

PUBLICATIONS DE L'INSTITUT NATIONAL  
POUR L'ÉTUDE AGRONOMIQUE DU CONGO BELGE  
( I. N. É. A. C. )

---

Symbiose  
*Rhizobium* - Légumineuses  
en région équatoriale

(Deuxième communication)

PAR

**Charles BONNIER**

et

**Jacques SEEGER**

Chef de Travaux à l'Institut agronomique  
de l'État à Gembloux  
Associé du Fonds National de la  
Recherche Scientifique  
Chargé de mission de l'I.N.É.A.C.

Ingénieur agronome Gx  
Assistant à la Division  
d'Agrologie  
de l'I.N.É.A.C.

---

SÉRIE SCIENTIFIQUE N° 76

1958

---

---

PRIX : 80 F

---

INSTITUT NATIONAL POUR L'ÉTUDE AGRONOMIQUE DU CONGO BELGE  
I. N. É. A. C.

(A. R. du 22-12-33 et du 21-12-39).

L'INÉAC, créé pour promouvoir le développement scientifique de l'agriculture au Congo belge, exerce les attributions suivantes :

1. Administration de Stations de recherches dont la gestion lui est confiée par le Ministère du Congo belge et du Ruanda-Urundi.
2. Organisation de missions d'études agronomiques et formation d'experts et de spécialistes.
3. Etudes, recherches, expérimentation et, en général, tous travaux quelconques se rapportant à son objet.

**Administration :**

**A. — COMMISSION**

*Président :*

S.A.R. le prince ALBERT de Belgique.

*Vice-Président :*

M. JURION, F., Directeur général de l'I.N.É.A.C.

*Secrétaire :*

M. LEBRUN, J., Secrétaire général de l'I.N.É.A.C.

*Membres :*

- MM. BOUILLENNE, R., Membre de l'Académie Royale des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique;
- BRIEN, P., Membre de l'Académie Royale des Sciences Coloniales;
- DEBAUCHE, H., Professeur à l'Université Catholique de Louvain;
- DE BRUYNE, E., Président du Conseil Académique de l'Institut Universitaire des Territoires d'Outre-Mer, à Anvers;
- DE WILDE, L., Professeur à l'Institut Agronomique de l'État, à Gand;
- DONIS, C., Professeur à l'Institut Agronomique de l'État, à Gembloux;
- GEURDEN, L., Professeur à l'École de Médecine Vétérinaire de l'État, à Gand;
- GILLIEAUX, P., Membre du Comité Cotonnier Congolais;
- GUILLAUME, A., Président du Comité Spécial du Katanga;
- HELBIG DE BALZAC, L., Président du Comité National du Kivu;
- HENRARD, J., Directeur de l'Agriculture, Forêts, Elevage et Colonisation, au Ministère du Congo belge et du Ruanda-Urundi;
- HOMÈS, M., Professeur à l'Université Libre de Bruxelles;
- JANSENS, P., Directeur de l'Institut de Médecine Tropicale « Prince Léopold », à Anvers;
- MAQUET, M., Vice-Président du Comité de Direction de l'Institut des Parcs Nationaux du Congo belge;
- OPSOMER, J., Professeur à l'Institut Agronomique de Louvain;
- PEETERS, G., Professeur à l'Université de Gand;
- PONCELET, L., Météorologiste, Chef du Service de Climatologie, à l'Institut Royal Météorologique, à Uccle;
- ROBYNS, W., Membre de l'Académie Royale Flamande des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique;



Symbiose  
*Rhizobium* - Légumineuses  
en région équatoriale  
(Deuxième communication)



PUBLICATIONS DE L'INSTITUT NATIONAL  
POUR L'ÉTUDE AGRONOMIQUE DU CONGO BELGE  
( I. N. É. A. C. )

Symbiose  
*Rhizobium* - Légumineuses  
en région équatoriale  
(Deuxième communication)

PAR

**Charles BONNIER**  
Chef de Travaux à l'Institut agronomique  
de l'État à Gembloux  
Associé du Fonds National de la  
Recherche Scientifique  
Chargé de mission de l'I.N.É.A.C.

et

**Jacques SEEGER**  
Ingénieur agronome Gx  
Assistant à la Division  
d'Agrologie  
de l'I.N.É.A.C.

SÉRIE SCIENTIFIQUE N° 76

1958



## TABLE DES MATIÈRES

	Pages
AVERTISSEMENT . . . . .	9
<i>Chapitre premier.</i> — Nouvelles observations « in situ » . . . . .	11
1. Plantes cultivées . . . . .	11
2. Plantes spontanées . . . . .	16
3. Conclusions : la fonction de la symbiose, considérée du point de vue de l'écologie agricole générale . . . . .	17
<i>Chapitre II.</i> — Isolement de souches . . . . .	22
1. Isolements à partir de Légumineuses . . . . .	22
2. Isolements à partir de Rubiacées . . . . .	26
<i>Chapitre III.</i> — Cultures aseptiques . . . . .	26
1. Matériel et méthodes . . . . .	26
2. Observations . . . . .	28
3. Conclusions . . . . .	28
<i>Chapitre IV.</i> — Techniques d'inoculation . . . . .	29
1. Préparation des inoculum . . . . .	30
2. Conditionnement des substrats . . . . .	37
3. Quantité d'inoculum à utiliser . . . . .	38
4. Remarques générales concernant les techniques d'inoculation pratique . . . . .	39
<i>Chapitre V.</i> — Essais en vases de végétation . . . . .	42
1. Matériel et méthodes . . . . .	42
2. Observations et conclusions . . . . .	43
<i>Chapitre VI.</i> — Essais en champs, dans les conditions de la pratique agricole . . . . .	44
1. Au Centre de Yangambi . . . . .	44
2. En dehors du Centre de Yangambi . . . . .	55
3. Conclusions des essais en champs . . . . .	56



## CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PROBLÈMES PARTICULIERS A RÉSOUDRE

1. Possibilités offertes . . . . .	58
2. Comment réaliser ce but? . . . . .	59
3. Techniques d'inoculation . . . . .	60
4. Problèmes matériels posés par la préparation des produits destinés à l'inoculation . . . . .	62
5. L'inoculation dans les régions autres que la Cuvette équatoriale . . .	62
6. La réinoculation sera-t-elle nécessaire dans les sols ayant porté précédemment une légumineuse inoculée? . . . . .	62
BIBLIOGRAPHIE . . . . .	65

## AVERTISSEMENT

*A l'issue du nouveau séjour que nous avons pu effectuer en 1957, au Centre de Recherches de l'I.N.É.A.C. à Yangambi, nous tenons à remercier M. le Professeur Paul MANIL, pour l'encouragement et l'aide qu'il nous a prodigués tout au long de notre travail.*

*Nous sommes heureux d'exprimer ici nos sentiments de profonde gratitude à MM. les Membres du Comité de Direction de l'I.N.É.A.C., à M. F. JURION, Directeur général, et à M. le Professeur J. LEBRUN, Secrétaire général, pour la confiance qui nous fut témoignée ainsi que pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu accorder à nos efforts.*

