

*1 an Paris*

ORGANISME BENEFICIAIRE

GROUPEMENT D'ETUDE ET DE RECHERCHE  
POUR LE DEVELOPPEMENT DE L'AGRONOMIE  
TROPICALE ( GERDAT )  
42, RUE SCHEFFER, 75016, PARIS.

ORGANISME  
CONTRACTANT  
CNRS/ORSTOM

ET  
CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE  
AGRONOMIQUE, BAMBEY, SENEGAL.

X  
mhp174

YVON DOMMERMUES

MISE AU POINT D'UNE METHODE BIOLOGIQUE  
DE DETOXICATION DES SOLS SABLEUX  
CULTIVES EN SORGHO

Février 1978

Compte rendu de fin d'étude d'une  
recherche financée par la Délégation  
Générale à la Recherche Scientifique  
et Technique

Action spécifique : Agronomie

Décision d'aide n° 76.7:0435.01. du 6 octobre  
1976 modifiée le 1er décembre 1977

Fonds Documentaire ORSTOM

Cote: B\*4975 Ex: 1

ORSTOM Documentation



010004975

## TABLE DES MATIERES

I.	Introduction .....	2
II.	Conduite de la recherche .....	4
III.	Résultats et interprétation .....	5
	1. Connaissance du processus d'induction de la phytotoxicité du sol .....	5
	2. Mise au point du procédé biologique de détoxification .....	6
	2.1. Essais en vase de végétation d'un inoculum fongique.....	6
	2.2. Essais en vase de végétation d'un inoculum bactérien ( <u>F. cloacae</u> ).....	8
	2.3. Expérimentation au champ .....	12
	2.4. Extention du procédé à la détoxification des pailles .....	14
IV.	Conclusion .....	16
V.	Publication .....	17

Le phénomène de phytotoxicité dû aux résidus de récolte du sorgho, a été signalé depuis longtemps (Breascale, 1924) et confirmé plus récemment (Guenzi et al., 1967). Chez les jeunes plants de sorgho, on a montré qu'il y a synthèse d'un composé phytotoxique: la durrhine qui, par hydrolyse enzymatique, donne naissance à un mélange de glucose, de HCN et de p-hydroxybenzaldehyde (Conn et Akazawa, cités par Rice, 1974). Dans le cas des résidus de récolte (racines notamment), W. Burgos-Léon, a montré que la phytotoxicité pouvait être attribuée à un mélange d'acides phénols dont l'acide p-coumarique, acide p-hydroxybenzoïque. (CPB, Nancy).

Le problème qui se pose en définitive, sur le plan pratique, était de mettre au point une méthode permettant d'accélérer la biodégradation des composés phytotoxiques responsables du processus d'allélopathie.

Les expériences effectuées in vitro au CPB/CNRS, Nancy, de 1973 à 1976 avaient montré qu'il était effectivement possible de détoxifier le sol par inoculation avec un champignon cellulolytique (Trichoderma viride). Mais les modalités d'application en milieu tropical étaient inconnues.

L'objectif du présent projet était précisément d'adapter aux conditions climatiques et édaphiques de l'Ouest Africain, la technique dont le principe avait été élaboré au CPB/CNRS, Nancy.

Initialement, le projet était axé sur l'utilisation de T. viride. Mais il est apparu que d'autres souches fongiques étaient préférables. Le choix s'est fixé en définitive, sur un Aspergillus niger. Puis on a découvert qu'une bactérie, Enterobacter cloacae, pouvait détoxifier le sol très activement.

## II. CONDUITE DE LA RECHERCHE

Les recherches ont été conduites par W. Burgos et F. Ganry, au Centre National de Recherche Agronomique de Bambey, Sénégal, avec l'appui du Laboratoire de Biologie des Sols de l'ORSTOM, Dakar, en ce qui concerne la préparation de l'inoculum d'Enterobacter cloacae (H. G. Diem).

