

Comment renforcer la fixation biologique de l'azote

par S.K.A. Danso et D.L. Eskew*

La production agricole, qui a fait un bond en avant au cours des dernières décennies, devra progresser encore plus à l'avenir, la population mondiale ayant elle aussi augmenté de façon spectaculaire. Le surcroît de production enregistré peut être attribué, pour plus de la moitié, à l'utilisation accrue d'engrais inorganiques.

Parmi les éléments nutritifs qu'apportent ces engrais, le plus important est l'azote, auquel on peut imputer, dans certains cas, 75% de l'augmentation observée des rendements. Pour satisfaire les besoins alimentaires futurs, il faudra, de toute évidence, continuer de faire de plus en plus appel aux engrais azotés inorganiques. Mais ceux-ci coûtent cher et risquent, à terme, de polluer l'environnement. Leur fabrication industrielle demande des températures et des pressions élevées, que l'on obtient en brûlant du gaz naturel ou d'autres combustibles fossiles. C'est donc la préparation des engrais qui, dans tous les systèmes de production agricole, du moins mécanisé au plus mécanisé, est l'opération consommant le plus d'énergie: elle représente actuellement 2% de la consommation mondiale de combustibles fossiles. Les pays en développement qui en sont dépourvus doivent importer ou bien les engrais azotés ou bien les combustibles eux-mêmes, ce qui entame sérieusement leurs maigres réserves de devises.

En général, 30 à 50% seulement des engrais azotés inorganiques répandus sont utilisés par les cultures. Le reste est perdu par volatilisation, dénitrification, ou entraînement des nitrates par lessivage dans les eaux souterraines. Dans les pays industrialisés, où de grandes quantités d'engrais inorganiques sont couramment utilisées, la contamination de l'eau de boisson par les nitrates a dans certains cas entraîné de graves risques sanitaires. Ces engrais azotés doivent donc être employés avec le maximum d'efficacité et seulement lorsqu'ils sont indispensables. Plusieurs programmes de recherche coordonnée, conduits par la Section de la fertilité des sols, de l'irrigation et de la production agricole de la Division mixte FAO/AIEA, ont eu pour objectif de trouver la façon la plus efficace d'appliquer des engrais azotés à diverses cultures, en utilisant l'azote ^{15}N comme traceur. Les conclusions de ces études, adoptées dans de nombreux pays, permettent de réaliser chaque année des économies d'engrais azotés représentant plusieurs millions de dollars. Plus récemment, la Section a orienté ses travaux vers le renforcement du processus naturel de fixation biologique de l'azote.

Avant l'apparition des engrais chimiques artificiels, la production agricole était tributaire de la fixation

biologique de l'azote. Depuis la mise au point du procédé industriel Haber-Bosch, elle est devenue de plus en plus dépendante des engrais manufacturés et, selon certaines estimations, la quantité d'azote fixé industriellement approcherait celle de l'azote fixé biologiquement. Pour la plupart des cultures, on obtient un bon rendement avec environ 200 kg N/ha; mais bien que 78% de l'atmosphère soient formés d'azote moléculaire et qu'il y ait donc des centaines de tonnes d'azote au-dessus de chaque hectare de terre, l'azote est l'élément nutritif le plus limitant pour la production végétale. Ce paradoxe vient de ce que les plantes sont incapables d'assimiler directement l'azote atmosphérique (N_2): il faut au préalable briser le lien très stable qui existe entre les deux atomes et incorporer l'azote dans des composés nitriques ou ammoniacaux. Comme on l'a déjà indiqué, cela peut être fait par voie industrielle ou par voie biologique. Si aucune plante n'est capable de fixer biologiquement l'azote atmosphérique, la nature a donné à plusieurs micro-organismes primitifs la faculté de le faire. En s'associant en symbiose avec ces micro-organismes, certains végétaux sont capables d'utiliser indirectement l'azote de l'air pour favoriser leur croissance. Malheureusement pour l'homme, ces associations n'existent pas ou ne sont que faiblement développées dans le cas des céréales telles que le riz, le blé et le maïs, qui sont à la base de notre alimentation. On ne peut donc escompter, pour nourrir l'humanité affamée, que la fixation biologique de l'azote remplacera complètement les engrais azotés manufacturés. Il faut trouver les meilleures combinaisons de végétaux et de micro-organismes aussi que les pratiques agricoles qui permettent d'utiliser le plus efficacement la fixation biologique de l'azote.