*M. HENRY, Directeur général en Afrique, a suivi de très près nos travaux et a mis tout en œuvre pour faciliter leur réalisation; nous l'en remercions vivement.*

*M. BERNARD, Directeur du Centre de Recherches de Yangambi, nous a très aimablement fourni l'occasion d'entretiens féconds avec les représentants de toutes les Stations de l'Institut.*

*Notre travail a pu être mené à bien grâce à la collaboration active des diverses Divisions du Centre de Recherches de Yangambi.*

*Nous nous souviendrons avec sympathie des travailleurs congolais de la Division d'Agrologie, qui ont toujours accepté avec beaucoup de bonne volonté les efforts particuliers qui leur furent souvent demandés pour terminer, aux champs, des besognes urgentes.*



## CHAPITRE PREMIER

### NOUVELLES OBSERVATIONS « IN SITU »

#### 1. Plantes cultivées.

Il s'agit ici d'observations effectuées, soit sur des espèces non encore étudiées, sur lesquelles notre attention a été attirée au cours de notre mission, soit sur des espèces déjà observées antérieurement, à propos desquelles de nouvelles données ont pu être recueillies.

*Mucuna pruriens* (MEDIK.) DC. var. *utilis* (WALL.) BAK. ex BURCK.

Cette espèce, particulièrement la variété *utilis*, apparaît aux yeux des spécialistes comme offrant un certain intérêt en tant que plante fourragère et de sidération. Une analyse effectuée sur un échantillon moyen (tiges et feuilles), prélevé dans une parcelle où la nodulation était cependant insuffisante, nous a donné une teneur en azote de la matière sèche de 3,19 % (1).

L'appareil végétatif de cette légumineuse annuelle peut être abondant et fournir, au fur et à mesure de sa croissance, des déchets organiques, en couche épaisse, favorables, selon nous, à la protection du sol.

Les nodules radiculaires de *Mucuna* sont, assez souvent, de forme très irrégulière; ils apparaissent en grappes comprenant de nombreuses digitations et formant une masse arrondie qui peut atteindre 2 cm de diamètre.

Des plants de *Mucuna* ont été observés au Jardin agrostologique, en collections ou en parcelles; à la presqu'île Lokele, le plus souvent à l'état isolé; ainsi qu'au champ du « Plan manioc », à Lilanda.

Dans une parcelle du Jardin agrostologique, ils succédaient à une jachère à graminées qui avait été pâturée. Les plantes, âgées d'un an environ au moment des observations, portaient très peu de nodules; certaines en étaient même complètement dépourvues. Les quelques nodosités observées étaient généralement blanc-rose à l'intérieur.

---

(1) Toutes les analyses, mentionnées dans le présent travail, ont été effectuées par les services spécialisés de la Division d'Agrologie.

Parmi plusieurs dizaines de nodules examinés, deux seulement avaient leur tissu interne coloré en rouge vif. Une autre parcelle, située près du Laboratoire d'Agrostologie, se révélait aussi peu fournie en nodules que la précédente; on constatait toutefois, en général, une richesse un peu plus grande en leghémoglobine. Dans les deux cas, les nodosités étaient le plus souvent constituées de grappes, formées de multiples digitations.

A la presque île Lokele, de très nombreuses plantes isolées, situées le long des chemins, ne portaient aucun nodule. Une seule grosse nodosité en grappe, de 3 cm environ de diamètre, de teinte verte intérieurement, a pu être observée, après examen des racines de plusieurs dizaines de plantes.

A Lilanda, au « Plan manioc », une très grande parcelle de *Mucuna* offrait beaucoup d'irrégularité au point de vue nodulation. Des individus relativement bien nodulés alternaient avec des sujets moins bien ou pas du tout colonisés. Le champ présentait à la vue des plages jaunâtres isolées au milieu de taches vertes plus foncées.

Bref, nous n'avons pu rencontrer nulle part, dans le domaine de Yangambi, une parcelle dont l'état était satisfaisant au point de vue symbiotique.

Si le *Mucuna* apparaît comme une espèce intéressante, à la fois en vue de la sidération et comme fourrage, il semble bien, en conclusion des observations réalisées, qu'il soit possible d'en améliorer la culture en mettant à la disposition des plantules les souches de *Rhizobium* qui leur conviennent.

#### *Canavalia ensiformis* (L.) DC.

A Lilanda, près des « Essais permanents de fertilité », un grand champ a été prospecté avec prélèvement au hasard de très nombreux sujets. Aucun n'était en bon état au point de vue nodulation.

Dans les rares nodosités observées, il a été difficile de déceler de petites quantités de leghémoglobine. Par contre, nous avons noté la présence de nombreuses excroissances, de gonflements radiculaires marqués, que nous appelons « formes intermédiaires » et dont la signification a été discutée dans une précédente étude [BONNIER, 1957].

Signalons, en passant, que les galls à nématodes, dont l'abondance avait été observée l'an dernier, sont toujours aussi nombreuses et constituent certainement un facteur nuisible à ne pas négliger.

D'autres plantes de *Canavalia* ont été examinées dans une parcelle expérimentale. Sur les plus développées, il faut signaler ici une observation faite systématiquement : des nodules, relativement peu nombreux il est vrai, sont vidés et percés d'une petite ouverture circulaire. Il semble qu'il y ait là une forme de parasitisme des nodules,

à l'avantage, soit de larves d'insectes, soit d'autres formes animales du sol. Il est bien connu qu'en fin de végétation, il y a lyse des tissus nodulaires et retour au sol des bactéries symbiontes. Nous ne pensons pas que ce soit ce phénomène qui joue dans le cas présent, puisque, d'une part, une ouverture nette a été observée sur ces nodosités et que, d'autre part, il ne s'agissait, en aucun cas, de plantes en fin de végétation. A noter, dans ce dernier champ également, la présence relativement abondante d'anguillules.

*Pueraria javanica* BENTH.

Des palmeraies de l'« Essai de Phytotechnie générale », avec couverture de *Pueraria*, ont été prospectées. Si l'aspect végétatif de la couverture est satisfaisant, il ne semble pas que les palmiers puissent profiter d'une fixation importante d'azote atmosphérique. En effet, l'appareil végétatif du *Pueraria* est de teinte très variable, allant, selon les endroits, du jaune au vert foncé. Sur un même plant, on peut distinguer des variations d'un stolon à l'autre. Tous les pieds mères prélevés portent des nodules, plus ou moins abondants, blancs, verts ou roses, donc généralement pauvres en leghémoglobine. Par contre, les racines stolonifères sont souvent dépourvues de nodosités, même peu « effectives ». Il faut ajouter que certains sujets portaient l'un ou l'autre nodule dont les tissus internes étaient de teinte brune très foncée, voire noire. Nous nous sommes demandés s'il s'agissait de nodules rouges en voie de décomposition ou de nodules, tellement riches en leghémoglobine, que la teinte rouge foncé virait au noir. Les isollements et les vérifications effectués par la suite ont montré que ces nodosités étaient, effectivement, d'un intérêt tout spécial et constituaient un matériel de tout premier ordre pour l'isolement de souches actives.

