

Dispositif pour l'estimation de la fixation d'azote rhizosphérique en sol drainé ou engorgé

Gérard RINAUDO, Marie-Anna AUFEUVRE
et Marc BOUREAU

Laboratoire de Microbiologie du Sol,
ORSTOM, BP 1386, Dakar, Sénégal.

RÉSUMÉ

Les auteurs ont conçu un dispositif original destiné à l'étude de la fixation d'azote dans la rhizosphère de plantes de 3 semaines environ, cultivées en sol drainé ou engorgé, au moyen de la méthode de réduction de l'acétylène. Il répond au souci de préserver l'intégrité physiologique des systèmes étudiés.

L'intérêt d'un tel dispositif a été mis en évidence par quelques exemples d'application : influence sur la fixation d'azote du régime hydrique, de l'azote minéral et du type de sol.

MOTS-CLÉS : Fixation d'azote — Rhizosphère — Réduction d'acétylène.

ABSTRACT

A DEVICE TO ESTIMATE RHIZOSPHERICAL DI-NITROGEN FIXATION IN SUBMERGED AND NON-SUBMERGED SOIL.

A device to study nitrogen fixation in the rhizosphere of three weeks old seedlings, was described. The seedlings were grown in dry or submerged conditions, and acetylene measurements were made without perturbations of the studied systems.

The advantages of this device were demonstrated by some experiments concerning the influence of water régime, mineral nitrogen and soil type, on nitrogen fixation.

KEY WORDS: N₂-Fixation — Rhizosphere — C₂H₂-reduction.

INTRODUCTION

Il est devenu courant d'estimer la fixation d'azote des systèmes biologiques, par la mesure de réduction de l'acétylène (Hardy et coll., 1973). Dans le cas des systèmes sol-plante, diverses techniques ont été développées. Elles consistent souvent à mesurer l'activité d'échantillons de sols rhizosphériques ou de fragments de racines (Hardy et coll., 1968); Döbereiner et coll., 1972; Von Bulow et Döbereiner, 1975). Eskew et Ting (1977) ont montré que les résultats obtenus dans ces conditions peuvent conduire à des extrapolations hasardeuses, et doivent être interprétés avec précaution. Il est préférable d'utiliser des techniques qui préservent l'intégrité du système sol-plante, qu'il s'agisse d'études *in situ* (Balandreau et Dommergues, 1971), en vases de

végétation (Lie, 1971; Lee et Yoshida, 1977), ou sur modèles au laboratoire (Raimbault et coll., 1977).

Le dispositif que nous présentons ici est destiné à l'étude au laboratoire de la fixation d'azote rhizosphérique. Il peut être rapproché du premier dispositif mis au point au laboratoire pour l'étude des métabolismes gazeux dans la rhizosphère du riz inondé (Raimbault et coll., 1977), et dont l'originalité résidait dans la possibilité d'introduire l'acétylène au contact direct du sol tout en maintenant le système dans des conditions proches des conditions naturelles (sol en anaérobiose, parties aériennes à l'air). Ce premier dispositif présentait l'inconvénient de nécessiter pour la mesure le transfert du système, ce qui ne pouvait être effectué qu'avec du sol engorgé. Avec le nouveau dispositif, cette restriction est supprimée, les mesures étant effectuées sur le système en place.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

DESCRIPTION DU DISPOSITIF (fig. 1-A)

Le dispositif comprend :

— un tube en chlorure de polyvinyl opaque (hauteur : 250 mm, diamètre intérieur : 31 mm, diamètre extérieur : 40 mm), élargi à sa partie supérieure pour faciliter le repiquage;

— un tube intérieur constitué par un fin grillage en acier inoxydable (hauteur : 210 mm, diamètre : 15 mm, maille : 200 μ m) centré sur le bouchon qui obture la partie inférieure du dispositif.

Le sol (environ 200 g) est disposé en couronne autour du tube intérieur. Trois graines prégermées sont repiquées en surface. Durant toute la croissance de la plante, le puits central est comblé par un tube de verre de 14 mm de diamètre qui sera enlevé pour la mesure de réduction de l'acétylène. La colonne de sol est humidifiée par sa partie inférieure. Selon le niveau de la nappe d'eau, la culture est engorgée ou drainée.