L'association symbiotique la plus importante et la mieux connue est celle des bactéries du genre *Rhizobium* avec les légumineuses (voir encadré). Les pois, les graines de soja et les arachides sont des légumineuses que l'on cultive pour la production alimentaire. En Amérique latine et en Afrique, le haricot et le pois à vache sont des sources importantes de protéines dans l'alimentation humaine. Seules les céréales sont consommées en plus grandes quantités que les légumineuses. La luzerne et le trèfle sont des exemples de légumineuses importantes que l'on fait pousser dans les pâturages pour produire du fourrage vert, et certaines légumineuses arbustives sont également utilisées en sylviculture.

Les légumineuses sont mises à contribution par l'agriculture depuis des centaines d'années, mais ce n'est qu'au début du siècle que l'on s'est aperçu qu'elles pouvaient fixer indirectement l'azote atmosphérique, grâce à leur association avec le *Rhizobium*. Depuis cette époque, de grands progrès ont été faits dans la compréhension des facteurs de génétique bactérienne et végétale

* Les auteurs sont des membres de la Section de la fertilité des sols, de l'irrigation et de la production agricole à la Division mixte FAO/AIEA.

La symbiose *Rhizobium*-légumineuse

Le *Rhizobium* est une bactérie qui infecte les racines des légumineuses et donne naissance à des excroissances de type tumoral appelées nodosités. Le centre de chaque nodosité mature contient des milliards de bactéries qui fixent l'azote. La légumineuse hôte fournit l'énergie nécessaire à cette fixation en capturant l'énergie du soleil par le phénomène de la photosynthèse. Le rendement global de cette symbiose complexe dépend donc du rendement de chacun des deux organismes associés. Leurs caractéristiques génétiques revêtent donc une très grande importance, de même que la façon dont s'exerce leur interaction. En outre, tout facteur nutritionnel ou environnemental influant soit sur la bactérie, soit sur la légumineuse, se répercute sur le rendement global de la symbiose. La complexité de cette dernière impose absolument que l'on effectue des recherches sur le terrain, où tous les facteurs peuvent être pris en considération.

réglant la symbiose, la biochimie des enzymes qui entrent en jeu, et les conditions nutritionnelles et environnementales qui influent sur le fonctionnement du système. Toutefois, la mesure des quantités d'azote effectivement fixées restait difficile, et ce pour deux raisons. D'une part, la symbiose a lieu dans les nodosités qui se trouvent sur les racines des plantes, donc en sous-sol, de sorte que pour faire des mesures, il fallait perturber le système en déterrando les plantes. D'autre part, les légumineuses, comme n'importe quelle autre plante, utilisent aussi bien l'azote du sol et des engrais que l'azote provenant de leur association symbiotique. Une fois que l'azote du sol ou des engrais est absorbé, on ne peut plus le distinguer de celui qui est dû à la symbiose. Par conséquent, il est difficile de savoir si un traitement, qui se traduit par une augmentation de la quantité d'azote contenu dans une plante, a eu pour effet d'accroître la fixation d'azote ou bien l'absorption de l'azote contenu dans le sol ou dans l'engrais.