En résumé, dans les palmeraies prospectées, la nodulation est insuffisante, en qualité surtout, à l'exception de quelques individus isolés portant des nodules noirs, extrêmement actifs.

D'autres représentants de la même espèce, examinés à Lilanda, présentaient également une nodulation très peu satisfaisante, malgré la présence de quelques nodules roses. Aucun tissu noir, semblable à celui rencontré en palmeraies, n'a pu être trouvé. Confirmons une observation faite en 1956 : des plants de *Pueraria* dont le système racinaire s'insinue sur des vieux troncs d'arbres en décomposition sont abondamment pourvus de nodules effectifs. Cette observation, jointe à d'autres effectuées antérieurement, semble confirmer l'idée émise précédemment : la matière organique favorise l'établissement naturel d'une symbiose active.

Signalons encore que dans certaines parcelles de l'essai « Termières », où la culture en association (lignes alternées) de graminées

et de *Pueraria javanica* avait été tentée, seules les graminées se sont développées normalement tandis que la légumineuse associée a totalement disparu. Dès que des souches actives seront disponibles, il y aurait un intérêt certain à renouveler l'expérience.

#### *Desmodium intortum* FAWC.

Les plantes examinées dans diverses situations sont relativement pauvres en nodules, le plus souvent blancs ou légèrement roses. De nombreux examens ont dû être effectués pour que nous puissions trouver du tissu actif, rouge.

Il convient de noter ici, comme sur *Pueraria*, la fréquence relative de nodules vidés, qui n'ont plus que leurs tissus externes, même sur des plants en plein développement végétatif. D'après ce que nous avons pu observer, cette caractéristique semble limitée à certaines légumineuses, *Desmodium* et *Pueraria* notamment.

#### *Arachis hypogaea* L.

Les observations effectuées en 1957 sur arachide, espèce d'un intérêt particulier au point de vue économique, confirment les conclusions émises précédemment : nodulation irrégulière, quelles que soient les variétés et la nature du sol. La situation n'est pas satisfaisante chez cette plante cultivée pour l'amande et capable, en bon état symbiotique, de fixer de grandes quantités d'azote atmosphérique.

Nous ne nous étendrons pas davantage ici sur le cas de l'arachide, car des essais pratiques d'inoculation ont pu être installés sur cette espèce en 1957 à Yangambi; leurs résultats, très favorables, seront détaillés plus loin. Ces essais positifs constituent par eux-mêmes la preuve des possibilités dont nous disposons, dès maintenant, pour améliorer nettement la culture de l'arachide, là où la nodulation naturelle est inefficace.

Signalons toutefois, dès à présent, que de nouvelles observations confirment que, dans les conditions naturelles, l'arachide s'adapte assez facilement à des types divers de *Rhizobium*. Sur un sol dépourvu du *Rhizobium* spécifique, il ne faut pas, croyons-nous, de nombreux semis successifs d'arachide pour que cette légumineuse soit effectivement nodulée. C'est ainsi que dans la parcelle expérimentale « Soja », semée en septembre 1957 après arachide, d'assez nombreuses plantules de cette dernière espèce, issues de semis naturel, portent des nodosités relativement nombreuses et riches en leghémoglobine. Ceci n'empêche pas évidemment qu'il y ait grand intérêt à inoculer les graines d'arachide; en pratique agricole, on ne peut songer à effectuer deux ou trois semis pour n'obtenir qu'une bonne récolte.

RASSEL [1957] rapporte que, dans le Kwango, les agriculteurs cultivent l'arachide sur des parcelles réservées, dont la teneur en humus est relativement plus élevée (dépressions et pentes, anciens emplacements de villages); en principe, ils ne sèment pas en dehors de ces gîtes indispensables où la monoculture est pratiquée avec jachère naturelle de deux à quatre ans. Si des semis sont effectués en dehors de ces zones, les résultats obtenus sont insignifiants. Ces faits peuvent être notamment liés, à notre avis, au phénomène d'adaptation de souches dans le sol.

Nous avons signalé précédemment la grande importance des réserves du sol en calcium, pour l'établissement d'une symbiose active. A ce propos, RASSEL [*op. cit.*] également a noté, dans le Kwango, que des quantités relativement faibles de chaux (de l'ordre de 500 kg/ha) permettaient la mise en culture de l'arachide, dans des sols pratiquement stériles pour cette espèce.

Nous pensons que, dans ces régions dèshéritées, l'inoculation au moyen de souches actives de *Rhizobium* pourrait se révéler d'une importance capitale, sinon décisive, pour l'amélioration de cette culture.

#### *Crotalaria* sp.

Pas plus cette année que précédemment, nous n'avons trouvé de sujets bien nodulés parmi les divers *Crotalaria* installés en parcelles de collections au Jardin agrostologique.

Seul, *Crotalaria longithyrsa* BAK. f. var. *latifolia* WILCZEK, spontané en certains endroits à Yangambi, déjà signalé l'an dernier comme bien nodulé, a pu fournir des nodules pour l'isolement de souches actives. Nous profitons de l'occasion pour souligner à nouveau l'intérêt d'une étude phytotechnique de cette espèce; elle pourrait en effet se révéler très intéressante au point de vue fixation d'azote, puisque, naturellement, elle semble former très facilement de nombreux nodules très « effectifs ».

Malgré nos multiples examens à Yangambi, aucune autre espèce de ce genre n'a pu fournir de souches de *Rhizobium* intéressantes.

#### *Stylosanthes gracilis* H.B.K.

Les nouveaux examens de racines de *Stylosanthes* mènent aux conclusions déjà énoncées : la situation est très insuffisante. Si les nodules sont naturellement assez abondants, leur « effectivité » est généralement assez faible.

#### *Phaseolus* sp.

Si, dans la région de Yangambi, les plantes de *Phaseolus* sont assez peu nombreuses, nous tenons cependant à faire mention de



ce genre parce que des observations très intéressantes, effectuées dans le Ruanda-Urundi, nous ont été rapportées. Dans certaines situations, les cultivateurs, qui veulent entreprendre la culture de *Phaseolus*, déversent sur le champ à emblaver de la terre prélevée dans des parcelles ayant porté précédemment des *Phaseolus*. Cette pratique, toute empirique qu'elle soit, confirme à suffisance la nécessité de l'inoculation préalable des graines. Effectuée de la façon décrite ci-dessus, l'inoculation peut fournir des résultats, encore qu'il s'agisse d'un apport, par le sol, de souches quelconques, non sélectionnées. En agriculture intensive, cette technique est à rejeter, non seulement parce qu'elle exige la manipulation de quantités importantes de terre, mais encore parce qu'elle n'atteint qu'en partie le but poursuivi. Au lieu de constituer une inoculation au moyen d'une souche très active, dont les qualités sont connues et définies, elle fournit aux plantules un ensemble très hétérogène de souches variées qui ne sauraient, en aucun cas, provoquer l'établissement d'une symbiose optimum. Du point de vue phytosanitaire d'ailleurs, cette pratique est à déconseiller formellement.

