités importantes de nitrates sont présentes dans le milieu de culture, il y a un antagonisme entre les deux systèmes d'assimilation au détriment de la fixation, fait déjà observé par d'autres auteurs (WEBER, 1966 ; HARPER et COOPER, 1971 ; DECAU et coll., 1975). Par contre en présence de faibles quantités de nitrates on observe un effet favorable sur la fixation qui pourrait s'expliquer par une couverture des besoins azotés de la plante au début do cycle, ce qui permet la fabrication d'une masse végétale, donc d'une photosynthèse plus élevée que celle de la Plante poussant dans un milieu dépourvu d'azote. On sait en effet que c'est la photosynthèse qui fournit le pouvoir réducteur et l'énergie nécessaires au mécanisme de fixation : elle est donc étroitement liée à la fixation d'azote de la légumineuse.

En outre, la concentration plus élevée dans les racines que l'on observe pourrait s'expliquer par le fait que les racines sont beaucoup dépendantes dos nitrates (et do l'azote des cotylédons) que les parties aériennes et les nodosités et par conséquent utiliseraient sélectivement cette source d'azote pour leur propre croissance avant que les nitrates et les produits de leur réduction ne soient acheminés vers les parties supérieures de la plante (OGHOGHORIE et PATE, 1971).

En ce qui concerne le facteur variétal, Jupiter semble présenter un nombre de sites d'infection spécifiques à la souche  $G_3$  (USDA 138) plus élevé que celui de ISRA 44/A/73. Ceci se traduit par une nodulation et une fixation supérieures. Cette supériorité est d'ailleurs d'autant plus marquée en présence de faibles doses d'azote, en l'occurrence de 25 ppm N.

pour les plantes cultivées sur brouillard. En outre la variété ISRA 44/A/73 manifeste une affinité plus grande vis-à-vis de fortes doses de nitrates, que la variété ISRA 26/72 ; en effet, la quantité d'azote fixé dans la plante entière atteint sa valeur maximale avec la dose de 50 ppm N pour ISRA 26/72 alors qu'elle n'atteint son plus grand niveau qu'à 75 ppm N pour ISRA 44/A/73 (graphique n°9). L'examen du graphique n°6 montre bien cette tendance de différences entre variétés soumises à une alimentation azotée mixte ; elle serait le fait d'une différence de comportements racinaires.

## C O N C L U S I O N

Pour assurer ses besoins azotés, le soja possède deux systèmes d'assimilation d'azote : le prélèvement de l'azote minéral du sol ou/et de l'engrais et la fixation d'azote en présence de son endophyte le Rhizobium japonicum

En présence de quantités importantes d'azote, on constate qu'il y a antagonisme entre ces deux systèmes, au détriment de la fixation. Par contre on peut stimuler la nodulation et la fixation avec un apport de faibles quantités d'azote. Ce qui montre bien qu'il existe une certaine plasticité de la plante où absorption d'azote minéral et fixation peuvent être concurrentes ou complémentaires. Il revient donc à l'agronome de réunir les conditions les plus favorables tant à la production qu'à l'arrière effet de cette culture.

A ce propos, toute action favorisant la fixation : source gratuite, permet de réaliser une économie d'azote et un maintien de la fertilité des sols.

En regard du rôle prépondérant joué par la fixation dans la nutrition azotée de la plante ; l'inoculation de souches de Rhizobium très efficaces et le screening de variétés utilisant le minimum d'azote minéral pour un niveau de fixation le plus élevé, sont vivement salués. Comme technique d'inoculation, la recherche agronomique préconise l'épandage dans le sillon de semis, de granulés bactérisés mis au point par le laboratoire de Rhizobiologie du CNRA de Bamboey. A cette pratique, devront s'associer des techniques de recyclage de la matière organique du sol ; il serait en effet irréaliste de raisonner sur la rentabilité de la culture du soja sur des bases qui tiendraient compte d'une fumure azotée ; même un apport d'azote starter ne serait pas nécessaire dans l'aire potentielle de culture où l'on observe un pic de minéralisation de la matière organique du sol en début de cycle.

BLONDEL, D. = 1971

Contribution à la connaissance de la dynamique de l'azote minéral en sol sablonneux (DIOR) au Sénégal.

Agronomie Tropicale Vol XXVI, N°12, 1303-1333

PART, P.J. = 1975

Host = symbiotic relationships in nodule development and nitrogen fixation,

in biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics Edited by AYANANBA, A and PART P.J. John W.iley and sons (Chichester).

