

Journ. 73.

B.T.I. 336 - 1979

M 1 - CEREAL - 063

Bull. Techn. Inform. des Ingénieurs Agronomes

LA FIXATION D'AZOTE DANS LA RHIZOSPHERE DES CÉRÉALES A PAILLE

Y. DOMMERMUES

Directeur de recherches au C.N.R.S.
ORSTOM - B.P. 1386 DAKAR - SENEGAL

1. INTRODUCTION

Depuis que l'on a pris conscience du coût énergétique élevé des engrais azotés, on attache de plus en plus d'importance à la fixation biologique de l'azote. Le groupe des plantes cultivées fixatrices d'azote le plus important et le mieux connu est celui des légumineuses (1), le siège de la fixation de l'azote étant la nodosité (= nodule), qui résulte de l'infection du système racinaire par une bactérie symbiotique appartenant au genre **Rhizobium**. La quantité d'azote fixé par les légumineuses varie de quelques dizaines à quelques centaines de kg par ha et par an. Le niveau de la fixation d'azote est fonction, d'une part, de l'espèce de légumineuse (et même du cultivar) et de la souche de **Rhizobium** associée, d'autre part, de l'intervention de facteurs limitants : facteurs climatiques (par ex. : sécheresse ou excès d'humidité), caractéristiques chimiques (par ex. : excès d'azote minéral) ou physiques du sol, attaques de pathogènes (par ex. : nématodes).

On sait que les graminées ne possèdent pas de nodosités fixatrices d'azote, mais depuis près d'une

vingtaine d'années, l'étude du bilan d'azote dans certaines prairies exemptes de légumineuses, en Australie, Nigéria, Brésil, Angleterre, a suggéré que l'accroissement de la teneur en azote observée pouvait être attribuée à la fixation d'azote dans la rhizosphère des graminées. Mais ce n'est qu'à partir de 1970 que les recherches sur la fixation rhizosphérique de l'azote se sont intensifiées. On a fondé de grands espoirs sur les possibilités offertes par ce processus, à la suite de publications qui avançaient des taux élevés de fixation potentielle d'azote, atteignant près de 100 kg d'azote par ha et par an. Mais ces évaluations, obtenues par extrapolation de mesures effectuées par la méthode de réduction de l'acétylène (2) n'ont pas été confirmées à ce jour.

L'objectif de la présente note est de faire le point sur nos connaissances actuelles sur la fixation d'azote dans la rhizosphère des graminées en nous limitant au cas des « céréales à paille ». Par céréales à paille, on entend notamment le blé, l'orge, l'avoine, le seigle, le triticale, le riz, le sorgho, le mil. En fait, nous évoquerons ici essentiellement le cas de deux céréales à paille, riz et accessoirement blé, qui ont

(1) Il existe également un groupe de plantes possédant des nodosités fixatrices d'azote : c'est celui des non-légumineuses nodulées fixatrices d'azote. Ce sont en général des plantes ligneuses, colonisant souvent, mais pas exclusivement, les sols pauvres en azote : en région tempérée, l'exemple classique est celui des aulnes.

(2) Il s'agit d'une méthode indirecte d'évaluation de la fixation d'azote, fondée sur la mesure de l'activité de l'enzyme bactérienne (nitrogénase) responsable de cette réaction.

été les plus étudiées. Nous avons estimé qu'il pouvait être intéressant de donner également des informations sur le maïs qui, bien que non classé dans « les céréales à paille », a fait l'objet d'un certain nombre de travaux préliminaires.

2. CONNAISSANCES ACTUELLES SUR LA FIXATION D'AZOTE RHIZOSPHERIQUE

2.1. Colonisation de la rhizosphère des céréales par les bactéries fixatrices d'azote

Rappelons tout d'abord que, par le terme **rhizosphère**, on désigne la zone de contact entre les racines et le sol lui-même. On peut schématiquement distinguer dans la rhizosphère trois régions :

- la **rhizosphère sensu stricto**, constituée par le sol entourant les racines, dans lequel diffusent les exsudats et se déposent les lysats racinaires (cf. 2.2) ;
- le **rhizoplan**, constitué par la surface des racines et le mucigel ;
- la **rhizosphère interne**, constituée par les cellules du cortex racinaires envahies par les microorganismes.