## 2. Plantes spontanées.

Nous nous contenterons ici de rapporter certains faits qui résultent d'observations prolongeant celles de 1956 et qui en confirment les conclusions.

Si les examens effectués en forêt ont été cette fois moins nombreux, ils vérifient cependant, dans chaque cas, les données acquises : peu ou pas de nodosités dans la forêt équatoriale, à l'exception de certaines situations.

Dans la forêt à *Gilbertiodendron dewevrei* (DE WILD.) J. LÉONARD, sur la route Yangambi-Bengamisa, nous avons renouvelé les examens radiculaires sans plus de succès. Nous n'avons pu trouver aucun nodule, même ineffectif, sur les racines de nombreux arbres examinés. Or, nous savons que cette espèce peut porter des nodules effectifs dans certaines conditions.

Sauf l'une ou l'autre exception, les légumineuses spontanées, portant des nodosités, ont été récoltées sur des talus en bordure de chemins ou à des endroits où le sol avait été remué artificiellement.

Du fait que notre activité s'est limitée, cette année encore, à la région de Yangambi, aucune observation n'a pu être effectuée dans d'autres régions naturelles. Il est évident que pour avoir une idée exacte des phénomènes naturels en cause, des milieux différents de la forêt équatoriale donneraient lieu à des observations d'un intérêt certain.

### 3. Conclusions : la fonction de la symbiose, considérée du point de vue de l'écologie agricole générale.

Pour parvenir à une compréhension exacte du phénomène qui nous intéresse, il est indispensable, croyons-nous, de discuter nos observations d'un point de vue écologique.

Nous basant sur de nombreux examens effectués en régions tempérées et en régions intertropicales, nous tenterons d'interpréter nos constatations en gardant présente à l'esprit leur incidence sur le cycle général de l'azote, qui doit être envisagé dans son ensemble. Nous serons ainsi mieux à même d'agir efficacement dans le domaine pratique, puisque notre but vise à l'amélioration des cultures de légumineuses, avec tous les effets heureux qui en découlent.

Insistons sur le fait qu'il ne s'agit que d'un essai, étant donné que notre expérience personnelle en Afrique se limite à la région forestière de Yangambi et que, en dehors de certaines indications aimablement fournies par des collègues, nous ne connaissons pas grand chose de la symbiose dans d'autres milieux naturels, les savanes par exemple. Il n'est cependant pas téméraire, croyons-nous, de généraliser avec prudence puisque, quelles que soient les conditions, la végétation réagit, dans un sens ou dans l'autre, aux mêmes grands facteurs du milieu.

Il semble que l'on puisse définir la symbiose *Rhizobium* — Légumineuses comme une adaptation à un déséquilibre dans le bilan de l'azote.

Dans le milieu naturel équilibré que constitue la forêt équatoriale, le cycle de l'azote apparaît fermé sur lui-même. Il n'y a pas d'exportation et les végétaux qui retournent au sol sont la proie de micro-organismes qui font rentrer dans le cycle l'azote de leur substance. Si on envisage une portion suffisamment grande de forêt, on conçoit que la quantité d'azote présente dans sa biosphère soit pratiquement constante. Or, c'est précisément le rapport C/N dans la sève de la légumineuse qui commande la fixation symbiotique. Divers auteurs soulignent également le fait.

WHYTE, NILSSON-LEISSNER et TRUMBLE [1955] insistent sur cet aspect du problème. « Lorsque, écrivent-ils, le processus de photosynthèse s'opère à un rythme lent et régulier, l'apport de glucides à la nodosité est assuré et, si la symbiose est efficace, la fixation d'azote s'effectue à un rythme de nature à maintenir l'équilibre carbone/azote. Si la photosynthèse s'accélère, il y a accroissement de l'apport des glucides et, par voie de conséquence, de la demande d'azote; si la plante dispose librement de sources externes d'azote, le rapport C/N se rétrécit et le taux de fixation fléchit, parfois même au point de tomber à zéro. Lorsqu'on applique sur une légumineuse un engrais contenant de l'azote combiné ou, ajouterons-nous, si

les réserves du sol en cet élément sont suffisantes, l'absorption de cet azote par la plante peut entraîner l'établissement d'un rapport C/N si étroit que la fixation s'en trouve déprimée; si l'absorption d'azote se prolonge pendant un certain temps, les nodosités commencent à dégénérer ».

C'est ainsi que nous expliquons la rareté relative d'une symbiose « effective » en forêt équatoriale. L'inverse provoquerait d'ailleurs une accumulation illimitée d'azote, capté à l'atmosphère. Les observations effectuées confirment bien ce point de vue. Des légumineuses qui peuvent noduler « effectivement », comme *Gilbertiodendron dewevrei* [EVRARD, 1957], sont totalement dépourvues de nodosités, dans l'association forestière où elles dominent.

Rappelons que, à part de rares exceptions négligeables au point de vue quantitatif, comme celle de *Dewevrea bilabiata* MICHELI, les seuls nodules trouvés en milieu forestier l'ont été précisément à des endroits où le sol peut s'appauvrir en azote, soit par érosion ou délavement (chemins, surfaces dénudées localement), soit par drainage (bordures de cours d'eau), soit par activité biologique intense (sol remué artificiellement par exemple). Cette circulation de l'azote en cycle fermé explique d'ailleurs l'abondance toute particulière, en forêt équatoriale, des associations mycorhizales. Cette intense activité des mycorhizes n'est pas due, contrairement à ce que pensent certains auteurs [RICHARDS, 1952], à une pauvreté excessive des sols en cause mais bien au fait que certains éléments (N et P notamment) s'y trouvent sous une forme difficilement utilisable sans l'entremise de ces mycorhizes. La présence de ces dernières, qui ne sont pas fixatrices d'azote, ne fait que faciliter la circulation de cet élément en permettant l'utilisation par les végétaux de certaines formes, autrement inassimilables [WAKSMAN, 1932].