SYSTÈMES ÉTUDIÉS

Nous avons testé 3 plantes : le riz en culture inondée ou exondée, le mil et le sorgho en culture exondée.

Cultures sur sol

Riz : variété Séfa 319 G cultivée sur sol alluvial argilo-sableux (Boundoum, Sénégal), sol à nappe sablo-argileux (sol gris de Casamance, Sénégal), sols argileux des Philippines (Maahas clay, Maligaya clay).

Mil : variété Souna III cultivée sur un mélange comportant 2/3 de sol Dior sableux (Bambey, Sénégal) et 1/3 de tourbe, avec ou sans apport d'azote minéral (20 ppm N-NH₄).

Sorgho : variété 51-69 cultivée sur un sol sableux faiblement ferrallitique (Nioro du Rip, Sénégal).

Culture du riz sur sable + sol

Variété Césarot cultivée sur un mélange comprenant 1/10 de sol du Mas Adrien (Camargue, France) et 9/10 de sable basaltique grossier (particules de dimensions comprises entre 1 et 2 mm) avec apport d'une solution minérale sans azote pour riz (Hamad-Farès, 1976).

MESURE DE L'ARA (*activité réductrice d'acétylène*)

L'ARA est mesurée 3 semaines après le repiquage (fig. 1-B). Le puits central libéré du tube de verre est obturé par un bouchon. De la paraffine en surfusion (1/3 paraffine solide + 2/3 huile de paraffine) est coulée dans la partie supérieure du dispositif. L'air contenu dans le puits central est chassé par un mélange azote-acétylène (10 % C₂H₂) et l'orifice inférieur est obturé par un bouchon à travers lequel seront effectués les prélèvements de gaz. Le grillage métallique permet les échanges gazeux entre le sol et le puits central (Garcia, 1975). Les analyses sont effectuées avec un chromatographe à ionisation de flamme Varian Aérograph 1200 (Raimbault et coll., 1977).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

CINÉTIQUE DE RÉDUCTION DE L'ACÉTYLÈNE

Avec le dispositif de Raimbault et coll. (1977), la cinétique de réduction de l'acétylène présente une phase de latence d'environ 3 heures suivie d'une phase linéaire de production d'éthylène. Cette latence initiale peut être supprimée si l'on sature préalablement la solution du sol en éthylène (Rinaudo et coll., 1977); elle serait donc la conséquence d'une solubilisation de l'éthylène produit au cours des premières heures d'incubation. Les résultats obtenus avec le nouveau dispositif sont analogues et confirment cette interprétation. En effet :

— dans le cas de la culture engorgée du riz sur sable + sol (fig. 2-A), la latence est pratiquement nulle, car dès que le dispositif est placé en conditions d'incubation (fig. 1-B), l'eau de submersion draine vers le fond du dispositif en raison de la forte proportion de sable, ce qui autorise une meilleure diffusion de l'éthylène,

— dans le cas de cultures sur sols drainés (fig. 2-B), la latence est d'autant plus brève que l'ARA est plus forte, donc que la solution du sol est plus rapidement saturée en éthylène.

INCIDENCE DU RÉGIME HYDRIQUE

Le régime hydrique auquel le système est soumis est l'un des facteurs majeurs de la fixation d'azote : l'ARA rhizosphérique est 5 à 10 fois plus forte en sol engorgé qu'en sol drainé (tabl. I). Les résultats obtenus avec le riz sur sol drainé ou engorgé sont particulièrement significatifs, car nous avons utilisé dans