DECAU, S. ; BOUNIOLS, A. ; LENCEROT, P. et PUECH S. = 1975

Concurrence ou complémentarité de l'alimentation azotée non symbiotique et de la fixation bactérienne chez le soja (Glycine max. L. MERRILL), C.R. Acad. Sc. Paris ; t. 281, Série D, P. 535-538.

GANRY, F. et WEY J. = 1980

Action de l'inoculation et de la fumure azotée sur le rendement et la fixation symbiotique du soja, Doc. Ronéo. ISRA/CNRA/Bamboey.

HARDY, R.W.F. ; HOLSTEN, R.D., JACKSON, E.K. ; BURNS, R.C. = 1968

The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation : laboratory and field evaluation Plant physiology, 43, 1185-1207.

HARPER, J.E. and COOPER, R.L. = 1971

Nodulation response of soybean (Glycine max. L. MERRILL) to application rate and placement to combined nitrogen. Crop Science, 11, 438-440.

MUNNS, D.N. = 1968

Nodulation of medicago sativa in solution culture : I acid sensitive steps. Plant and soil, 28, 129-146

OGHOGHORIE, C.G.O. and PATE, J.S. = 1971

The nitrate stress syndrome of the nodulated field pea (Pisum arvense) Techniques for measurement and evaluation physiological terms. Plant and soil. Special volume ; 185-202.

SAINT-MACARY, H. ; BEUMARD, P. et PICHOT, S. = 1981

Nodulation et fixation d'azote de 5 variétés de soja en culture sur brouillard. Agronomie tropicale Vol XXXVI, N°1, 43-53