Dans une première étape, on s'est attaché à préparer un inoculum fongique, puisque les résultats obtenus au CPB/CNRS, Nancy, avaient mis en évidence la possibilité d'utiliser un champignon pour détoxifier le sol. Un temps, relativement long a été consacré à la mise au point d'un compost destiné à servir de support au champignon.

Dans une deuxième étape, on a testé la possibilité d'utiliser E. cloacae. Ces essais ont été effectués en vase de végétation.

Dans une troisième étape, on a cherché à étendre au champ les résultats obtenus en vase de végétation. Une expérimentation a été mise en place in situ à la station ISRA, Nioro du Rip, au cours de l'hivernage 1977. Mais deux difficultés ont handicapé cette expérimentation au champ : intervention de pluies anormales en saison sèche (décembre 1976 - janvier 1977) qui ont détoxifié partiellement le sol; insuffisance des pluies au cours de l'hivernage 1977. C'est pourquoi, une expérience en vase de végétation de grande taille (10kg) a été mise sur pied au mois de février 1978, avec pour objectif de cultiver le sorgho jusqu'à sa maturité. Les résultats seront connus en juin 1978.

### III. RESULTATS ET INTERPRETATION

#### 1. CONNAISSANCE DU PROCESSUS D'INDUCTION DE LA PHYTOTOXICITE DU SOL

L'origine de la phytotoxicité induite dans le sol par la culture du sorgho, a été clairement montrée dans un travail antérieur (Burgos, 1976); elle est due à la présence de composés phytotoxiques présents dans les racines du sorgho. Si l'on extrait les racines du sol phytotoxique, celui-ci perd sa phytotoxicité.

Au cours de l'année 1976, il a été montré que la phytotoxicité du sol était faible, ou nulle, pendant le début du cycle végétatif du sorgho, mais qu'elle apparaissait après la floraison (stade du grain laiteux). On a émis l'hypothèse que l'apparition des composés phytotoxiques dans les racines (acide hydroxy-benzoïque, acide para-coumarique et acide protocatéchique) était liée à la disparition de HCN dans les feuilles, cet acide toxique étant incorporé dans un glucoside (durrhine).

D'autre part, les observations au champ ont révélé que la phytotoxicité due au sorgho pouvait disparaître, au moins partiellement, si des pluies anormales même peu importantes, survenaient au cours de la saison sèche. Dans ces conditions, la microflore native peut être réactivée par l'humidité et progressivement participer à la biodégradation des phytotoxines du sol.

## 2. MISE AU POINT DU PROCÉDE BIOLOGIQUE DE DETOXICATION

### 2.1. Essais en vase de végétation d'un inoculum fongique

#### 2.1.1. Mise au point d'une technique de préparation de l'inoculum fongique

Les recherches effectuées au CIRAD/CNRS, Nancy, avaient montré qu'il était possible d'utiliser Trichoderma viride et une autre souche de microchampignon non déterminée, pour détoxifier le sol.

Une collection de microchampignons présentant cette propriété a été réalisée au Sénégal à partir de sols et de résidus de récolte. A la suite de criblages fondés (1) sur l'aptitude à détoxifier le sol, (2) sur l'aptitude à se développer sur deux substrats pâteux (coque d'arachide, paille de sorgho broyée), (3) sur la non-pathogénicité vis à vis du sorgho, on a retenu une souche locale : il s'agit d'un Aspergillus niger. Cette souche présentait l'avantage, sur la souche de Trichoderma viride utilisée ultérieurement, de se développer sur les deux substrats (coque d'arachide, paille de sorgho).

#### 2.1.2. Mise au point de la technique de préparation de l'inoculum fongique

On a mis au point la préparation d'un compost à base de paille de sorgho susceptible de servir de support au champignon. La paille de sorgho broyée estensemencée avec la culture d'A. niger. Le pied de cuve ainsi préparé est utilisé pour fabriquer l'inoculum proprement dit, celui-ci étant appliqué à la dose de 1 tonne (M.S) par ha.