Il est bien établi que les céréales cultivées — comme de très nombreuses graminées — hébergent presque toujours dans leur rhizosphère des bactéries fixatrices d'azote que l'on peut classer en quatre groupes en ce qui concerne leur comportement vis-à-vis de l'oxygène :

- **aérobies**, ex. : *Azotobacter*, *Beijerinckia*
- **microaérophiles**, ex. : *Spirillum*, *Derxia*
- **anaérobies facultatives**, ex. : *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*
- **anaérobies obligatoires**, ex. : *Clostridium* sp., *Desulfovibrio* sp.

On désignera ici les bactéries fixatrices d'azote dans la rhizosphère des céréales par leurs initiales BFAR. L'association lâche entre une céréale et les bactéries fixatrices d'azote de sa rhizosphère sera appelée ici : **association céréale-BFAR**.

En principe, une souche donnée de *Rhizobium* ne peut entrer en symbiose qu'avec une espèce donnée de légumineuse ; on dit que le *Rhizobium* présente une **spécificité** vis-à-vis de la plante-hôte. Une telle spécificité ne semble pas exister dans le cas de l'**association céréale-BFAR**.

Quelques auteurs ont prétendu que les BFAR pouvaient infecter les cellules vivantes du cortex racinaire. En réalité, cette possibilité n'a pas encore été confirmée à ce jour. Par contre, il est établi que les BFAR peuvent coloniser la surface des racines

et les cellules mortes ou moribondes du cortex racinaire ainsi que le mucigel (couche de polysaccharides recouvrant les extrémités racinaires et les poils absorbants). Les BFAR colonisent de préférence les portions les plus âgées des racines.

2.2. Source d'énergie pour la fixation de l'azote dans la rhizosphère

Qu'elles soient ou non fixatrices d'azote, les bactéries rhizosphériques tirent l'énergie qui leur est nécessaire de trois sources :

- **les exsudats racinaires**, c'est-à-dire les différents composés exsorbés par les racines saines intactes : composés volatils, composés solubles dans l'eau et composés insolubles, cette dernière catégorie comprenant le mucigel, dont il a été question plus haut.
- **les lysats racinaires**, c'est-à-dire les produits provenant de l'autolyse des poils absorbants et des cellules corticales et épidermiques qui se détachent des racines encore fonctionnelles.
- **la litière racinaire**, composée des racines moribondes ou mortes qui se décomposent dans le sol, au fur et à mesure que le système racinaire se renouvelle.

La réaction de fixation d'azote exige beaucoup d'énergie : on admet que pour fixer une molécule d'azote (28 g d'azote) les bactéries fixatrices d'azote consomment de 3 à 10 molécules d'hydrates de carbone (540 g à 1 800 g de glucose) suivant les souches (cf. tabl. 1). En d'autres termes, pour fixer 28 kg d'azote à l'hectare, il faudrait que ces bactéries disposent de 540 à 1 800 kg d'hydrates de carbone, ce qui correspondrait à environ 600 à 2 000 kg (poids sec) d'exsudats, lysats et litière racinaires déposés dans la rhizosphère. Toutefois il convient de noter que, dans la rhizosphère, les BFAR ne sont pas seules, mais en compétition avec de nombreux microorganismes qui consomment aussi l'énergie disponible, de sorte que la quantité d'azote fixée serait en réalité inférieure à 28 kg dans l'exemple théorique que l'on vient de donner.

En fait, on ne connaît actuellement ni la quantité d'énergie disponible au niveau des systèmes racinaires, ni la proportion des BFAR par rapport à la microflore rhizosphérique totale.

2.3. Facteurs limitant la fixation d'azote dans la rhizosphère

On vient de voir que la quantité d'énergie disponible constituait un facteur limitant de la fixation d'azote rhizosphérique. Mais d'autres facteurs limitants peuvent intervenir. Ce sont, d'une part, des facteurs limitants identiques à ceux qui agissent sur

la symbiose classique légumineuse-**Rhizobium**, d'autre part, un facteur limitant particulier, l'excès d'oxygène dans le sol.

2.3.1. Facteurs limitants communs à la symbiose classique légumineuse-**Rhizobium**, et à l'**association céréale-BFAR**.

