

**MICROBIOLOGIE.** — *Non-inhibition de la fixation d'azote atmosphérique par l'azote combiné chez une légumineuse à nodules caulinaires, Sesbania rostrata.* Note (\*) de **Bernard Dreyfus** et **Yvon Dommergues**, présentée par Roger Buvat.

L'azote combiné du milieu nutritif stimule la nodulation caulinaire de *S. rostrata* ainsi que son activité fixatrice d'azote mesurée par la méthode à l'acétylène.

*Sesbania rostrata, a legume with the ability to nodulate on both roots and stems, was hydroponically grown in test-tubes in order to check its ability to nodulate and fix nitrogen in the presence or absence of combined nitrogen ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 3 mM). In each case, inoculation treatments were as follows:  $T_1$  and  $T_5$ , no inoculation;  $T_2$  and  $T_6$ , root inoculation;  $T_3$  and  $T_7$ , root and stem inoculation;  $T_4$  and  $T_8$ , stem inoculation. Whereas root nodulation was strongly inhibited by combined nitrogen, stem nodulation and related nitrogen fixation (acetylene reduction) was not only unaffected but even enhanced.*

Il est établi que des doses relativement élevées d'azote combiné inhibent les deux phases principales de la symbiose : la nodulation et la fixation d'azote ([1], [2]). L'intensité de cette inhibition varie en outre suivant la forme de l'azote combiné; l'azote ammoniacal ou l'urée [3] ont un effet beaucoup moins marqué que le nitrate. Deux hypothèses, d'ailleurs imprécises, ont été avancées pour expliquer cette inhibition [1]. La première suppose que le nitrate supprime la nodulation en améliorant la nutrition azotée de la plante ou en augmentant le rapport azote sur « hydrate de carbone ». La seconde hypothèse qui concerne uniquement la nodulation, est fondée sur l'action locale des nitrates sur le système racinaire : les nitrites provenant de la réduction des nitrates inhiberaient le processus d'infection et de nodulation par interférence avec l'indole-3-acétate (IAA) [4].

Nous rapportons ici le cas du système fixateur constitué par une Légumineuse, *Sesbania rostrata* (Brem.) [5], dotée de nodules caulinaires, chez laquelle la nodulation et la fixation d'azote par ces nodules ne sont pas inhibées par des concentrations élevées de nitrates.

*Sesbania rostrata*, Légumineuse tropicale se développant dans les sols inondés de l'Afrique de l'Ouest, présente des nodules fixateurs d'azote à la fois sur les racines et sur les tiges. Dans une publication à paraître par ailleurs, nous rapportons que l'infection de la tige de cette Légumineuse par des *Rhizobium* spécifiques se fait au niveau des lenticelles disposées en ligne (fig.) et que des plantes atteignant 3 m de haut portent de 15 à 40 g de nodules caulinaires. Grâce à cette nodulation caulinaire abondante, l'activité fixatrice d'azote de la plante mesurée par la méthode à l'acétylène [6], est de 550  $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4/\text{h/plante}$ . Cette activité est deux fois plus élevée que les plus hautes activités signalées chez le Soja [7].

**MATÉRIEL ET MÉTHODES.** — La souche de *Rhizobium* utilisée (ORS 571) a été isolée et purifiée à partir d'un nodule de tige de *S. rostrata* en utilisant la méthode classique, et maintenue sur milieu gélosé au mannitol et à l'extrait de Levure [8]. Le même milieu, liquide, a été utilisé pour la préparation d'un inoculum renfermant  $10^9$  cellules/ml.

En vue d'obtenir une germination rapide et régulière, les graines ont été trempées et stérilisées pendant 20 mn dans l'acide sulfurique concentré, puis rincées abondamment à l'eau stérile et mises à germer sur couche de gélose molle en boîte de Petri. Après 24 h, chaque plantule a été mise en culture hydroponique sur un tube de 30 x 170 mm contenant le milieu nutritif et muni d'un capuchon constitué par une double feuille d'aluminium percée d'un trou. La racine a été introduite dans le tube de façon à baigner dans le milieu nutritif, la tige restant à l'air libre [8]. Afin d'obtenir des plantes homogènes et assez développées pour comporter des lenticelles sur les tiges, il a été nécessaire de maintenir les plantes pendant 10 jours sur un milieu azoté (A), milieu de Jensen [8] additionné de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (0,4 mM).