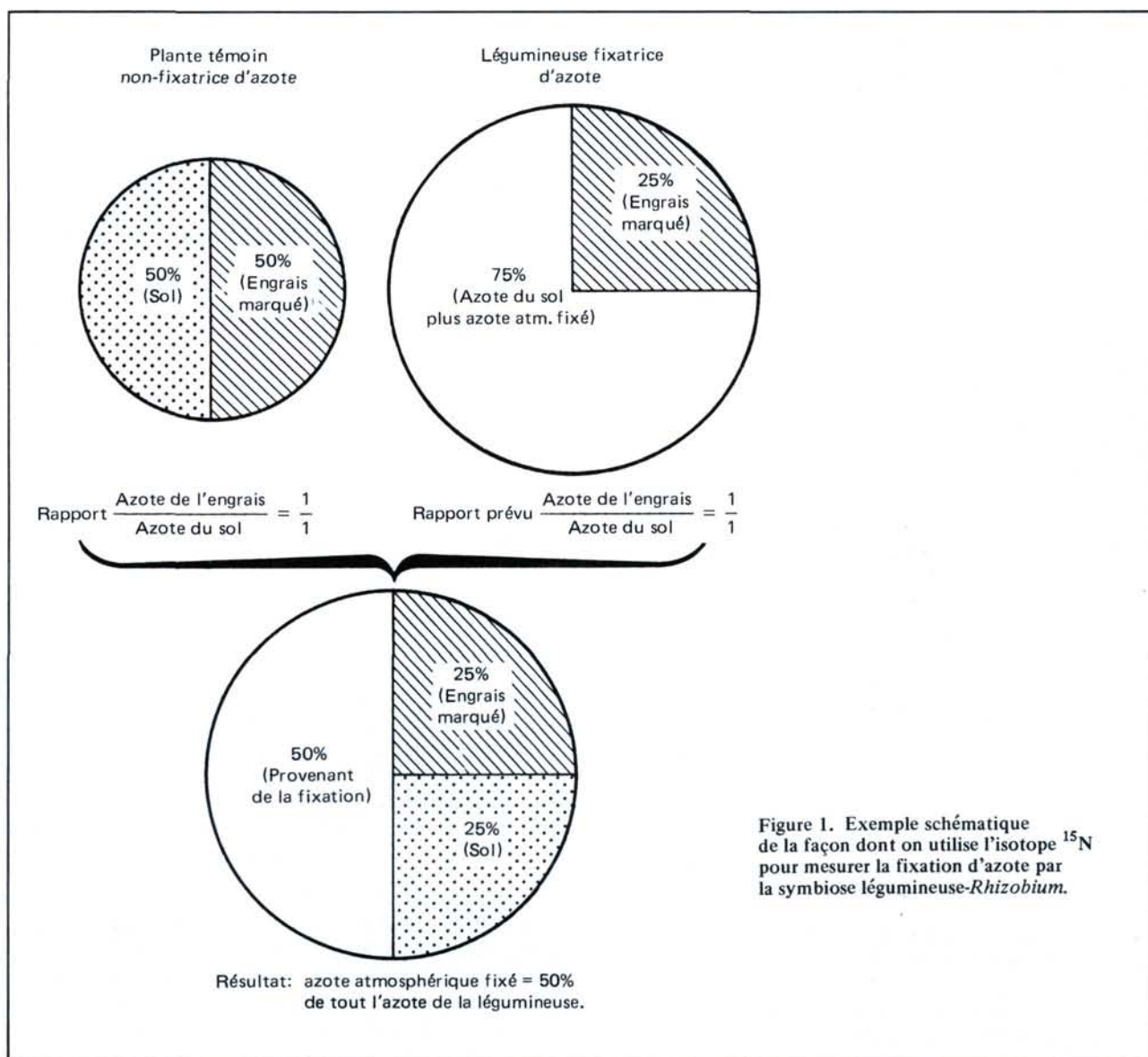


Figure 1. Exemple schématique de la façon dont on utilise l'isotope ^{15}N pour mesurer la fixation d'azote par la symbiose légumineuse-*Rhizobium*.

La Section de la fertilité des sols, de l'irrigation et de la production agricole, en collaboration avec la Section des sols du Laboratoire de biotechnologie agricole FAO/AIEA de Seibersdorf, a apporté d'importantes contributions à la mise au point d'une technique de plein champ fondée sur l'emploi de ^{15}N , qui permet de faire des estimations plus simples et plus précises qu'auparavant de la fixation biologique de l'azote atmosphérique [1]. On applique un engrais marqué à ^{15}N à une plante «témoin» non fixatrice d'azote pour déterminer la quantité d'azote du sol et de l'engrais qu'elle assimile, puis on fait pousser une légumineuse fixatrice d'azote en appliquant le même engrais marqué afin de déterminer la quantité fixée. La figure 1 illustre schématiquement cette expérience. La partie supérieure gauche montre le cas hypothétique dans lequel une plante témoin non fixatrice tire la moitié de son azote du sol et l'autre moitié de l'engrais marqué à ^{15}N . Il faut alors supposer que la légumineuse utilisera le sol et l'engrais marqué à ^{15}N dans le même rapport de 1 sur 1. Dans le cas limite où l'azote n'est pas fixé, l'enrichissement en ^{15}N sera identique pour la plante témoin et pour la légumineuse. La partie supérieure droite de la même figure illustre le cas où la légumineuse fixatrice d'azote tire une partie de ce dernier de l'atmosphère. En combinant les renseignements contenus dans les deux diagrammes du haut, on peut déterminer la contribution relative de l'azote du sol, de l'engrais et de l'air, comme le montre le diagramme du bas. Dans la légumineuse, la quantité d'azote provenant de l'engrais marqué diminue proportionnellement à la quantité d'azote tiré de l'atmosphère; dans ce cas, la diminution est de 50%. Cette méthode est désormais considérée dans le monde entier comme la plus directe, la plus pratique et la plus utile pour mesurer sur le terrain la quantité d'azote fixé.