Il a été montré que l'inoculum devrait être appliqué au sol 5 semaines avant le semis, le sol devant être maintenu humide pendant toute cette période pour laisser au champignon le temps de biodégrader les composés phytotoxiques du sol.

#### 2.1.3. Détoxification par un inoculum fongique

L'expérience 1 (Tableau 2) a été effectuée en vase de végétation de 5kg. On a utilisé le sol ferrugineux tropical de la station ISRA de Nioro du Rip (Sénégal) récolté dans une parcelle phytotoxique (sol après culture de sorgho) et dans une parcelle non phytotoxique (sol après culture d'arachide).

L'inoculum a été préparé à partir d'un compost de paille de mil inoculé avec Aspergillus niger. Le sol a reçu une fumure minérale 10-21-21 à la dose de 0,75g par pot (450 kg/ha).

Le tableau 2 montre (1) que le sol utilisé présentait une phytotoxicité élevée puisque la plante-test (sorgho) n'a pu s'y développer, (2) que la technique d'inoculation utilisée est efficace.

Tableau 2. Influence sur la croissance d'une plante-test (sorgho) de l'inoculation du sol avec un champignon (Aspergillus niger).

Croissance de la plante-test	Sol phytotoxique		Sol non phytotoxique (témoin)
	Inoculum	pas d'inoculum	
Hauteur (cm)	30,6	0	32,2
Poids des parties aériennes (g)			
- frais	5,6	0	5,8
- sec	1,2	0	1,1

(Photo Burgos)

Figure 1. Plants de sorgho poussant sur des sols soumis aux traitements indiqués au tableau 2. De gauche à droite: sol phytotoxique (après culture de sorgho) détoxifié à la suite d'un apport d'inoculum (A. niger) 3 semaines avant le semis; même sol sans apport d'inoculum; sol non-phytotoxique (après culture d'arachide).

## 2.2. Essais en vase de végétation d'un inoculum bactérien (Enterobacter cloacae)

Partant de l'idée qu'Enterobacter cloacae est une bonne bactérie colonisatrice de la rhizosphère (Nelson et al., 1975; Raju et al. 1972; Hamad Farès, 1976) et que le fumier de ferme, connu pour renfermer des entérobactéries, peut détoxifier le sol, nous avons fait appel à cette bactérie pour préparer l'inoculum. D'autre part, pour effectuer l'inoculation, nous avons utilisé la méthode originale d'inclusion de la bactérie dans une matrice de polymère, mise au point au CNRS à Nancy, dans le cadre d'un travail effectué avec l'aide de la DGRST (Rhizosphère des sols de prairie) et qui a fait l'objet d'une demande de brevet ANVAR (N° 77 10254 du 5 avril 1977).

Expérience 2 (Tableau 3). Cette expérience a été effectuée en vase de végétation contenant 5 kg de sol ayant reçu au semis 0,75g d'engrais 10-21-21 par pot (450 kg/ha). L'inoculum préparé à partir d'une culture de 24h d'Enterobacter cloacae D14 (G. Rinaudo) a été apporté à la dose de 10 ml par vase de végétation ( $10^9$  bactéries par ml). Le sol utilisé a été le sol ferrugineux tropical de la station ISRA de Nioro-du-Rip, Sénégal, récolté dans une parcelle précédemment cultivée en sorgho (sol phytotoxique) et dans une parcelle précédemment cultivée en arachide (sol non phytotoxique). La plante-test a été le cultivar de sorgho 51-69 (CNRA, Bambey). Compte tenu du résultat des essais relatés au paragraphe 2.2.1.2., on a appliqué l'inoculum matriciel d'Enterobacter cloacae, trois semaines avant d'effectuer le semis de la plante-test.

Les résultats de cette expérience (Tableau 3) montrent :

1°/ que l'inoculum matriciel Enterobacter cloacae détoxifie parfaitement le sol phytotoxique.

2°/ que l'inoculum semble avoir deux effets complémentaires :

- il stimule la rhizogénèse de sorgho, le poids des racines passant de 1,3g dans le témoin à 8,2g par plante dans le cas de l'inoculation.
- il améliore la nutrition azotée de la plante, puisque la rendement de la plante exprimé en azote total, passe de 14,7mg dans le témoin à 48,7mg par plante dans le cas de l'inoculation.