Parmi ces formes inassimilables, POCHON et DE BARJAC [1958] citent les ligno-protéines qui sont, précisément, relativement abondantes dans les sols forestiers équatoriaux. Ils ajoutent que l'effet favorable des mycorhizes, vis-à-vis de la nutrition minérale de l'hôte, semble s'exercer spécialement dans des conditions écologiques limites quant aux éléments nutritifs, en augmentant la solubilité de ces éléments (surtout N et P), bloqués en divers composés ou en complexes, comme les ligno-protéines. Ainsi pourraient être utilisées des sources nutritives, difficilement solubles. Parlant en général, POCHON et DE BARJAC [*op. cit.*] citent encore le phosphore de l'apatite, le potassium des feldspaths, de la glauconite et des syénites, les éléments des calcaires dolomitiques et des tourbes à sphaignes ou carex. Selon ces mêmes auteurs, les racines non infectées des arbres sont incapables d'extraire suffisamment d'azote à partir des sols riches en matière organique mais très pauvres en azote ammoniacal ou nitrique. Dans

ce cas, typiquement représenté par l'humus acide (mor), la nutrition azotée de l'arbre doit être assurée par l'intermédiaire des mycorhizes. Cette fonction des champignons symbiontes est démontrée et indiscutable dans le cas des mycorhizes ectotrophes. Comme la plupart des essences forestières observées à Yangambi portent surtout des endomycorhizes, dont le rôle dans la nutrition des végétaux est moins connu, parce que moins étudié, une certaine réserve s'impose donc dans l'interprétation des données ci-dessus.

Quoi qu'il en soit, si les champignons mycorhiziens peuvent utiliser l'azote organique, les mycorhizes ne figurent en aucune manière à l'actif du bilan de l'azote; elles sont seulement, pourrait-on dire, des « activateurs » d'échanges. Considérées sous cet angle, les observations de MALAN [1954] sont particulièrement significatives; selon celles-ci, il y aurait incompatibilité entre la présence de mycorhizes et la symbiose à *Rhizobium*. La présence de mycorhizes dénote qu'il y a de l'azote organique dans le sol, à la disposition des végétaux, et elle induit, par là même, l'inhibition proportionnelle de la fixation symbiotique.

Bien entendu, les considérations énoncées ci-dessus devraient être étayées par des données nombreuses, précises et variées, sur le cycle de l'azote en forêt équatoriale. Malheureusement, on n'a pas encore tenté d'établir, par des chiffres, le bilan exact de l'azote dans une aire naturelle déterminée. A notre avis, il serait extrêmement intéressant de disposer de résultats d'analyses qui permettraient d'établir un tel bilan pour une assez vaste superficie, le bassin d'une rivière par exemple. Lorsque les résultats de tels travaux seront disponibles, nous pourrons nous appuyer sur des bases solides pour vérifier ou reconsidérer les opinions émises. Quoi qu'il en soit, nous estimons que les données fragmentaires dont nous disposons à l'heure actuelle : analyses d'eaux de pluie en régions tropicales [VIOLARD-GOUDON et RICHARD, 1956], analyses d'eaux de rivières, rapport C/N dans certains sols forestiers, etc., sont suffisantes pour nous permettre d'énoncer ce qui précède.

Quant à la situation dans d'autres milieux naturels, les savanes par exemple, nous n'avons pu la déterminer par observations personnelles mais nous disposons de certains éléments aimablement communiqués par C. EVRARD qui a pu se livrer à certains examens. C'est ainsi que des nodules extrêmement abondants ont été observés sur *Vigna desmodioides* WILCZEK, sur sol très spongieux. Il est important de souligner que ces observations ont été faites après le passage du feu, c'est-à-dire dans un milieu profondément déséquilibré. Ces *Vigna*, porteurs d'abondantes nodosités, sur un sol riche en cendres et en charbon de bois dont l'action est favorable [HELY, BERGERSEN et BROCKWELL, 1957], témoignent, à notre avis, du profond désé-

quilibre causé par la mise à feu. C. EVRARD a également observé d'abondants nodules dans des pâturages à éléphants où deux conditions, favorables selon nous à la nodulation active, sont réalisées : exportations d'azote et abondance relative de matières organiques.

Jusqu'à présent, aucune observation effectuée en Afrique centrale ne vient infirmer ce que nous croyons pouvoir établir : dans les milieux naturels équilibrés, les légumineuses ne jouent leur rôle de fixateurs d'azote qu'en cas de déséquilibre en cet élément (érosion, délavement, drainage, feu, etc.). Il semble bien que, cet équilibre une fois atteint, les légumineuses se comportent comme les autres végétaux.

Par contre, dans un système cultural quelconque, toujours déséquilibré par définition, le bilan de l'azote est constamment en déficit. Lorsque l'agriculteur déséquilibre un milieu, l'azote devient déficitaire par suite des exportations qui peuvent être très importantes.

Ainsi, l'abattage de la forêt va livrer à la culture un sol encore relativement riche. A notre avis, ce n'est pas là qu'il faut s'attendre, immédiatement tout au moins, à une fixation symbiotique intense. Mais, au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la période de défrichage, les cultures successives ont tôt fait d'épuiser les réserves azotées, directement (exportations) et indirectement (érosion, délavement, etc.).

C'est ici qu'apparaît, dans toute son importance, la fonction essentielle des légumineuses. Si celle-ci se produit spontanément, elle ne deviendra « effective » qu'après une période plus ou moins longue et le cultivateur non averti, en raison même de la lenteur des processus naturels, peut se méprendre sur son importance. D'ailleurs, l'utilisation intensive des légumineuses, si souvent mise en évidence pour améliorer l'agriculture d'une région, si elle néglige l'emploi rationnel de souches actives de *Rhizobium*, amène toujours, on ne saurait trop le souligner, des résultats diamétralement opposés. En effet, à cause de leur grande richesse en azote, les légumineuses généralement utilisées, si elles ne sont pas en bon état symbiotique, épuisent le sol beaucoup plus rapidement que des graminées. Il convient d'attirer l'attention sur ce fait essentiel <sup>(1)</sup>.

Naturellement, une fixation intense par les légumineuses, spontanées ou cultivées, ne peut s'établir du jour au lendemain. Les *Rhizobium* du sol sont des organismes capables de variations extrêmes et une lente adaptation doit nécessairement s'effectuer, passant par

---

(1) En régions tempérées également, certains faits viennent souligner la signification écologique des légumineuses. C'est ainsi, par exemple, que l'utilisation intensive d'azote minéral, pour combler le déficit en cet élément, sur des prairies où des graminées sont associées à des légumineuses, fait rétrograder très fortement ces dernières, au point de provoquer leur disparition.

tous les stades intermédiaires : présence de nodules « ineffectifs », présence de nodules dont l'« effectivité » augmente peu à peu (passage de la teinte rose au rouge intense).

Cette lente adaptation correspond bien à la réalité. Elle est démontrée par les observations empiriques des cultivateurs, qui effectuent des semis successifs de la même espèce sur le même sol pour obtenir après un certain temps une récolte appréciable, réservent toujours à la même espèce de légumineuse des soles déterminées ou, enfin, prélèvent de la terre dans de vieilles parcelles de légumineuses pour la transporter dans de nouveaux champs à emblaver. Des essais que nous avons effectués confirment expérimentalement ce phénomène [BONNIER, 1950, 1951]. Ajoutons qu'en principe, toute légumineuse nouvelle cultivée sur un sol ne peut profiter des *Rhizobium* adaptés antérieurement à d'autres plantes de la même famille. Pratiquement, un lent processus d'adaptation succède à chaque introduction. Les observations très nombreuses effectuées dans différentes situations confirment cette règle. KRASSILNIKOV [1957] a montré qu'une souche de *Rhizobium* spécifique des *Trifolium* perdait sa capacité de former des nodosités sur les racines de cette espèce, sous l'influence des excréments radiculaires du lin.