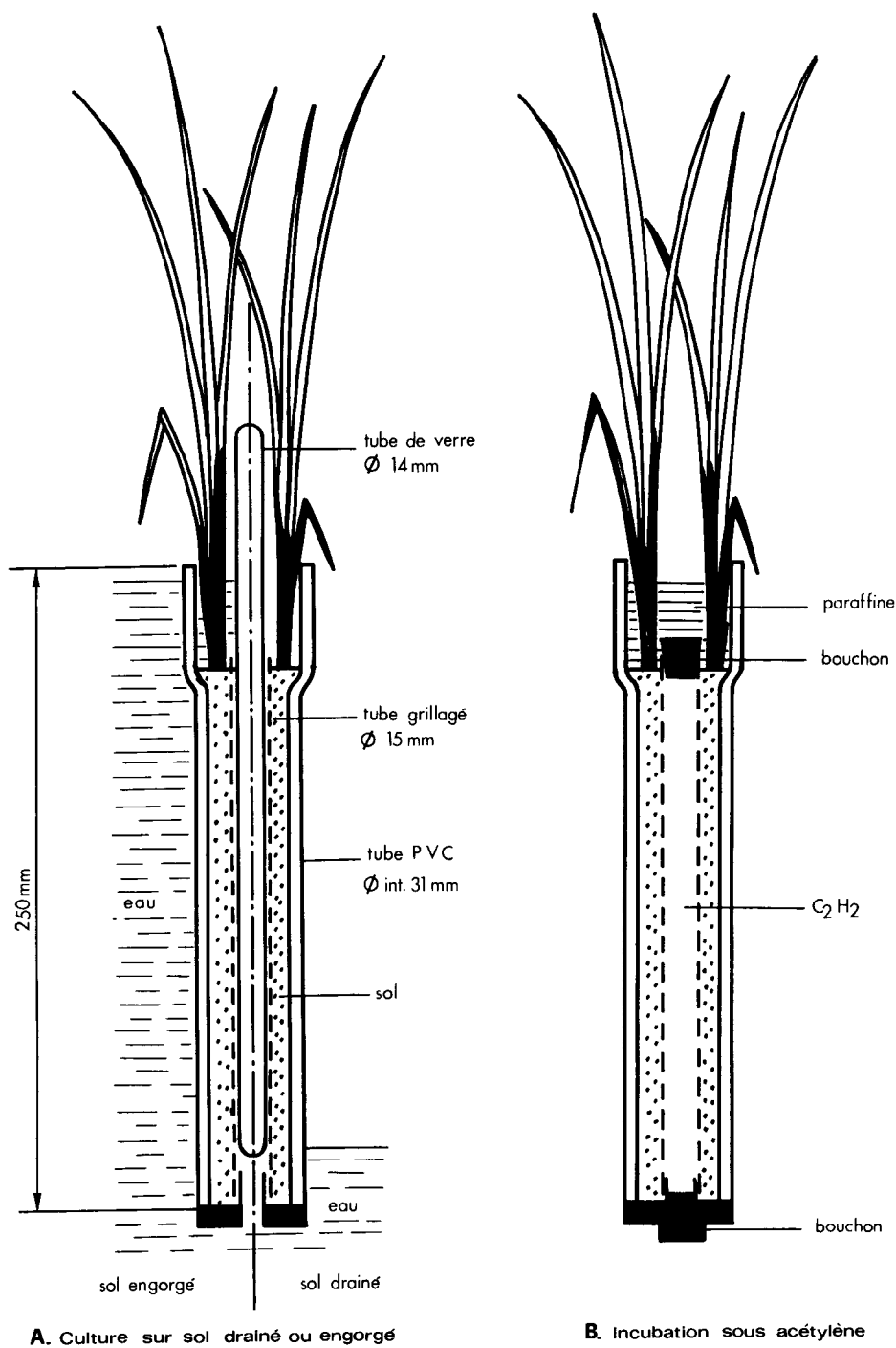
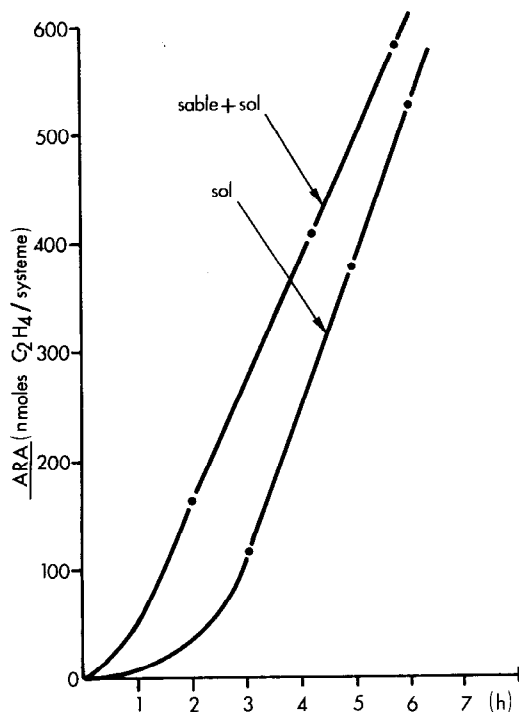
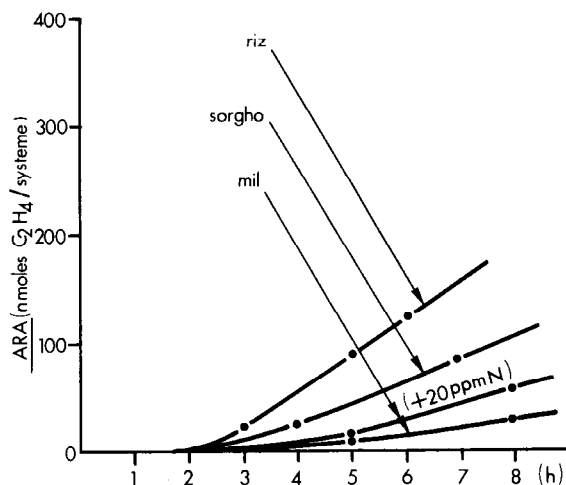