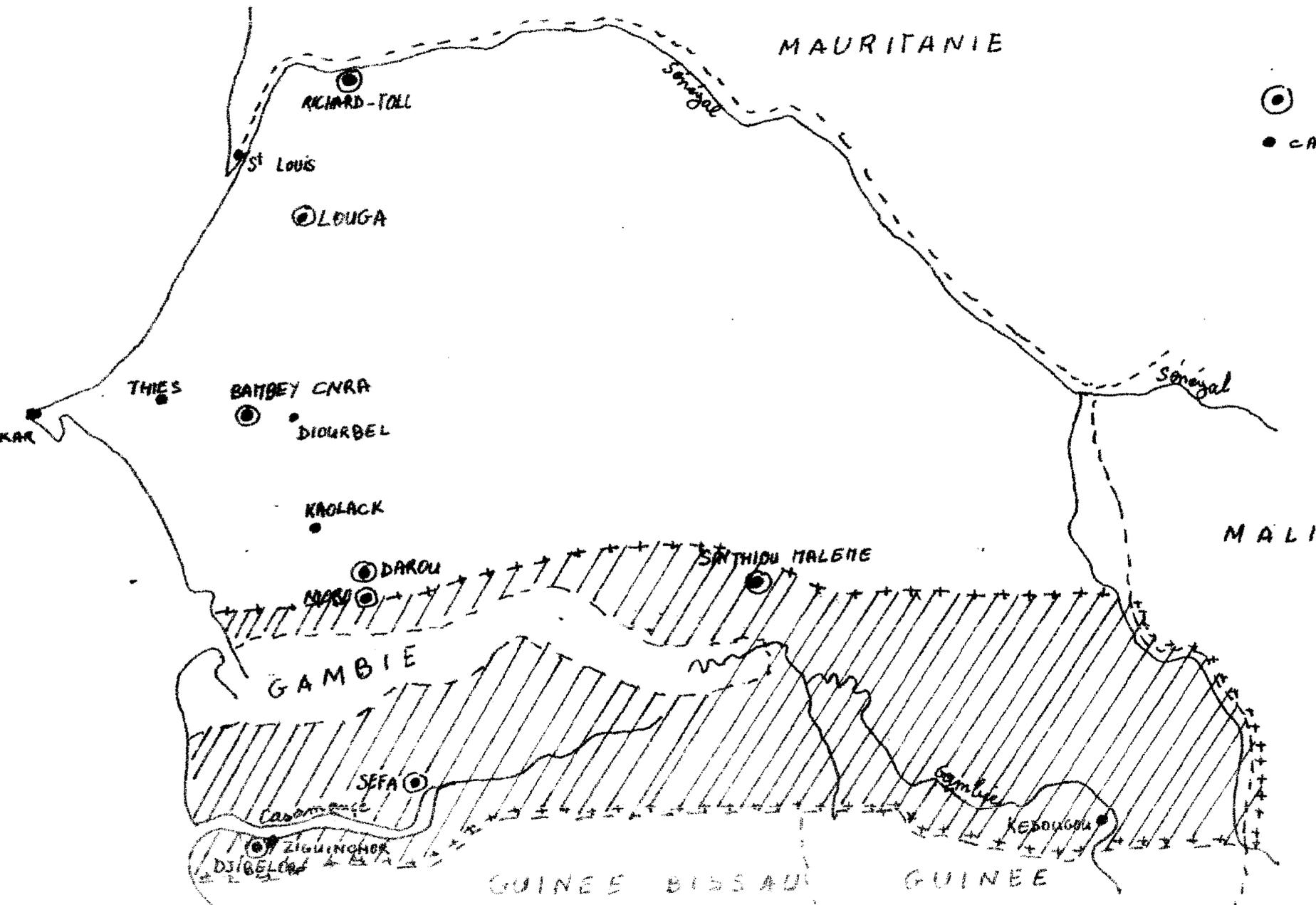
WEBER, C.R. - 1966

Nodulating and non nodulating soybean isolines :  
II responsas to applied nitrogen and modified soils conditions  