**C.R.S.T.O.M.**

**Fonds Documentaire**

N° : 81/80/00 105 ex 4

Cote : B

Date : 13 MARS 1981

La mesure de l'activité réductrice d'acétylène (ARA) des nodules a été faite suivant la procédure classique par chromatographie en phase gazeuse [6].

La partie aérienne des plantes, nodules compris, a été séchée pendant 2 jours à 60°C, pesée, broyée et l'azote total déterminé par la méthode Kjeldahl.



Tige de *Sesbania rostrata* portant des nodules caulinaires disposés en lignes tangentielles correspondant aux lignes de lenticelles. La barre présente 1 cm

DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL. — Le principe de l'expérience a été de comparer la nodulation et la fixation d'azote de jeunes plants de *S. rostrata* comportant soit uniquement des nodules racinaires, soit uniquement des nodules caulinaires, soit les deux types de nodules, cultivés en présence ou en l'absence d'azote combiné. Pratiquement, on a soumis un lot de 40 plants âgés de 10 jours, obtenus comme indiqué ci-dessus, aux 8 traitements rapportés dans le tableau. Au moment où l'on a démarré l'expérience proprement dite, le milieu A a été vidé à l'aide d'une seringue reliée à une pompe aspirante et remplacé par le milieu de Jensen normal, c'est-à-dire sans azote (milieu JO) ou par le milieu de Jensen additionné

de  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  (3 mM) (milieu JN). Les racines ont été alors inoculées avec la souche ORS 571 suivant la méthode classique et les tiges inoculées avec la même souche par pulvérisation au niveau des lenticelles. De nouvelles lenticelles apparaissant au cours de la croissance de la plante, une nouvelle inoculation de la tige a été effectuée 1 semaine après la première. Les nodules caulinaires et racinaires ont été visibles 3 à 4 jours après l'inoculation. Le milieu JN a été entièrement renouvelé tous les 4 jours pendant 1 semaine, puis tous les 2 jours jusqu'à la fin de l'expérience. Le milieu JO a été complété au fur et à mesure de la baisse du niveau dans chaque tube.

TABLEAU  
Nodulation et fixation d'azote (ARA) par *Sesbania rostrata*  
en présence et en absence d'azote combiné

Traitement	Partie de la plante inoculée	Partie aérienne poids frais (g/plante)	Nodules, poids frais (mg/plante)	ARA (nm $\text{C}_2\text{H}_4/\text{h}/$ plante)	Azote total, partie aérienne (%)	Azote total, partie aérienne (mg/plante)
JO :						
T 1. ....	Aucune	0,5 c	0	0	0,96 d	0,9 d
T 2. ....	Racines	3,0 b	275 a	5946 a	3,02 a	14,2 c
T 3. ....	{ Racines et tiges }	{ 3,4 b }	{ (R) 246 b (T) 91 d }	{ (R) 5403 ab (T) 2639 d }	{ 3,04 a — }	{ 15,8 bc }
T 4. ....	Tiges	1,0 c	65 d	1448 d	2,60 ab	4,4 d
JN :						
T 5. ....	Aucune	5,8 a	0	0	1,86 c	14,5 c
T 6. ....	Racines	5,9 a	27 e	148 e	2,06 bc	16,5 bc
T 7. ....	{ Racines et tiges }	{ 6,0 a }	{ (R) 23 e (T) 133 c }	{ (R) 95 e (T) 3944 c }	{ 3,11 a }	{ 26,1 a }
T 8. ....	Tiges	5,6 a	160 c	4545 bc	3,03 a	23,7 ab

JO, milieu nutritif sans azote; JN, milieu nutritif avec azote ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ; 3 mM). Dans le cas de l'inoculation simultanée des racines et des tiges (T 3 et T 7), les résultats concernant le poids des nodules et l'ARA sont donnés séparément pour les nodules caulinaires (T) et racinaires (R).