On comprend par là combien l'action de l'homme peut ici être féconde. En effet, par la sélection de souches très actives au point de vue fixation et adaptées à chaque cas, nous pouvons éviter tous les stades intermédiaires et faire en sorte que, dès la première installation d'une légumineuse quelconque sur un sol donné, la fixation de l'azote atmosphérique soit optima.

A la suite de ces considérations écologiques, il apparaît que la fonction des légumineuses est tout particulièrement importante dans les sols que nous appelons « agricoles », c'est-à-dire soumis à la culture depuis un certain temps déjà et où le déficit en azote, qui est constant, doit être comblé.

En conclusion, on peut tout d'abord affirmer que, par l'utilisation rationnelle des légumineuses, la pauvreté en azote des sols cultivés, en régions tropicales surtout, peut être réduite dans de grandes proportions sans utilisation d'engrais. C'est là un point capital sur lequel on ne saurait trop insister. De plus, en dehors de la nécessité de l'inoculation des graines dans la pratique agricole, les techniques de travail à mettre en œuvre pour la réalisation de cet impératif, découlent tout naturellement des considérations écologiques qui précèdent.

Elles concernent notamment :

- La prospection et la recherche de souches actives;
- Le choix des parcelles pour l'expérimentation.

En principe, la recherche de souches actives devra s'effectuer en des endroits très appauvris en azote, sur des parcelles cultivées depuis très longtemps par exemple. De la même façon, si on entreprend des cultures successives d'une légumineuse donnée dans le but d'obtenir des souches fixatrices, les semis devront s'effectuer sur de vieux sols agricoles que l'on a toutes raisons de considérer comme épuisés, quitte à leur restituer les éléments indispensables autres que l'azote. Pour ce qui est des légumineuses spontanées, nous croyons que les recrues, s'établissant spontanément après abandon des cultures, doivent être particulièrement riches en nodosités actives; cette situation résulte de la carence relative en azote de ces jachères.

Certaines particularités, comme la présence de matière organique (souches pourrissantes), de cendres et de charbon de bois doivent spécialement retenir l'attention.

Les parcelles destinées à l'expérimentation pratique des souches doivent être choisies également en fonction de considérations écologiques. Un défrichement récent ne peut en principe convenir, si ses réserves en azote sont encore relativement importantes.

Bref, nous pensons que le succès du travail entrepris est conditionné par une méthode essentiellement basée sur les réalités écologiques qu'il ne faut jamais perdre de vue.

## CHAPITRE II

### ISOLEMENT DE SOUCHES

#### 1. Isolements à partir de Légumineuses.

De nouveaux isolements ont été effectués à partir de nodosités jugées particulièrement intéressantes.

La collection s'est augmentée de :

24 souches spécifiques de *Mucuna pruriens* var. *utilis*, indexées 23.1 à 23.24.

9 souches spécifiques de *Pueraria javanica*, indexées 15.8 à 15.16.

3 souches spécifiques de *Desmodium intortum*, indexées 22.7 à 22.9.

Pour chacune de celles-ci, une fiche détaillée a été dressée. A ces isolements retenus pour la collection, sont venus s'en ajouter de nombreux autres, réalisés dans des buts bien précis, que nous allons détailler.

De plus, la mise au point de nouvelles techniques d'inoculation pratique a exigé, elle aussi, de très nombreuses opérations d'isolement et de comptage.

### *Observations nouvelles.*

Tout ce qui concerne les milieux de culture utilisés et les techniques d'isolement a été décrit précédemment [BONNIER, 1957]. Rappelons seulement que nous avons insisté sur la nécessité d'utiliser une méthode garantissant que la souche isolée provienne effectivement des tissus internes du nodule.

Des faits nouveaux, entrevus en 1956, ont pu être confirmés. Ainsi, on a obtenu en boîtes de Petri, exclusivement à partir des tissus internes de nodules de *Mucuna*, de *Pueraria*, de *Desmodium*, etc., deux types de colonies :

— Le premier type est constitué de traits assez larges, de développement rapide (48 heures environ) et très abondant, de couleur généralement blanc grisâtre. A l'examen microscopique, les bactéries issues de ces colonies, comme la plupart des *Rhizobiaceae* d'ailleurs, se présentent en petits bâtonnets, pratiquement sans formes anormales.

— Les colonies du second type apparaissent nettement plus tard (huit à dix jours parfois). Généralement très petites, punctiformes, elles peuvent confluer en un trait ordinairement très peu marqué. Leur teinte est souvent d'un blanc très net, avec parfois une légère fluorescence. Certaines ne sont décelables que par un dépoli local du milieu et ne forment de très petites colonies qu'après douze à quinze jours. Les « repiquages » au départ de ces dernières croissent, eux aussi, très lentement mais l'abondance et la rapidité du développement semblent s'améliorer avec le nombre et la fréquence des transferts effectués sur le même milieu. Au microscope, on observe ici des formes anormales beaucoup plus nombreuses (en X, en Y, en T), caractéristiques des bactéroïdes du nodule.

Il semble que, jusqu'à présent, seules les colonies du premier type aient été considérées. C'est notamment à partir de celles-ci que la sélection de souches actives s'effectue, par inoculation en tubes stériles d'abord, en vases et aux champs ensuite.

Il était toujours apparu que les *Rhizobium* ainsi obtenus répondaient de façon très variable aux techniques de sélection, même si les souches étaient isolées de nodules apparemment très actifs.

Or, nous avons remarqué cette année que, pour autant que l'isolement soit effectué à partir de nodules de valeur, les souches du second type se montraient intéressantes dans tous les cas étudiés. Pour l'ensemble des essais d'inoculation, en tubes, en vases et en plein champ, exécutés à Yangambi en 1957, nous avons utilisé exclusivement les souches obtenues à partir de colonies du second type, à



croissance lente et peu abondante. Toutes ont réagi positivement alors que, habituellement, celles obtenues à partir des colonies du premier type réagissent très différemment et donnent lieu à un déchet parfois abondant.

On voit de suite l'intérêt présenté par cette observation, susceptible de permettre une très grande simplification du travail. Là où on désire obtenir très rapidement des résultats (c'est le cas en Afrique belge), on pourrait directement passer aux essais pratiques en évitant la culture aseptique de légumineuses et les essais en vases qui exigent beaucoup de matériel et, surtout, ne fournissent les résultats attendus qu'après une période relativement longue.

En vue de la recherche d'une souche destinée à l'inoculation d'une nouvelle espèce par exemple, il suffirait, par une prospection soignée, de choisir des nodules particulièrement riches en leghémoglobine et donc très actifs, d'isoler à partir des tissus internes une souche répondant aux critères énoncés ci-dessus (croissance très lente, très peu abondante, se situant après le développement du type ordinairement choisi), de la multiplier et de passer directement aux essais aux champs, éventuellement comparatifs, d'application pratique.