Agronomy Journal, Vol. 58, 46-49.

ZOBEL, R.W. ; DEL TREDICI, P. ; TORREY, J.G. - 1976

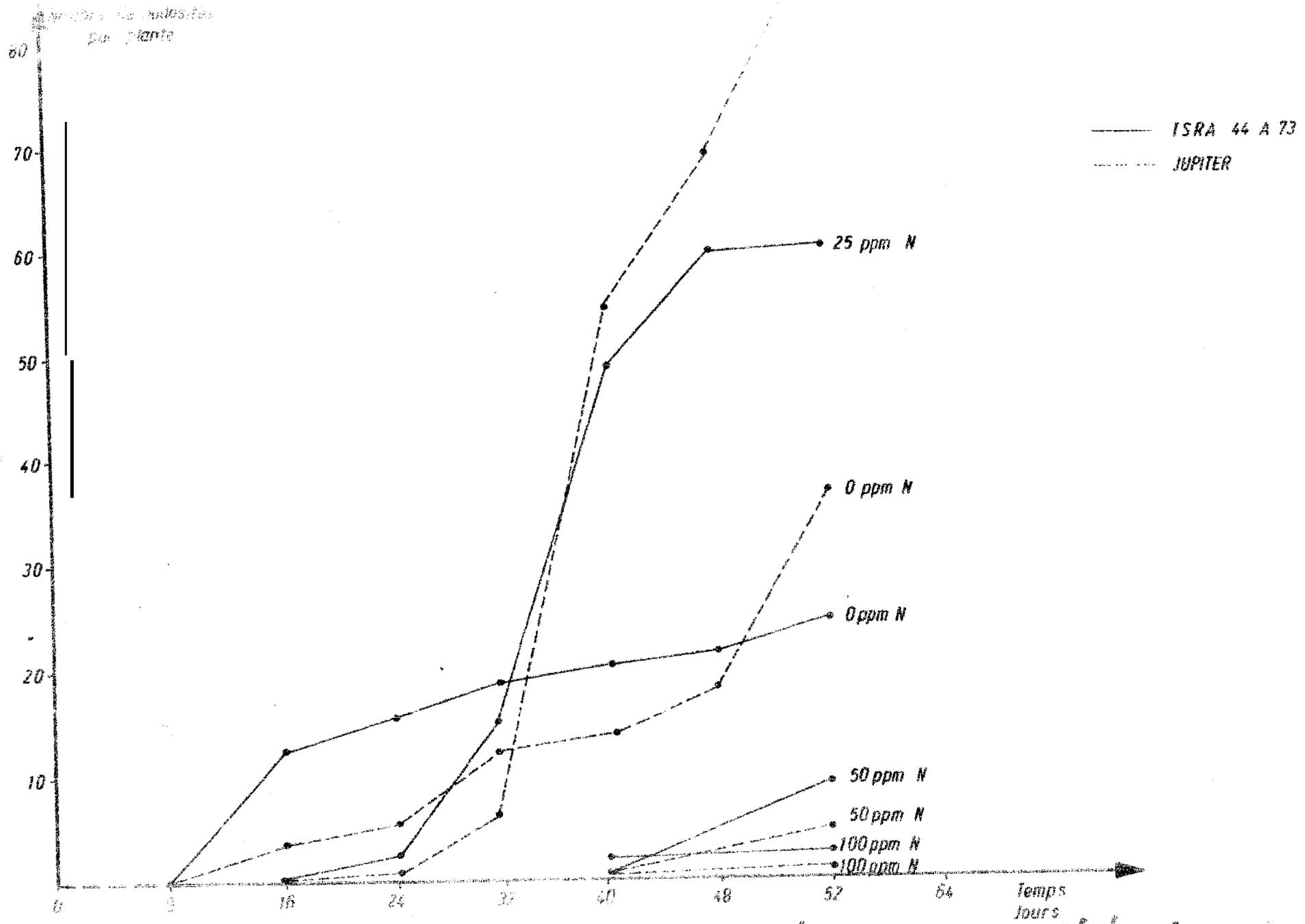
Method for growing plants aeroponically  
Plant physiol. 57, 344-346.