Rappelons que ces facteurs sont les suivants :

- énergie lumineuse reçue par la plante (on peut admettre, en première approximation, que la fixation d'azote dans la rhizosphère est proportionnelle à l'énergie lumineuse reçue par la plante) ;
- température de l'air et du sol (le seuil minimal de température du sol est de l'ordre de 20° C pour le maïs) ;
- teneur du sol en azote minéral (au-dessus d'un seuil variant entre 20 et 50 kg par ha, un engrais azoté, tel que le sulfate d'ammoniaque, le nitrate ou l'urée, inhibe la fixation de l'azote, cette inhibition étant d'autant plus marquée que la dose d'application de l'engrais est plus élevée) ;
- humidité atmosphérique (l'optimum correspond à une humidité relative de l'ordre de 90 % pour le riz).

2.3.2. Excès d'oxygène dans le sol.

Il semble que, pour la plupart, les BFAR des céréales soient microaérophiles. C'est ainsi que la tension d'oxygène optimale pour la fixation d'azote par **Spirillum lipoferum** est comprise entre 0,05 et 0,02. Il en résulte que la fixation d'azote se manifeste uniquement lorsque la tension d'oxygène dans les sols est faible, ce qui est le cas des sols engorgés (rizières irriguées). Il existe bien des bactéries aérobies, telles que les **Azotobacter**, qui sont peu sensibles à l'oxygène ; mais en général ce ne sont pas de bonnes colonisatrices des racines.

2.4. Estimation du niveau effectif de la fixation d'azote dans les cultures céréalières

Jusqu'à ce jour, il n'existe aucune évaluation sûre du niveau effectif de fixation d'azote dans les cultures céréalières. Un seul fait est certain, c'est que ce niveau varie considérablement suivant les conditions du milieu et la plante considérée (cf. 3.2). Ce niveau est toujours faible dans les sols normalement drainés, où il ne dépasse pas quelques kg d'azote fixé à l'hectare (dans les agrosystèmes étudiés jusqu'à ce jour). La médiocrité de la fixation d'azote rhizosphérique dans les sols normalement drainés s'explique par la grande sensibilité des BFAR à l'oxygène (cf. 2.3.2). Par contre, dans les sols engorgés (rizières irriguées), le niveau de fixation peut être plus élevé. En fait, d'après les estimations actuelles, ce niveau serait compris dans

une fourchette allant de 0 à 20 kg d'azote fixé à l'hectare. Dans certaines rizières (Philippines, par exemple), les gains d'azote par fixation biologique ne résulteraient pas de l'intervention des BFAR, mais essentiellement de celle des algues fixatrices d'azote (Cyanophycées) libres ou en association avec une petite fougère flottante (**Azolla**).

2.5. Devenir de l'azote fixé dans la rhizosphère

On ne sait pas si l'azote fixé par les BFAR (1) reste stocké sous forme protéique dans les cellules bactériennes pour être libéré dans le sol par ammonification après la mort de ces cellules (2) ou est excrété au fur et à mesure sous forme ammoniacale ou sous toute autre forme utilisable directement par la plante. La première éventualité serait moins favorable à la plante car les pertes d'azote par dénitrification pourraient alors se produire.

2.6. Comparaison de la symbiose légumineuse-**Rhizobium** et de l'**association céréale-BFAR**

Le tableau ci-dessous montre clairement que l'association céréale-BFAR est très lâche (absence de spécificité ; infection limitée à la surface des racines, ou aux résidus racinaires) ; son rendement énergétique est faible, sa sensibilité à l'oxygène très grande.

3. POSSIBILITE D'AMELIORATION DE LA FIXATION D'AZOTE RHIZOSPHERIQUE

On a vu que toutes les céréales peuvent héberger des BFAR dans leurs racines. Il a été montré par de nombreux auteurs que le riz, le blé, le sorgho, le mil, étaient susceptibles de fixer l'azote dans leur rhizosphère ; mais contrairement aux légumineuses, le niveau de fixation est faible. Il ne faut pas s'en étonner : on vient de voir que les associations céréale-BFAR sont beaucoup plus primitives que les symbioses légumineuses-**Rhizobium** (Tableau). Toutefois, les résultats des recherches récentes sur les céréales suggèrent qu'il est possible d'élever leur niveau effectif de fixation d'azote en agissant sur le sol, sur la plante-hôte, sur la microflore rhizosphérique.