FIG. 1. — Dispositif de mesure de l'A.R.A. dans la rhizosphère.



A. Riz sur sol (ou sable+sol) engorgé



B. Riz, sorgho et mil sur sol drainé

FIG. 2. — Cinétique de réduction de l'acétylène dans la rhizosphère du riz, du mil et du sorgho.

l'un et l'autre cas le même système (riz Séfa 319 G - sol de Boundoum). Des résultats analogues ont été obtenus aux Philippines par Yoshida et Ancajas (1973). Ils mettent en évidence l'effet bénéfique sur la fixation de N₂, des conditions réductrices induites par l'engorgement du sol.

INCIDENCE D'UN APPORT MODÉRÉ D'AZOTE MINÉRAL AU MOMENT DU SEMIS

L'ARA dans la rhizosphère du mil est relativement modeste dans le cas du système utilisé ici (variété Souna III - sol de Bambey enrichi en tourbe). On observe toutefois qu'un apport initial de 20 ppm d'azote minéral a pour effet de stimuler l'activité fixatrice (tabl. I). Un résultat analogue a été obtenu dans le cas du riz inondé (Balandreau et coll., 1975). Il peut être expliqué par le fait qu'un apport d'azote minéral permet un meilleur démarrage de la croissance de la plante; de plus, appliqué à faible dose, l'azote est rapidement consommé et n'exerce donc pas d'effet inhibiteur sur la fixation d'azote.

INFLUENCE DU TYPE DE SOL

Nous avons comparé l'ARA dans la rhizosphère du riz Séfa 319 G cultivé sur sol gris de Casamance, Maahas clay et Maligaya clay. Les résultats obtenus (tabl. II), montrent que la fixation d'azote rhizosphérique dépend étroitement du sol: avec le sol gris, l'ARA est 2 à 4 fois supérieure à celle que l'on obtient avec Maligaya clay et Maahas clay, bien que ces derniers conviennent mieux à la croissance du riz (cf. poids secs).

En raison de la complexité du système sol-plante, il est toujours difficile d'interpréter les résultats d'études comparatives de sols. Ainsi, lors d'une étude portant sur 29 sols de rizières du Sénégal (Garcia et coll., 1974) aucune corrélation nette n'a été trouvée entre la fixation d'azote rhizosphérique et les principales propriétés physicochimiques des sols. Les études actuellement en cours au laboratoire nous permettent de penser que les différences observées ici ont probablement une origine microbienne.

TABLEAU I
A.R.A. dans la rhizosphère du riz, du mil et du sorgho.

Système sol-plante	A.R.A. (nmoles C ₂ H ₄ /h ± I.C.*)	
	Par système sol-plante	Par g racines sèches
Culture sur sol engorgé riz Séfa 319 G/sol de Boundoum	155 ± 25	997 ± 175
Culture sur sol drainé riz Séfa 319 G/sol de Boundoum mil Souna III/sol de Bambey + tourbe idem + 20 ppm N-NH ₄ sorgho 51-69/sol de Nioro du Rip	35 ± 7 7,4 ± 1,9 14,1 ± 4,9 24,9 ± 6,5	460 ± 75 44 ± 11 74 ± 23 89 ± 25
Culture engorgée sur sable + sol riz Césariot/sol du Mas Adrien	120	811

* I.C. intervalle de confiance pour P = 0,05.