# ZONE DE CULTURE DU SOJA AU SENEGAL



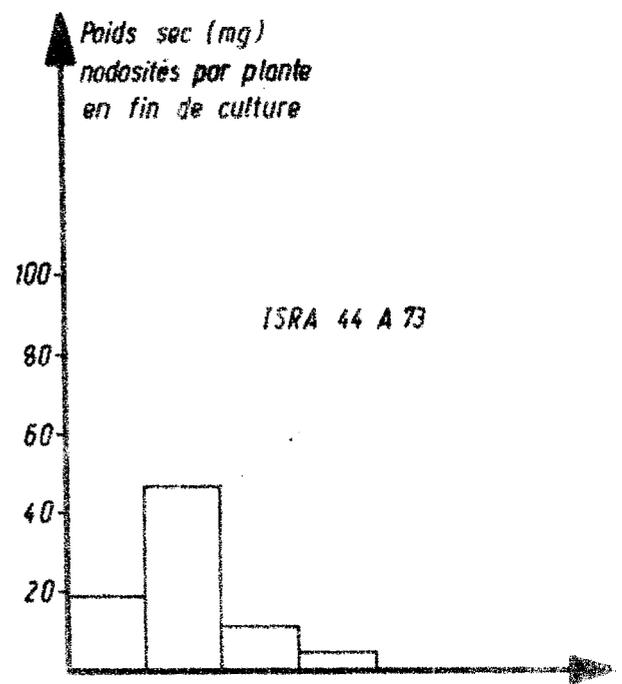
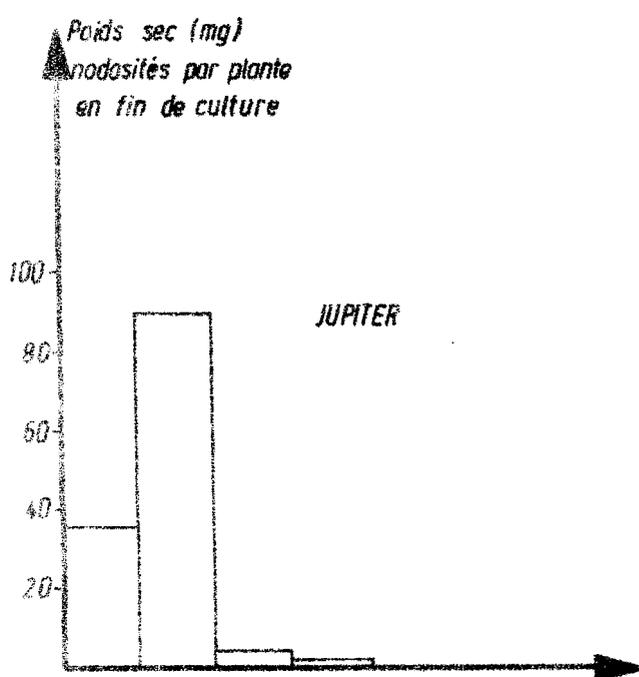
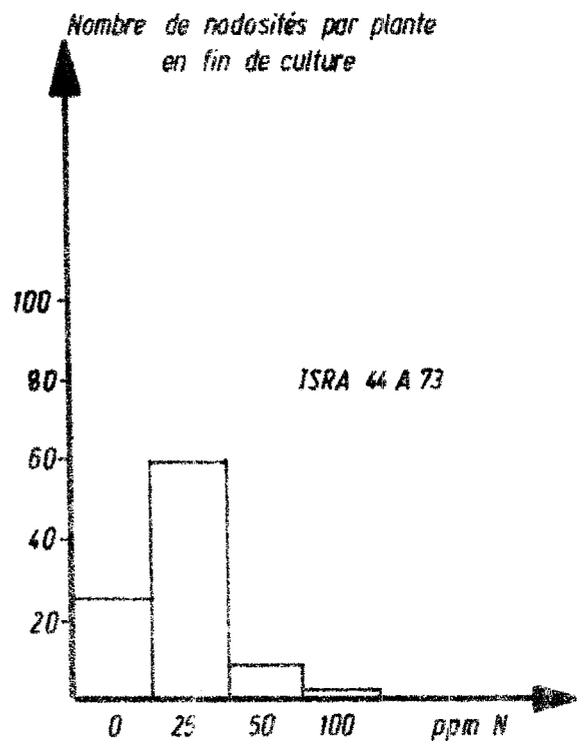
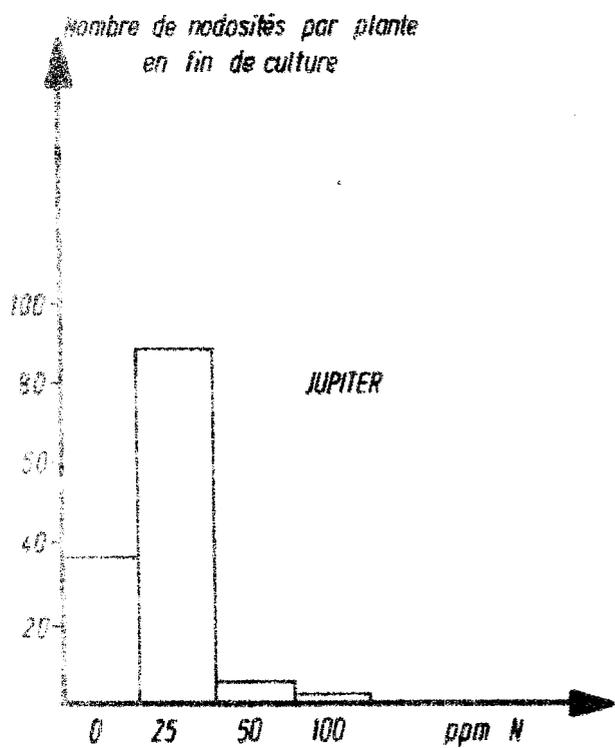
- ⊙ STATION - ISRA
- CAPITALE REGIONALE