Elle a été et continue d'être utilisée dans plusieurs des programmes de recherche coordonnée de la Section de la fertilité des sols, de l'irrigation et de la production agricole. Elle a été appliquée dans le cadre d'un programme destiné à mesurer les effets de l'apport d'engrais azotés et phosphatés sur la fixation d'azote et de comparer la faculté de fixation de diverses variétés de légumineuses alimentaires. Elle est employée actuellement pour mesurer l'apport d'azote de plusieurs légumineuses, que l'on fait pousser, dans des systèmes de polyculture, soit en même temps que du maïs, du sorgho ou d'autres cultures, soit en alternance avec elles. Le principe est que l'azote fixé par la légumineuse peut être assimilé par l'autre culture. Grâce à l'emploi de ^{15}N , on peut donc mesurer la quantité d'azote rendu disponible et modifier les pratiques culturales pour obtenir un avantage maximal. L'isotope ^{15}N est également utilisé dans un programme qui a le soutien du Gouvernement italien et qui vise à améliorer l'exploitation des pâturages. Il est courant de mélanger des légumineuses à des graminées dans les pâturages pour accroître la quantité de protéines du fourrage. Avec ^{15}N , on peut déterminer quelles méthodes d'exploitation augmentent la fixation d'azote. Tout récemment a été entrepris un programme sur l'utilisation de la symbiose *Azolla-Anabaena* pour fournir de l'azote aux rizières inondées.

L'intérêt que présente l'utilisation de ^{15}N pour mesurer la fixation de l'azote est illustré par le fait que

Tableau 1. Variation de l'aptitude à fixer l'azote de différentes variétés de *Phaseolus* (haricot) au Brésil et du soja en Grèce

Variété de <i>Phaseolus</i>	kg N/ha fixé
Goiana precoce	24,6
Moruna	37,1
Carioca precoce	46,2
Costa Rica	57,9
Carioca	65,0
Variété de soja	kg N/ha fixé
Chippewa	54,0
Williams	215,6
Amsoy-71	247,4

nombre des résultats déjà obtenus dans le cadre du programme consacré aux légumineuses alimentaires n'auraient pu l'être autrement. Un programme de recherche coordonnée sur la fixation de l'azote par ces légumineuses a été entrepris en 1979, avec l'appui de l'Office suédois pour le développement international et la participation de scientifiques de 19 Etats Membres. La principale découverte est que l'aptitude fixatrice diffère sensiblement selon les espèces de légumineuses et que, au sein d'une même espèce, il y a d'importantes différences d'une variété à l'autre. De plus, les expériences réalisées dans de nombreux pays ont montré que ces différences subsistaient dans des conditions environnementales très diverses. On a ainsi constaté par exemple, que le haricot (*Phaseolus vulgaris*), très répandu en Amérique latine, était un très mauvais fixateur d'azote, avec des taux de 30 à 60 kg N/ha au Mexique, au Brésil, de même qu'au Kenya, tandis que la fève à cheval (*Vicia faba*, var. *equina*) était un excellent fixateur, avec 150 à 300 kg N/ha en Egypte et en Autriche. Il est vrai que d'autres techniques avaient déjà conduit à des conclusions similaires, mais les renseignements disponibles étaient trop peu nombreux et provenaient de trop peu de sources. Grâce aux données obtenues dans le cadre de ce programme, on peut maintenant s'employer à accroître la fixation d'azote sur les cultures qui en ont le plus besoin. Un programme vient d'être entrepris en vue d'améliorer l'aptitude fixatrice de *Phaseolus*.