TABLEAU II
Influence du type de sol sur l'A.R.A. dans la rhizosphère du riz
(variété Séfa 319 G) en culture inondée.

SOL	A.R.A. (nmoles C ₂ H ₄ /h)		Poids secs (mg)	
	Par système sol-plante	Par g racines sèches	Feuilles	Racines
Sol gris de Casamance	201	1 357	169	149
Maahas clay	61	352	364	174
Malgaya clay	126	484	535	266

N.B. — Chaque valeur est une moyenne de 3 répétitions.

CONCLUSIONS

Les quelques exemples d'application exposés dans la présente note, montrent l'intérêt de notre dispositif pour l'étude des relations sol-plante. Simple de conception et de réalisation, peu encombrant, il convient parfaitement aux études nécessitant la mise en place de grandes séries.

Manuscrit reçu au Service des Publications de l'ORSTOM le 29 août 1978.

BIBLIOGRAPHIE

- BALANDREAU (J.), DOMMERCUES (Y.), 1971. — Mesure *in situ* de l'activité nitrogénasique. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 273 D : 2020-2023.
- BULOW (J.F.W. Von), DOBEREINER (J.), 1975. — Potential for nitrogen fixation in maize genotypes in Brazil. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72 : 2389-2393.
- DOBEREINER (J.), DAY (J.M.), DART (P.J.), 1972. — Nitrogenase activity and oxygen sensitivity of the *Paspalum notatum* - *Azotobacter paspali* association. *J. Gen. Microbiol.*, 71 : 103-116.
- DOBEREINER (J.), DAY (J.M.), DART (P.J.), 1972. — Nitrogenase activity in the rhizosphere of sugar cane and some other tropical grasses. *Plant Soil*, 37 : 191-196.
- ESKEW (D.L.), TING (I.P.), 1977. — Comparison of intact plant and excised root assays for acetylene reduction in grass rhizospheres. *Plant Sci. Lett.*, 8 : 327-331.
- GARCIA (J.-L.), RAIMBAULT (M.), JACQ (V.), RINAUDO (G.), ROGER (P.), 1974. — Activités microbiennes dans les sols de rizières du Sénégal : relations avec les caractéristiques physico-chimiques et influence de la rhizosphère. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 11 : 169-185.
- GARCIA (J.-L.), 1975. — Effet rhizosphère du riz sur la dénitrification. *Soil. Biol. Biochem.*, 7 : 139-141.

- HAMAD-FARES (I.), 1976. — La fixation de l'azote dans la rhizosphère du riz. Réalisation d'un modèle gnotobiotique. Thèse Doctorat ès-Sciences, Nancy.
- HARDY (R.W.F.), HOLSTEN (R.D.), JACKSON (E.K.), BURNS (R.C.), 1968. — The acetylene-ethylene assay for the N_2 -fixation : laboratory and field evaluation. *Plant Physiol.*, 43 : 1187-1207.
- HARDY (R.W.F.), BURNS (R.C.), HOLSTEN (R.D.), 1973. — Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biol. Biochem.*, 5 : 47-81.
- LEE (K.K.), YOSHIDA (T.), 1977. — An assay technique of measurement of nitrogenase activity in root zone of rice for varietal screening by the acetylene reduction method. *Plant Soil*, 46 : 127-134.
- LIE (T.A.), 1971. — Symbiotic nitrogen fixation under stress conditions. *Plant Soil*, Spec. Vol. : 117-127.
- RAIMBAULT (M.), RINAUDO (G.), GARCIA (J.-L.), BOUREAU (M.), 1977. — A device to study metabolic gases in the rice rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.*, 9 : 193-196.
- RINAUDO (G.), 1974. — Fixation biologique de l'azote dans trois types de sols de rizières de Côte-d'Ivoire. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 11 : 149-168.
- RINAUDO (G.), HAMAD-FARES (I.), DOMMERCUES (Y.), 1977. — N_2 -fixation in the rice rhizosphere : methods of measurements; practices suggested to enhance the process. In « Biological N_2 Fixation in Farming Systems of the Tropics, Edited by A. Ayanaba, P.J. Dart, 313-324.
- YOSHIDA (T.), ANCAJAS (R.R.), 1973. — Nitrogen-fixing activity in upland and flooded rice fields. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 37 : 42-46.