3.1. Action sur le sol

Il est difficile d'agir sur les facteurs du milieu autres que le sol. En ce qui concerne ce dernier, on sait que le régime hydrique est, sauf exception (sols irrigués), difficile à contrôler. Par contre, il est possible d'améliorer certaines propriétés chimiques du sol pour stimuler la fixation d'azote, comme on peut le faire dans le cas des légumineuses (par ex., par chaulage).

Un des problèmes les plus importants sur le plan pratique est celui de l'inhibition de la fixation d'azote par les engrais azotés (cf. 2.3.1). Même si, dans l'avenir, l'on parvenait à obtenir une fixation d'azote significative (par ex. : 30 kg par ha) dans la rhizosphère des céréales, cette fixation serait insuffisante pour satisfaire les besoins en azote de la plante. Il faudrait apporter un complément azoté important. Mais, pour éviter d'inhiber la fixation

TABLEAU : COMPARAISON DES DEUX SYSTEMES FIXATEURS D'AZOTE

	Symbiose légumineuse-Rhizobium	Association céréale - BFAR
Spécificité	Certaines	Semble inexistante
Infection par les bactéries	Intracellulaire	Semble limitée à la surface des racines, aux cellules moribondes du cortex et aux résidus racinaires
Quantité d'énergie (exprimée en molécule de glucose) exigée pour fixer une molécule d'azote	1	8-10 (BFAR anaérobies) 3-4 (BFAR aérobies)
Protection de la bactérie fixatrice d'azote contre l'excès d'oxygène	Intervention de leghémoglobine du nodule	Pas de protection par la plante. La protection bactérienne est souvent insuffisante
Devenir de l'azote fixé	Utilisé directement par la plante-hôte sous forme d'azote ammoniacal	?

biologique de l'azote, il serait nécessaire d'utiliser des engrais azotés n'inhibant pas la fixation d'azote. On connaît effectivement de telles formes d'azote : azote organique des fumiers, azote organique des sols. Ces formes d'azote sont dites **compatibles**. Il semble qu'une des voies d'avenir de l'industrie des engrais azotés réside dans la mise au point de formes d'azote organique compatibles avec la fixation biologique de l'azote.

3.2. Action sur la plante-hôte

Comme la symbiose légumineuse-Rhizobium, l'association céréale-BFAR, est régie en partie par des déterminants génétiques qui appartiennent à la plante. L'étude du caractère héréditaire de l'aptitude d'une céréale donnée à s'associer avec des BFAR, semble prometteuse. Cette étude pourrait porter sur la stabilité du caractère, la possibilité de le transmettre et l'existence de caractères corrélatifs. Les résultats obtenus dans le cas du blé sont encourageants. En ce qui concerne le riz, on a pu montrer que la fixation d'azote pouvait varier de 1 à 4 lorsque l'on passait d'une variété s'associant difficilement à une variété s'associant plus facilement avec les BFAR. Tout récemment, dans le cadre d'une étude effectuée en collaboration entre l'INRA (Montpellier) et l'ORSTOM (Dakar), on a découvert des mutants de riz (cv. Cigalon) chez lesquels la fixation d'azote rhizosphérique était deux fois plus élevée que chez le cultivar originel.

3.3. Action sur la microflore rhizosphérique

Trois voies s'ouvrent simultanément : la première consiste à améliorer les performances des souches de BFAR dont nous disposons actuellement ; la deuxième consiste à trouver des associations de micro-organismes dont les performances seraient supérieures à celles des souches pures ; la troisième consiste à favoriser la colonisation des racines par les BFAR.

3.3.1. Amélioration des propriétés des bactéries fixatrices d'azote rhizosphérique

On peut espérer obtenir, par sélection ou manipulation génétique, des souches de BFAR (1) haute-ment fixatrices (2), insensibles ou peu sensibles à l'effet inhibiteur de l'azote minéral, (3) capables d'excréter dans la rhizosphère de la plante-hôte des formes d'azote directement utilisables. Signalons qu'en France, un groupe de l'Institut Pasteur a déjà obtenu des mutants de **Spirillum lipoferum** présentant des performances bien supérieures à celles de la souche sauvage.