L'utilisation de l'isotope ^{15}N a également permis d'établir que la faculté des légumineuses de fixer l'azote différait d'une variété à l'autre, et même d'une plante à l'autre. Le tableau 1 fournit des exemples pour diverses variétés de *Phaseolus* au Brésil [2] et de soja en Grèce. Malgré le petit nombre de variétés prises en compte, la quantité d'azote fixé a varié dans un rapport de 1 à 2,6 pour *Phaseolus* et de 1 à 4,6 pour le soja.

La quantité d'azote effectivement fixé par une légumineuse dépend non seulement des caractéristiques génétiques des bactéries et de la plante hôte, mais aussi de l'environnement et des pratiques agricoles. Parmi

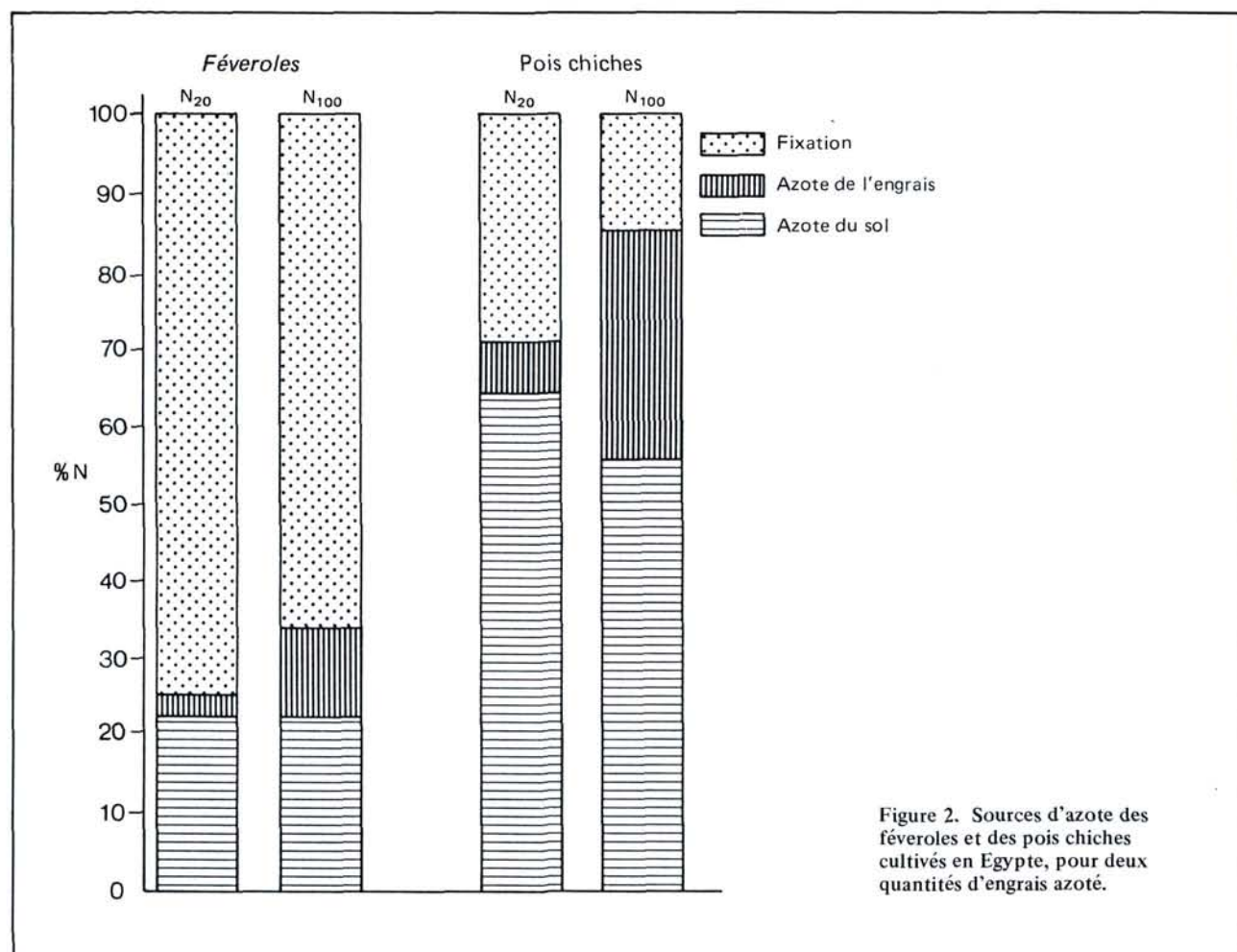


Figure 2. Sources d'azote des féveroles et des pois chiches cultivés en Egypte, pour deux quantités d'engrais azoté.