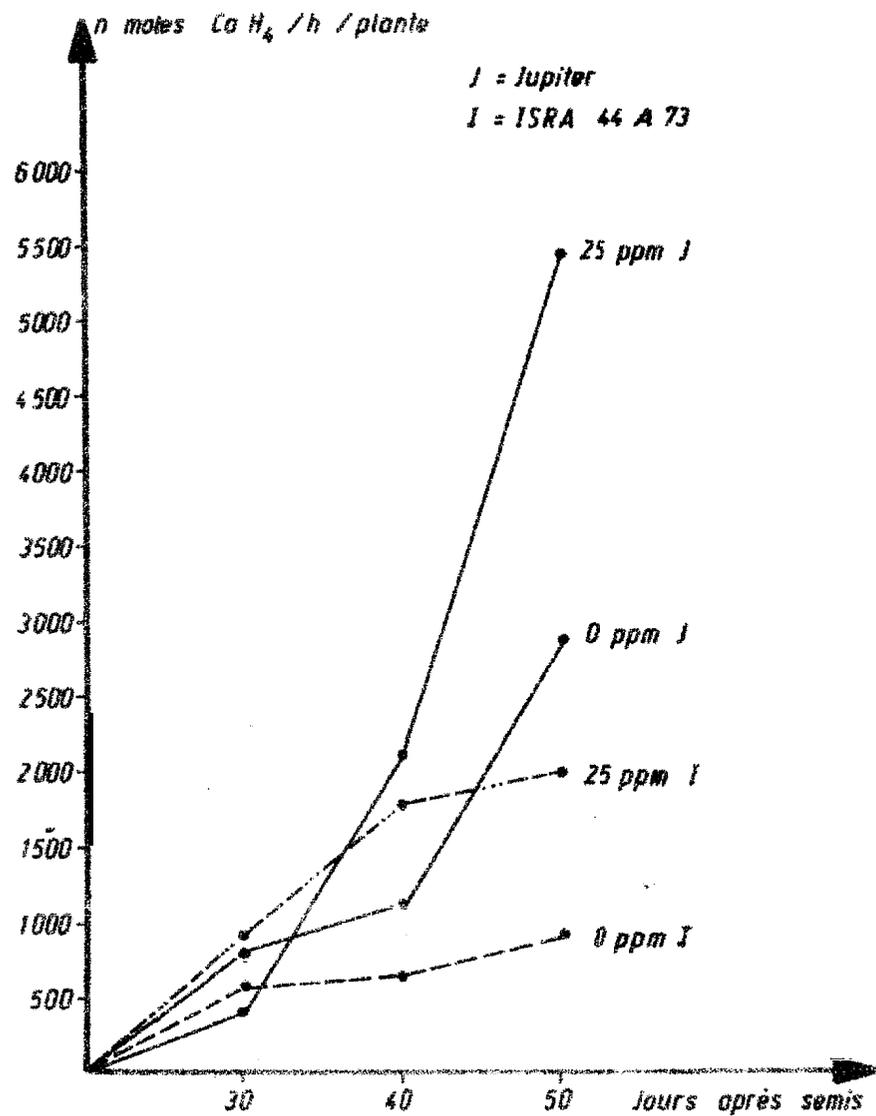
Echelle : 1/3.000.000



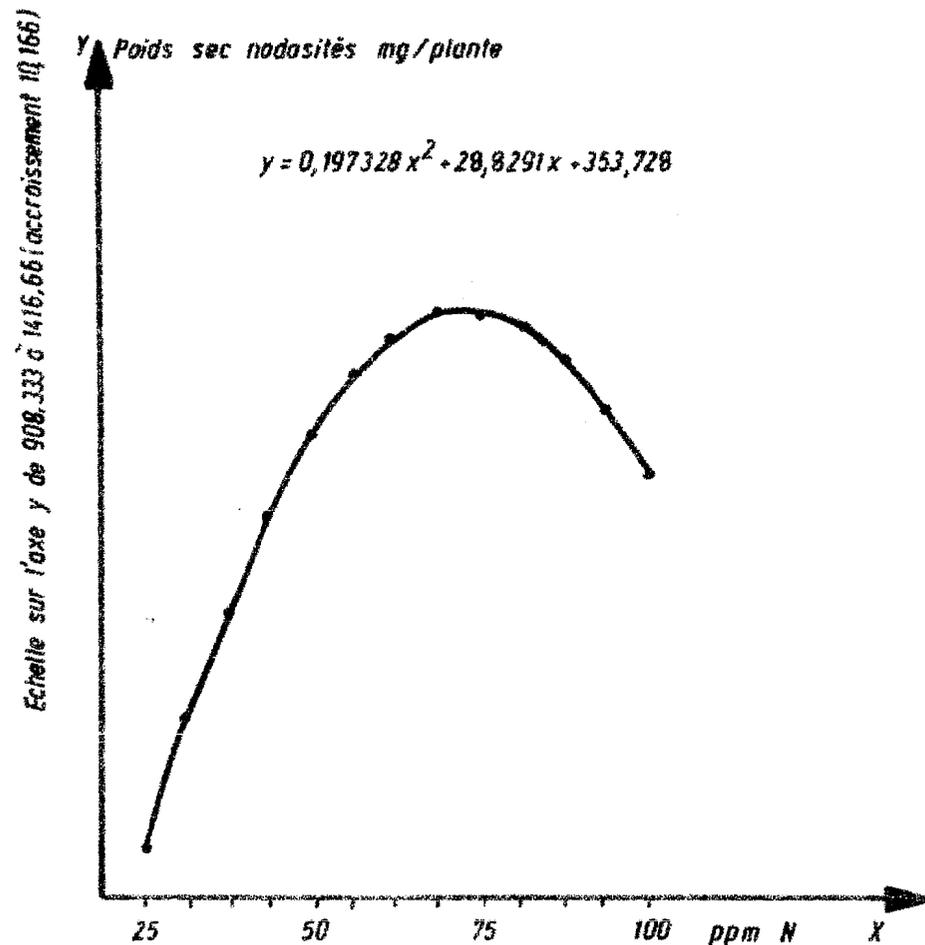
Graphique n° 1: Evolution du nombre de nodosités de deux variétés de soja en fonction du temps et en présence de doses croissantes d'azote.

**Graphique n° 2: Effets de doses croissantes d'azote minéral sur la nodulation de deux variétés de soja**





Graphique n° 3: Effet de l'azote sur l'activité totale de la nitrogenase



Graphique n° 4: Courbe d'ajustement: poids sec des nodosités

Graphiques n° 5, 6, 7: Origines de l'azote mobilisé dans les compartiments de la plante  
pour deux variétés de soja