Tableau 3. Influence sur la croissance et le rendement en azote total d'une plante-test (sorgho) de l'inoculation du sol avec Enterobacter cloacae.

Caractéristiques de la plante-test	Sol phytotoxique		Sol non phytotoxique (témoin)
	Pas d'inoculum	Inoculum matriciel	
	(I)	(II)	(III)
<u>Parties aériennes</u>			
Hauteur (cm)	30,0	65,0	60,0
Poids frais (g par plante)	2,9	22,2	16,0
Poids sec (g par plante)	0,5	3,9	2,7
Teneur en azote (%)	2,94	1,25	0,55
Azote total (mg par plante)	13,9	48,7	14,7
<u>Racines</u>			
Longueur (cm)	15,0	32,0	21,0
Poids sec (g par plante)	0,6	8,2	1,3

Figure 2. Plants de sorgho poussant sur des sols soumis aux traitements (I), (II), (III), indiqués au tableau 3. (Photo Burgos)

Ces deux effets complémentaires, sous l'action d'un inoculum matriciel Enterobacter cloacae, ont également été montrés par G. Rinaudo et H.G. Diem, au Centre ORSTOM de Dakar, bien que la souche d'Enterobacter cloacae utilisée par ces chercheurs fût différente (il s'agissait de la souche R O 3).

L'amélioration de la nutrition azotée de la plante peut être attribuée en partie à une stimulation de la fixation rhizosphérique de  $N_2$ , contrôlée par la mesure de l'ARA (activité réductrice d'acétylène), effectuée au CNRA de Bambey et au laboratoire de microbiologie des sols de l'ORSTOM (G. Rinaudo). Par fixation de  $N_2$  rhizosphérique, nous entendons non seulement, la fixation à partir des exsudats et cellules corticales des racines (fixation rhizosphérique sensu stricto), mais aussi la fixation à partir des résidus racinaires détoxifiés (fixation dans la litière racinaire).

Expérience 3 (Tableau 4.) Cette expérience qui avait pour objet de vérifier les résultats obtenus par l'expérience 2 et de comparer deux modalités d'inoculation (inoculum liquide et inoculum matriciel) et l'effet du fumier, a été réalisée avec des vases de végétation contenant 0,5 kg de sol (3 répétitions). Les autres conditions expérimentales étaient identiques aux conditions adoptées dans l'expérience 2.

Le tableau 4 montre que :

1°/ L'inoculation matricielle apparaît bien supérieure à l'inoculum liquide (confirmation des résultats antérieurs obtenus au CPB/CNRS, Nancy).

2°/ L'application d'inoculum matriciel d'Enterobacter cloacae équivaut pratiquement à l'application de fumier.

Un contrôle de la fixation de  $N_2$  par mesure de l'ARA effectué à l'ISRA par W. Burgos et P. Ducerf, a montré que celle-ci était 7 à 9 fois plus élevée dans la rhizosphère du sorgho dans le cas des traitements "inoculum matriciel" et "fumier", que dans le cas du témoin ou de "l'inoculum liquide"

Une quatrième expérience effectuée en vase de végétation de 10 kg (qui vient d'être mise en place) a pour objet de contrôler à nouveau les résultats des expériences précédentes, mais les plantes-test seront cultivées jusqu'à la récolte des grains. Un rapport complémentaire sera établi au mois de juin 1978.

Tableau 4. Influence sur la croissance d'une plante-test (sorgho) d'un apport de fumier ou de l'inoculation du sol avec Enterobacter cloacae (inoculum liquide et inoculum matriciel).