Bien entendu, nous ne sous-entendons pas que la technique habituelle de sélection ne serait plus d'aucune valeur; au contraire, elle permettrait la mise au point de souches de très hautes capacités. Néanmoins, du fait que la besogne la plus urgente consiste à obtenir des résultats positifs par inoculation des légumineuses actuellement cultivées, il serait possible, grâce à la nouvelle méthode proposée, de gagner beaucoup de temps et de disposer, presque immédiatement, de tout le matériel nécessaire. Ainsi, la sélection de souches exceptionnelles, suivant les techniques classiques décrites antérieurement, pourrait être postposée, sans grands inconvénients.

A l'actif de la nouvelle méthode, nous pouvons citer les résultats positifs enregistrés en 1957 sur *Arachis* et *Mucuna* aux champs, sur *Pueraria javanica* en cultures aseptiques, sur *Mucuna pruriens* en vases de végétation, ainsi que ceux obtenus en 1956 sur *Stylosanthes gracilis* en tubes stériles et sur *Arachis* en vases de végétation.

Dans tous ces cas, le choix des souches, basé sur les observations rapportées ci-dessus, s'est révélé extrêmement efficace.

Si nous pouvons affirmer que les nodules de diverses légumineuses cultivées en Afrique centrale contiennent deux types bien distincts de bactéries, nous ne pouvons formuler que des hypothèses sur les raisons profondes de cet état de choses. Rappelons que, en 1956, sans avoir pu conclure, faute d'essais, aux possibilités intéressantes qu'offrait la distinction précise entre les deux types, nous avons déjà observé le phénomène [BONNIER, 1957]. Nous nous demandions si

le type à croissance abondante et rapide, se présentant sous la forme habituelle de petits bâtonnets, n'était pas tout simplement constitué de *Agrobacterium radiobacter*, espèce voisine et commensale dans le nodule des *Rhizobium*. Il ne semble pas que cette hypothèse puisse se vérifier dans tous les cas; sans doute s'agit-il bien de *Rhizobium* puisque certaines races montrent une activité fixatrice et sont, à l'issue d'un long travail de sélection, utilisées pour l'inoculation.

Il s'agirait plutôt, croyons-nous, de *Rhizobium* d'activités différentes. Il convient à ce propos de signaler que THORNTON [1954] distingue quatre zones dans un nodule « effectif ». La partie la plus éloignée de la racine est constituée d'un méristème apical, sans bactéries, sous lequel se trouve le tissu récemment infecté. Viennent ensuite le tissu bactérien organisé et actif, bourré de formes bactéroïdes, et enfin le tissu en voie de décomposition. Ne convient-il pas de penser que les deux types de bactéries observés *in vitro* proviennent précisément de deux zones distinctes du nodule? Les bâtonnets à développement rapide proviendraient du tissu nodulaire infecté récemment et non actif, tandis que les formes en X, Y ou T seraient issues de la portion active du nodule, occupée par les formes bactéroïdes.

Étant donné l'intérêt, à la fois scientifique et pratique, de ces observations, la question mériterait d'être approfondie.

Il y aurait lieu notamment :

- de comparer les deux types à différents points de vue;
- d'étudier les organismes que l'on peut isoler de nodules « ineffectifs »;
- d'examiner la dominance éventuelle de l'un des types de *Rhizobium*, tant dans les nodules « effectifs » qu'« ineffectifs ».

Dès maintenant, il s'avère indiscutable que pour avoir toutes les chances d'obtenir rapidement une souche de haute « effectivité », il faut attendre que, dans les boîtes de Petri, se développent des traînées, de croissance très lente et très peu abondante, constituées de formes particulièrement intéressantes à sélectionner.

Toujours à propos des isollements effectués, signalons que l'eau stérile utilisée pour le rinçage des nodules, après désinfection, était toujours colorée en rouge orange lorsqu'il s'agissait de *Mucuna pruriens*. La teinte était d'autant plus foncée que le temps de contact eau — nodule était plus long. Le tissu des nodules de *Mucuna* contient donc un pigment facilement soluble dans l'eau froide. Quelle est la signification de ce pigment?

Est-il simplement lié aux tissus radiculaires du *Mucuna* ou est-il en relation avec le tissu interne du nodule, notamment avec son contenu en leghémoglobine? L'un de nous a récemment vérifié la présence de ce pigment dans des tiges de *Mucuna*. Sa signification serait donc nulle quant au point de vue qui nous intéresse.

## 2. Isolements à partir de Rubiacées.

Nous avons renouvelé en 1957 des isolements à partir de « nodules » foliaires de *Psychotria*. Ainsi que nous le laissions prévoir en 1956, il s'agit effectivement d'une association de deux bactéries.

La majorité de la population est constituée d'un petit bâtonnet qui absorbe très fortement le colorant (en l'occurrence la fuschine phéniquée). En plus, on trouve, en quantité beaucoup plus petite, des bâtonnets plus longs absorbant moins bien le colorant et morphologiquement assez semblables au *Rhizobium*.

Il eût été intéressant de cultiver aseptiquement des plantules de *Psychotria* dans le but d'étudier la spécificité de cette symbiose et son éventuelle activité au point de vue de la fixation d'azote.

Malheureusement, malgré de multiples tentatives, il n'a pas été possible jusqu'ici de faire germer des graines, même non désinfectées.

Nous n'avons donc pu aller plus avant dans l'étude du problème de la symbiose dans les feuilles de *Psychotria*. Il serait à notre avis opportun de faire de nouvelles tentatives, en raison de la fréquence du phénomène sur des *Rubiaceae* de la forêt équatoriale.

Tout récemment, G. BOND nous confirmait qu'il n'avait jamais pu observer la moindre trace de fixation dans les nodules foliaires de *Rubiaceae*.

## CHAPITRE III

### CULTURES ASEPTIQUES

Nous avons fait de nouveaux essais de culture aseptique de légumineuses à graines relativement petites. Nous avons conclu précédemment que celles à grosses graines (type *Soja*, *Arachis*, etc.), ne pouvaient être cultivées en aseptic totale, du moins par la technique du tube de verre, utilisée couramment.

Désireux de faire un nouvel essai démonstratif de culture aseptique, nous avons donc choisi une espèce à graines de moyennes dimensions, en l'occurrence *Pueraria javanica*.

#### 1. Matériel et méthodes.

Quarante tubes de verre, de 450 mm de longueur et de 25 mm de diamètre, ont été garnis de 50 ml du milieu utilisé habituellement

[NICOL et THORNTON, 1949], munis d'une bourre de coton et stérilisés à l'autoclave à 120° C pendant vingt minutes.