ces dernières, l'épandage d'engrais phosphorés et azotés joue un rôle important. Au Kenya, l'application à des haricots *Phaseolus* de 150 kg/ha de phosphore a accru le rendement des semences de 62% et la fixation moyenne d'azote à 60 kg/ha (contre 8kg). Au Pakistan, dans une expérience faite avec des haricots velus, on a porté la quantité d'engrais phosphatés de 25 à 35 kg P/ha ce qui a fait passer la fixation d'azote de 20 à 48 kg/ha. Dans ce cas, la possibilité grâce à l'isotope ^{15}N , de distinguer l'azote du sol de l'azote atmosphérique était particulièrement importante, car la teneur totale en azote n'a que faiblement augmenté. Ainsi, les haricots velus ayant reçu la plus grande quantité d'engrais phosphatés ont en fait absorbé moins d'azote du sol, par suite de l'accroissement de la fixation.

Il est bien établi que lorsque l'on fait pousser des légumineuses dans des sols contenant beaucoup d'azote, le taux de fixation de l'azote est réduit. Mais lorsque ces légumineuses entrent dans des systèmes de culture mixte ou de polyculture, il est encore souvent nécessaire d'ajouter des engrais azotés aux composants non légumineux. Il faut donc identifier les espèces ou les variétés de légumineuses qui continuent de fixer l'azote atmosphérique même lorsqu'on ajoute de l'azote par un épandage d'engrais. En comparant les effets de

20 et 100 kg N/ha sur la féverole (*Vicia faba*, var. *minor*) et sur le pois chiche en Egypte, on a constaté que le second fixait beaucoup moins d'azote que la première (fig.2), et qu'il serait donc peut-être plus judicieux d'utiliser *Vicia faba* que le pois chiche en polyculture.

L'utilisation de l'isotope ^{15}N s'est révélée très efficace dans les études de la symbiose légumineuse-*Rhizobium*; elle a permis de faire beaucoup plus d'expériences qu'auparavant et d'obtenir de nombreux renseignements pratiques nouveaux. La Section des sols s'attache actuellement à étendre l'application de cette technique à d'autres symbioses fixant l'azote.

La symbiose de la fougère d'eau *Azolla* (dont on connaît six espèces) avec l'algue bleue fixatrice d'azote *Anabaena azollae* peut fournir de grandes quantités d'azote aux rizières inondées [3]. L'algue bleue vit dans une cavité de la feuille de fougère, à laquelle elle fournit de l'azote. Cette symbiose est capable de croître très rapidement dans des milieux qui ne contiennent pas d'azote chimiquement combiné (fig. 3). Dans de bonnes conditions, elle peut, en deux semaines, fixer 30 kg d'azote par hectare. Si les possibilités offertes par cette symbiose ne retiennent l'attention de la communauté internationale que depuis peu, *Azolla* est utilisée depuis