Croissance de la plante-test	Sol phytotoxique				Sol non phytotoxique (témoin)
	Pas d'inoculum	Fumier	Inoculum liquide	Inoculum matriciel	
	(I)			(II)	
Hauteur(cm)	12	42	19	36	40
Poids frais des parties aériennes(g par plante)	0,51	5,10	1,88	4,15	2,73
Poids sec des parties aériennes(g par plante)	0,13	1,01	0,35	0,85	0,66

Figure 3. Plants de sorgho poussant sur des sols phytotoxiques soumis aux traitements (I) et (II) indiqués au tableau 4. (I): sans inoculum; (II): avec inoculum matriciel d'Enterobacter cloacae appliqué 3 semaines avant le semis. (Photo Burgos)

### 2.3.- Expérimentation au champ

Au cours de l'hivernage 1977, on a mis en place une expérience à la station ISRA de Nioro du Rip, qui avait pour objectif de vérifier in situ la possibilité de détoxifier un sol phytotoxique (à la suite d'une culture de sorgho effectuée l'année précédente), par inoculation suivant différentes techniques : inoculum fongique, inoculum bactérien (liquide ou matriciel), appliqué à deux dates différentes (1 mois avant le semis, et au moment du semis).

Les résultats ont été décevants puisqu'aucune différence significative des rendements en paille ou en grain du sorgho (plante-test) ne s'est manifestée, quel que soit le traitement appliqué. La raison de cet échec est double :

(1) Le sol lui-même avait perdu pratiquement toute toxicité avant le semis, en raison de l'intervention de pluies anormales en saison sèche.

(2) L'hivernage 1977 a été caractérisé au Sénégal par une très faible pluviométrie, de sorte que pratiquement, dans toutes les expériences au champ, les effets des traitements ont été nivelés par la sécheresse.

Toutefois, il est intéressant de noter (Tableau 5) que l'inoculation avec Enterobacter cloacae, a eu pour effet d'accroître de 10% la teneur en azote total des pailles, lorsque l'inoculum a été appliqué sous forme matricielle. Mais cet effet est à la limite de la signification ( $P = 0,05$ ).

En admettant que cet effet favorable de l'inoculum d'Enterobacter cloacae se confirme, il ne peut, en l'absence de composé phytotoxique, que s'expliquer par une amélioration de la nutrition azotée de la plante. L'hypothèse d'une stimulation de la fixation de  $N_2$  pourrait être retenue, si l'on montrait que les résultats obtenus en vase de végétation (cf 2.2.) étaient extrapolables au champ.

Tableau 5.- Influence de deux types d'inoculation avec Enterobacter cloacae sur le rendement du sorgho en paille (matière sèche et azote) et sur la teneur en azote de ces pailles.

Traitement	Rendement en paille (kg matière sèche/ha)	Teneur des pailles en azote (pour mille)	Rendement en paille (kg N/ha)
Témoin	3.742	3,83	14,2
Inoculum matriciel (10ml par plante)	3.642	4,29	15,0
Inoculum liquide (10ml par plante)	3.457	3,58	12,1

N. B. Les différences entre les 3 traitements ne sont pas significatives. Toutefois, l'analyse statistique indique que l'inoculum matriciel tend à accroître la teneur des pailles en azote, F calculé dans le cas de ce traitement, étant de 4,01, pour F table 4,35 ( P = 0,05 ) .

Ganry et al. (1978) ont établi que les pailles de mil renferment des substances phytotoxiques biodégradables par compostage. L'enfouissement direct des pailles non compostées, même avec un apport d'azote minéral, entraîne toujours une diminution de la croissance des plantes. On ne peut donc envisager l'enfouissement des pailles, que si celles-ci sont rapidement détoxifiées.

L'idée d'appliquer, à la détoxification des pailles, le procédé proposé pour la détoxification des sols cultivés en sorgho, a amené F. Ganry, à effectuer une expérience en microparcelles de 1m<sup>2</sup> cultivées en mil (plante-test).

Au début du cycle végétatif, l'effet favorable de l'inoculation de la paille enfouie avec Aspergillus niger, a été spectaculaire (Fig. 4.).

(Photo Ganry)

Figure 4.- Effet sur la croissance du mil de l'inoculation avec Aspergillus niger, de la paille enfouie dans le sol (sol Dior) .