Dans chaque colonne, ne sont pas significativement différentes ( $P=0,05$ ) les moyennes suivies de la même lettre (Test de Duncan [9]).

RÉSULTATS ET DISCUSSION. — Le tableau donne les résultats de ces traitements pour la croissance, la nodulation et la fixation d'azote des plants de *S. rostrata* récoltés 3 semaines après l'inoculation. Les plantes nodulées cultivées sur le milieu sans azote (JO) sont beaucoup moins développées que les plantes cultivées sur le milieu avec azote (JN), car, du fait de la courte durée de l'expérience, la fixation d'azote est intervenue relativement tardivement dans la nutrition azotée des plantes. En outre, nous avons observé que la fixation d'azote par les nodules caulinaires avait démarré plus tard que celle des nodules racinaires.

La nodulation racinaire est fortement inhibée sur milieu azoté (JN), comme c'est le cas pour les autres Légumineuses. Par contre, sur le même milieu azoté, la nodulation caulinaire n'est pas diminuée; bien plus, elle est augmentée, vraisemblablement en raison de

l'augmentation du nombre de sites d'infection (lenticelles) et de la capacité photosynthétique de la plante. On observe les mêmes effets en ce qui concerne la fixation d'azote par plante (ARA). Dans le cas du milieu JN, il est remarquable de constater que ce sont des plantes pourvues de nodules caulinaires (avec ou sans nodules racinaires) qui ont le rendement en azote total le plus élevé, suggérant que ces plantes ont utilisé à la fois l'azote combiné et l'azote de l'air. Cette interprétation devra, bien entendu, être confirmée ultérieurement à l'aide de la méthode isotopique.

Ces résultats présentent un triple intérêt. Ils renforcent la théorie de l'action inhibitrice locale des nitrates vis-à-vis de la nodulation racinaire. Ils montrent qu'il existe chez les Légumineuses au moins un système (*S. rostrata* pourvu de nodules caulinaires) capable d'utiliser simultanément l'azote combiné à dose élevée et l'azote de l'air. Sur le plan agronomique, on peut penser que le transfert du caractère « nodulation caulinaire » à d'autres Légumineuses permettrait de résoudre enfin le problème de l'incompatibilité entre la nutrition azotée à partir du sol et la fixation symbiotique de l'azote.

(\*) Remise le 13 octobre 1980.

[1] D. N. MUNNS, in *A Treatise on Dinitrogen Fixation*, R. W. HARDY et A. H. GIBSON, éd. IV, Wiley, New York, 1977, p. 353.

[2] J. S. PATE, in *A Treatise on Dinitrogen Fixation*, R. W. HARDY et W. S. SILVER, éd. III, Wiley, New York, 1977, p. 473.

[3] J. T. VIGUE, J. E. HARPER, R. H. HAGEMAN et D. B. PETERS, *Crop Sc.*, 17, 1977, p. 169.

[4] M. YATAZAWA et S. YOSHIDA, *J. Sc. Soil manure*, 38, 1967, p. 379.

[5] J. BERHAUT, *Flore illustrée du Sénégal*, 5, Clairafrique, Dakar, 1976, p. 515.

[6] R. W. HARDY, R. D. HOLSTEN, E. K. JACKSON et R. C. BURNS, *Plant Physiol.*, 43, 1968, p. 1185.

[7] R. J. LAWN et W. A. BRUN, *Crop Sc.*, 14, 1974, p. 22.

[8] J. M. VINCENT, in *A Manual for the Practical Study of Rootnodule Bacteria*, Blackwell, Oxford, 1970, p. 83.

[9] D. B. DUNCAN, *Biometrics*, 11, 1955, p. 1.

O.R.S.T.O.M./C.N.R.S.,  
Laboratoire de Microbiologie du Sol,  
B.P. n° 1386, Dakar, Sénégal.