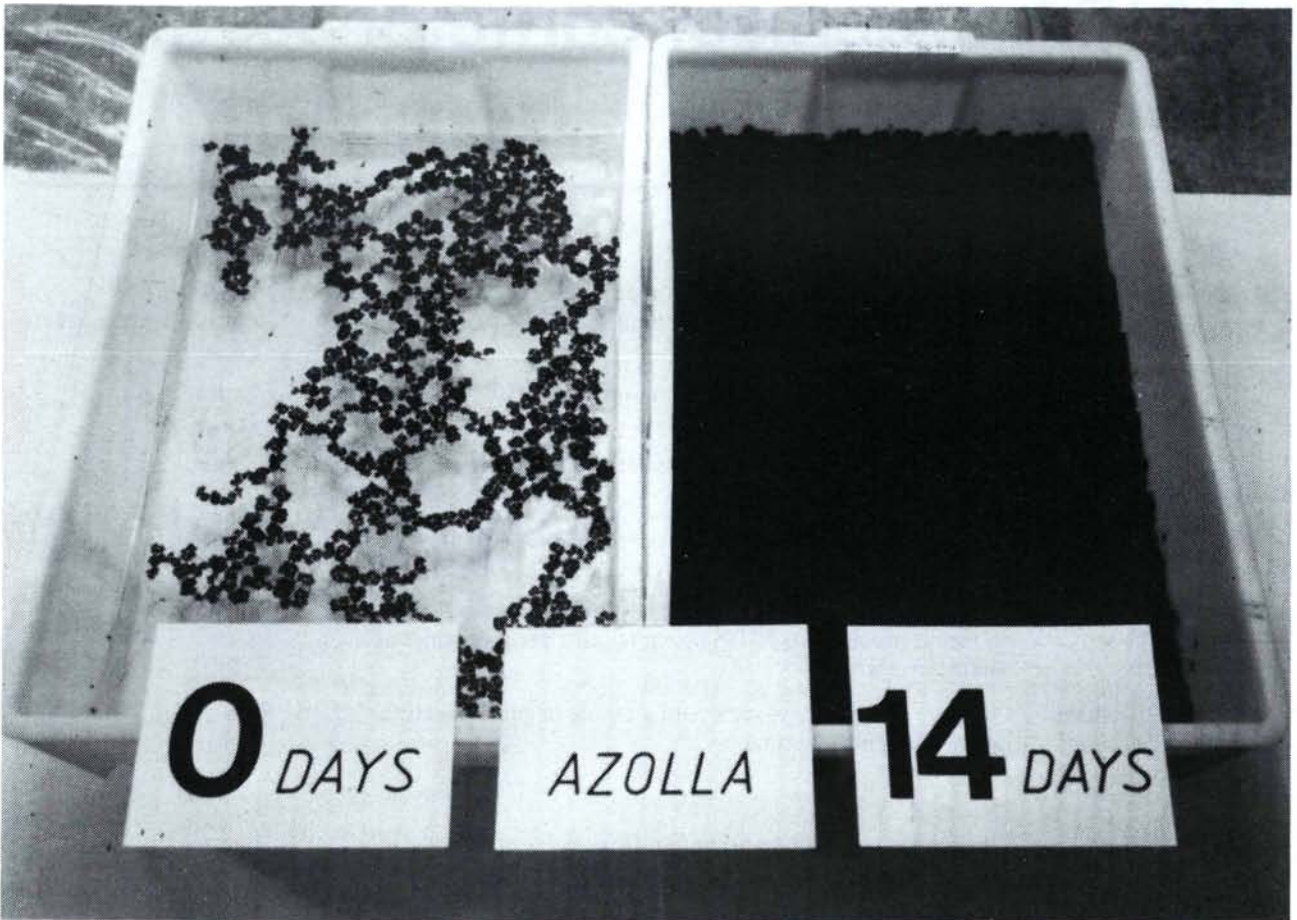


Figure 3. La croissance rapide dont est capable *Azolla* est illustrée par les plantes poussant dans ces deux plateaux: celles de droite ont deux semaines de plus que celles de gauche.

des siècles en Chine méridionale et au Viet Nam pour fournir de l'azote aux rizières inondées. L'azote fixé étant assimilé dans la biomasse de la fougère, il n'est pas directement utilisable pour le riz. Pour que celui-ci en profite, il faut incorporer la fougère dans le sol et la laisser se décomposer. Un nouveau programme de recherche coordonnée prévoit l'application de techniques faisant appel à ^{15}N pour quantifier la quantité d'azote fixée par la symbiose *Azolla-Anabaena* dans des conditions de terrain réalistes, et pour mettre au point des pratiques optimales en vue d'accroître l'efficacité avec laquelle le riz utilise l'azote ainsi fixé.

Références

- [1] M. Fried et H. Broeshart. *An independent measure of the amount of nitrogen fixed by a legume crop*. Plant and Soil **43**, 707–711 (1975).
- [2] A.P. Ruschel, P.B. Vose, E. Matsui, R.L. Victoria et S.M.T. Saito. *Field evaluation of N_2 -fixation and N-utilization by Phaseolus bean varieties determined by ^{15}N isotope dilution*. Plant and Soil **65**, 397–407 (1982).
- [3] I. Watanabe, B. Kezhi, N.S. Berja, C.R. Espinas, O. Ito et B.P.R. Subudhi. *The Azolla-Anabaena complex and its use in rice culture*. IRRI Research Paper Series 69 (1981).