Microparcelle 22 : paille inoculée avec apport d'azote (urée à la dose de 150 kg/ha).

Microparcelle 23 : paille non inoculée avec le même apport d'urée.

Mais cet effet de l'inoculation s'est progressivement atténué au cours du cycle végétatif, de sorte que les rendements en mil pour les différents traitements, ne furent pas significativement différents. Cette absence d'effet a été attribuée d'une part, à l'intervention de conditions climatiques défavorables (sécheresse) qui ont nivelé les différences entre traitements, d'autre part, à la non-persistance de l'inoculum. Il est également possible qu'un phénomène de compensation dans la nutrition et le développement de la plante soit intervenu. Les essais seront repris dans le cadre de la quatrième expérience évoquée au paragraphe ci-dessus, en utilisant un inoculum matriciel d'Enterobacter cloacae.

## IV.- CONCLUSION

L'objectif fixé initialement était de mettre au point un procédé de détoxication des sols cultivés en sorgho, fondé sur l'emploi d'un champignon cellulolytique, Trichoderma viride. Les premiers essais ont montré qu'un autre champignon, Aspergillus niger, était préférable. Toutefois, les résultats obtenus n'ont pas été pleinement satisfaisants.

On s'est alors orienté vers l'utilisation d'une bactérie, Enterobacter cloacae, l'inoculum étant préparé suivant un procédé original (inoculum en matrice de polymère) pour lequel une demande de brevet a été déposée par l'ANVAR, le 7 avril 1977.

Les résultats de la méthode de détoxication avec Enterobacter cloacae, ont été spectaculaires au stade des essais en vase de végétation. En effet, l'inoculum matriciel d'Enterobacter cloacae, n'a pas seulement permis de détoxifier le sol, mais il a en outre amélioré la nutrition azotée de la plante (accroissement de la fixation de  $N_2$ ), et stimulé très significativement la rhizogénèse.

L'expérimentation effectuée au champ en 1977, n'a pas permis de vérifier la possibilité d'extrapoler dans ces conditions, la technique de détoxication proposée, en raison des facteurs climatiques défavorables. Toutefois, un résultat inattendu et intéressant a été obtenu: il consiste dans la manifestation d'une tendance à l'enrichissement en azote du sorgho inoculé avec Enterobacter cloacae, (inoculum matriciel).

Ces résultats ouvrent la voie à deux possibilités d'application :

(1) élimination de "la fatigue des sols" aussi bien en milieu tempéré (par ex. : aspergeraies, vergers), que dans certains sols tropicaux (cultures céréalières, notamment riz, dans le cas de sols biologiquement peu actifs) .

(2) accroissement de la teneur en azote des céréales (à condition que les résultats préliminaires obtenus puissent être confirmés au champ) .

## V.- PUBLICATIONS

Le problème de la phytotoxicité dans les sols sableux du Sénégal a fait l'objet de trois publications seulement.

a. Publication effectuée par le CRA, Bambey

Chopart J.L., Nicou R., 1971- Effet dépressif de culture répétées de sorgho dans les sols sableux du Sénégal. I.- Premiers essais d'explication. Séminaire CSTR/OUA sur les facteurs du milieu qui influencent le rendement des cultures tropicales, 26-29 juillet.

b. Publication effectuée par le CPB/CNRS, Nancy

Burgos Léon (W.), 1976 - Phytotoxicité induite par les résidus de récolte de Sorghum vulgare dans les sols sableux de l'Ouest Africain. Origine et méthode biologique de détoxification des sols. Thèse de Docteur-Ingénieur, Université de Nancy I.

c. Ganry F., Roger P., Dommergues Y. (1978). A propos de l'enfouissement de pailles dans les sols sableux tropicaux du Sénégal C.R. Acad. Agric. France (sous presse).

Jusqu'à ce jour, aucune publication n'a été consacrée à la diffusion des résultats exposés dans le présent rapport, pour les raisons données dans la fiche de conclusion.