5: PARTIES AERIENNES

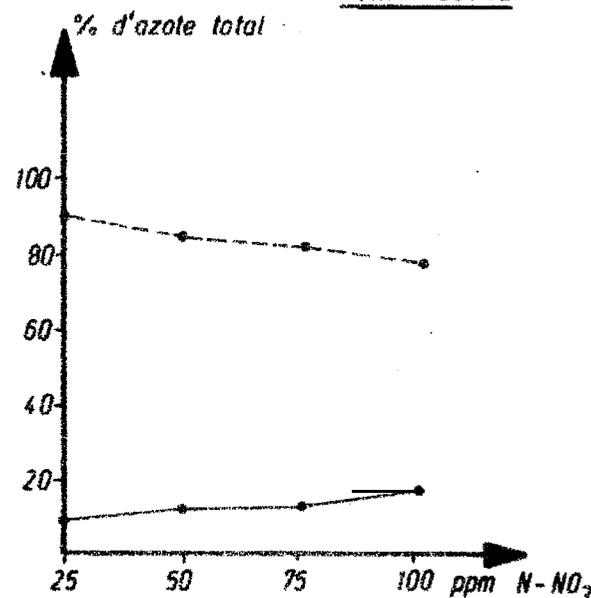
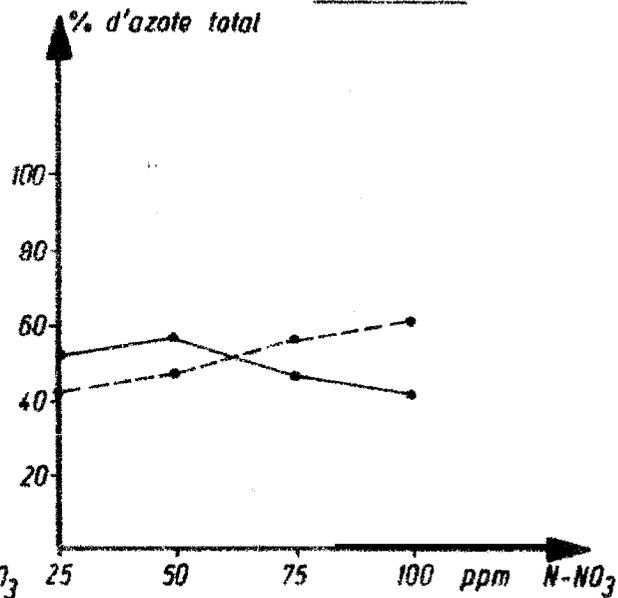
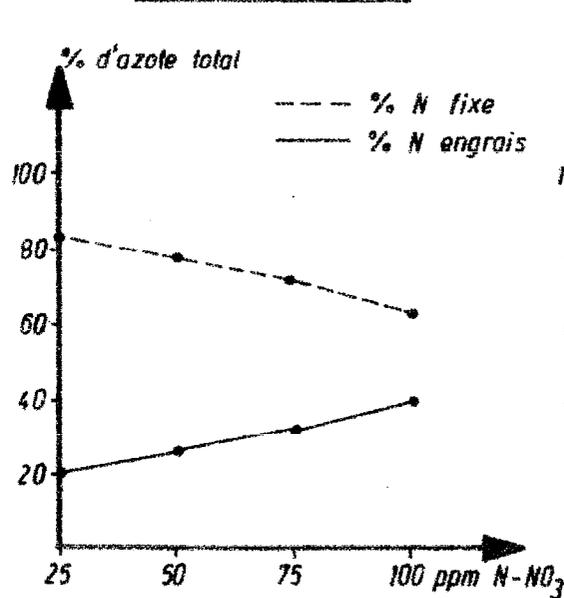
6: RACINES