3.3.2. Recherche d'associations microbiennes rhizosphériques

Etant donné, d'une part, qu'il ne semble pas exister de bactéries capables de fixer l'azote dans une large gamme de tension d'oxygène et, d'autre part, que la tension d'oxygène de la rhizosphère des plantes varie considérablement dans l'espace et surtout dans le temps, on pourrait essayer d'installer simultanément dans la rhizosphère des BFAR appartenant aux trois types majeurs : aérobies, micro-aérophiles, anaérobies.

Il pourrait également être intéressant de chercher à introduire dans la rhizosphère des associations microbiennes capables d'exploiter avec un meilleur rendement les sources énergétiques disponibles au niveau des racines.

Il est établi, depuis peu, que l'infection des racines de légumineuses par des endomycorrhizes vésiculorhizales, exerce un effet favorable sur la fixation symbiotique de l'azote. Il est possible qu'une telle stimulation de la fixation d'azote existe aussi dans le cas de l'association céréale-BFAR. Une équipe de l'INRA (Dijon) s'est attaquée récemment à ce problème.

3.3.3. Amélioration de la colonisation des racines par les bactéries fixatrices d'azote rhizosphérique

Des expériences d'inoculation du maïs par *Spirillum brasilense* effectuées au champ (Etats-Unis) ont

montré que, seulement dans deux cas sur quatre, le rendement en azote de la récolte pouvait être significativement augmenté de 14 à 15 % ; mais de tels accroissements de rendement sont faibles. Il semble que cet échec relatif de l'inoculation soit dû, non seulement à l'utilisation de souches non adaptées aux conditions du milieu (sol notamment), mais aussi à une colonisation insuffisante du système racinaire du maïs.

Nous mettons au point actuellement une nouvelle méthode d'inoculation fondée sur l'inclusion des bactéries dans un gel de polymère. Cette méthode permet d'améliorer considérablement le taux de survie des bactéries introduites dans le sol, et, moyennant certains perfectionnements, elle devrait réduire les risques d'antagonisme par compétition, de sorte que la colonisation du système racinaire serait sensiblement améliorée.

4. CONCLUSION

Compte tenu de l'état actuel d'avancement des recherches, nous essaierons de répondre aux deux questions suivantes :

4.1. Est-il possible d'accroître la fixation d'azote dans la rhizosphère des céréales ?

La réponse est oui probablement, car nous disposons maintenant d'outils qui nous permettent d'agir sur ces systèmes. C'est ainsi qu'au laboratoire trois approches se sont révélées prometteuses : la sélection de la plante-hôte, l'introduction de souches bactériennes améliorées dans la rhizosphère, l'emploi d'engrais azotés compatibles.

4.2. De combien peut-on accroître le niveau de cette fixation ?

En admettant que l'on construise un système céréale-BFAR, présentant au laboratoire une efficacité satisfaisante, il est certain qu'au champ, cette efficacité sera différente et variera considérablement en fonction des conditions climatiques et des sols. On

ne peut actuellement chiffrer, même approximativement, l'accroissement du niveau de fixation d'azote que l'on pourrait atteindre. Mais nous pouvons prévoir dès maintenant que les accroissements de fixation d'azote obtenus seront plus élevés : (1) en climat tropical ou méditerranéen (avec irrigation) qu'en climat tempéré, (2) dans les sols pauvres en bactéries fixatrices d'azote et en microorganismes en général (par ex. : sols sableux peu humifères).

Quels que soient les types d'agriculture considérés, même des niveaux faibles de fixation d'azote (de l'ordre de 20 kg par ha et par cycle végétatif) permettraient des économies très sensibles d'engrais, qui ont été chiffrées par L.D. Owens (1976). D'après cet auteur, une fixation d'azote de 25 kg par ha et par an pour le blé et le maïs (qui couvrent 334 millions d'ha) équivaldrait à 6,7 millions de tonnes d'engrais azotés; soit 17 % de la quantité d'engrais azotés consommés actuellement dans le monde.

LA FIXATION D'AZOTE DANS LA RHIZOSPHERE DES CÉRÉALES A PAILLE

Y. DOMMERGUES

*Directeur de recherches au C.N.R.S.
ORSTOM - B.P. 1386 DAKAR - SENEGAL*

11 FEV. 1980

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

M¹ n° 9888 Bx. Pol.