7: NODOSITES

VARIETE ISRA 26/72

ISRA 26/72

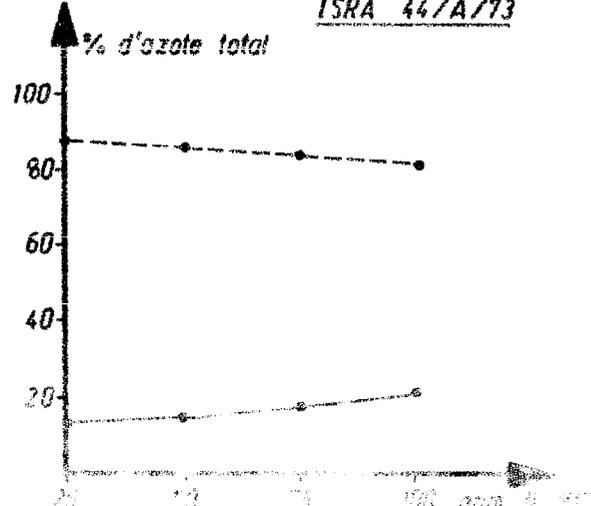
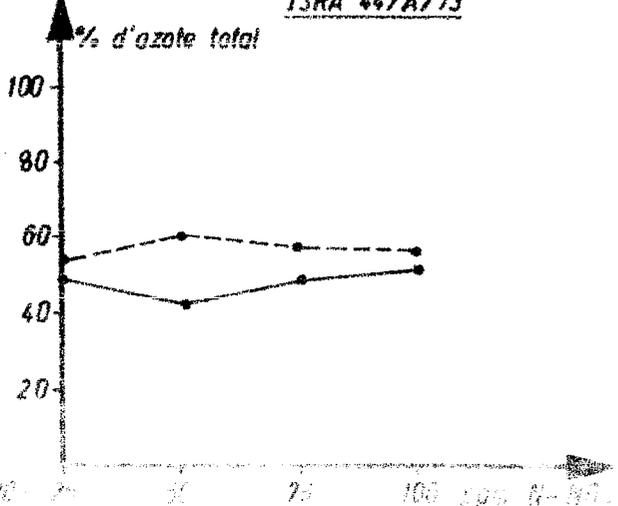
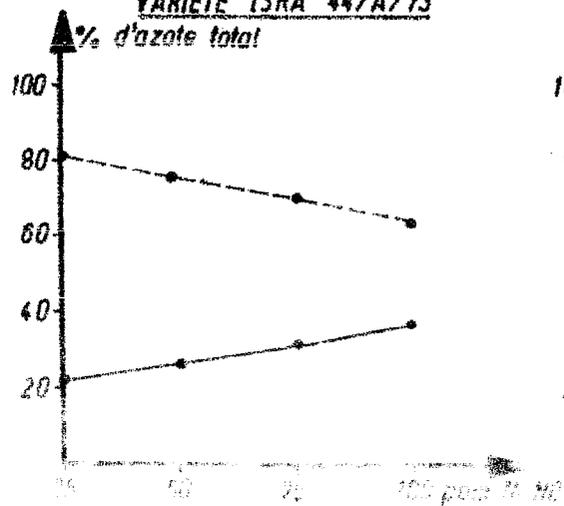
ISRA 26/72



VARIETE ISRA 44/A/73

ISRA 44/A/73

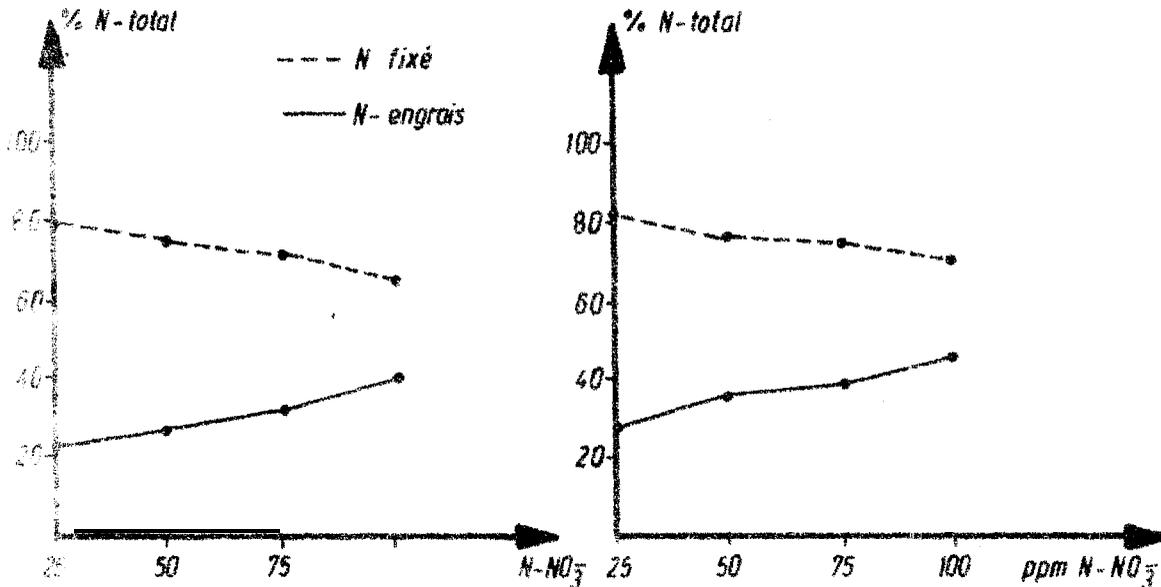
ISRA 44/A/73



# Graphique n° 8: Origine de l'azote mobilisé dans la plante

ISRA 26/72

ISRA 44 / A / 73



# Graphique n° 9: Contribution des nitrates, de la fixation à la nutrition azotée de 2 variétés de soja