Les graines de *Pueraria* ont été désinfectées par passages successifs dans :

- a) une solution détergente, destinée à « dégraisser » la semence et à permettre un « mouillage » parfait par la solution désinfectante (1);
- b) une solution de HgCl<sub>2</sub> à 2,5 ‰, pendant six minutes;
- c) dix bains de rinçage à l'eau stérile.

Elles furent ensuite déposées en boîtes de Petri sur le milieu de WRIGHT [1925] et placées à l'étuve à 30° C. Après huit jours, on ne constatait aucune germination.

Néanmoins, après douze à quinze jours, on a pu obtenir quelques plantules utilisables.

Un nouveau traitement de désinfection fut effectué sur un second lot de semences, par trempages successifs dans :

- a) une solution détergente;
- b) une solution de HgCl<sub>2</sub> à 2,5 ‰, pendant six minutes;
- c) deux bains de rinçage à l'eau stérile;
- d) une solution de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 50 %, pendant vingt minutes;
- e) huit bains de rinçage à l'eau stérile.

Dans ce cas, le nombre de graines germées s'élevait, après cinq jours, à 8 pour cent.

L'essai comportait huit objets en cinq répétitions, soit au total, quarante tubes répartis comme suit :

- a) cinq tubes inoculés avec la souche 15.1;
- b) cinq tubes inoculés avec la souche 15.9;
- c) cinq tubes inoculés avec la souche 15.12;
- d) cinq tubes inoculés avec la souche 15.14;
- e) cinq tubes inoculés avec la souche 15.15;
- f) cinq tubes inoculés avec la souche 15.16;
- g) cinq tubes inoculés avec un mélange des six souches (2);
- h) cinq tubes non inoculés, considérés comme témoins.

---

(1) Les détergents, tels qu'ils sont couramment utilisés à l'heure actuelle, augmentent l'efficacité du sublimé corrosif.

(2) L'utilité de l'objet *g* mérite quelques explications ; en inoculant ainsi un mélange de souches, on pourrait peut-être par réisolement de nodules choisis sur des plantes d'aspect particulièrement vigoureux, obtenir directement une souche douée d'un certain pouvoir « compétitif ». Sans doute, ne pourrait-on, dans ces conditions, préciser l'origine exacte de la souche, puisqu'il s'agit d'un mélange, mais pourrait-on aboutir plus rapidement.

Toutes les souches utilisées ont été isolées à Yangambi, à partir de nodules choisis pour leur aspect prometteur.

Les différents tubes furent placés en serre, sur un support tel que la partie racinaire était protégée de la lumière.

## 2. Observations.

Les premiers nodules apparurent après treize jours, sur des plantules inoculées au moyen de la souche 15.12.

Après dix-sept jours, certains sujets inoculés au moyen du mélange et des souches 15.14 et 15.16 portaient des nodosités.

La souche 15.15 réagit en dernier lieu et aucune réaction n'a pu être notée sur les individus traités avec la souche 15.9.

Il est remarquable que les souches qui ont réagi le plus rapidement avaient précisément été choisies selon la nouvelle méthode décrite au chapitre II. Les souches 15.12, 15.14 et 15.16 s'étaient développées très lentement lors des opérations d'isolement, plusieurs jours après la formation de colonies denses qui avaient été négligées.

Ces faits viennent appuyer les observations rapportées précédemment à propos de la méthode à suivre dans l'isolement de souches actives de *Rhizobium* et en soulignent tout l'intérêt.

Malgré la formation dans les tubes de nodosités actives, aucune différence végétative n'a pu être observée. Après un mois, les plantules ont pratiquement cessé de se développer et aucune comparaison n'a pu être établie. Incontestablement, la culture du *Pueraria* en tubes de verre stériles ne peut donner satisfaction.

## 3. Conclusions.

a. La culture en asepsie totale, dans des tubes de verre, n'est réalisable que pour des légumineuses à très petites graines (type *Medicago*, *Trifolium*, etc.). Les espèces à graines moyennes (type *Pueraria*) ou grosses (type *Soja*, *Arachis*, etc.) ne peuvent végéter convenablement dans des tubes de verre bouchés au coton. De nouvelles techniques sont à mettre au point pour ces catégories de plantes, catégories auxquelles appartiennent pratiquement toutes les légumineuses tropicales (1).

---

(1) L'un de nous, poursuivant ses travaux à Yangambi, a observé que la culture de légumineuses à grosses graines serait possible en tubes de verre garnis de milieux spéciaux (vermiculite par exemple).

b. En dépit du fait que, dans l'essai ci-dessus, des différences végétales n'ont pu se marquer entre plantules inoculées et non inoculées, la présence de nodules, la date de leur apparition, leur forme et leur couleur ont néanmoins permis de porter un premier jugement sur la valeur des souches à l'essai.

Il apparaît notamment que les races bactériennes choisies selon la nouvelle méthode d'isolement proposée étaient, dans tous les cas étudiés, spécifiques et « effectives ». Cette nouvelle méthode, susceptible, comme nous l'avons déjà fait remarquer, de réduire sensiblement le travail habituel de sélection, se révèle d'autant plus précieuse que la culture des légumineuses tropicales, en conditions aseptiques, présente des difficultés particulières.

c. Cet essai a également permis de se rendre compte des difficultés rencontrées lors de la mise en germination de certaines graines, notamment celles de *Stylosanthes*, de *Pueraria*, de *Desmodium* et de *Psychotria* (*Rubiaceae*).

Certains traitements (l'eau à 55° C pour *Stylosanthes*, l'acide sulfurique pour *Pueraria*) agissent mais très irrégulièrement. En aucun cas, il ne nous a été possible de faire germer des graines de *Psychotria*.

Selon G. PARMENTIER, l'addition de certains mouillants à l'eau de germination, comme les substances communément dénommées détergents, pourrait se révéler très intéressante pour favoriser la germination de certaines graines.

Sans doute, une étude plus complète de la question serait-elle du plus haut intérêt, du point de vue phytotechnique.

## CHAPITRE IV

### TECHNIQUES D'INOCULATION

Nous avons détaillé précédemment le problème technique de l'inoculation des graines de légumineuses en zone intertropicale. Pour des raisons écologiques, rappelons-le, le trempage des graines dans une culture liquide de *Rhizobium* ne peut donner les garanties indispensables. L'utilisation d'un substrat solide, riche en bactéries et épandu avec les semences, nous a permis d'obtenir des résultats extrêmement nets.

Nous avons préparé, comme inoculum, des cultures très riches

effectuées sur balles de riz. Le problème était ainsi résolu, tout au moins pour les semis manuels effectués le plus souvent en poquets.

Un point important restait à résoudre : celui des semis mécaniques.

Dans ce dernier cas, les balles de riz ne constituent pas un substrat idéal car elles sont agglomérées par le liquide nutritif, indispensable au développement des bactéries. Une dessiccation assez prononcée peut sans doute faciliter le mélange des balles aux graines avant leur introduction dans un semoir mais elle doit être poussée à un tel degré que la vitalité en est assez fortement déprimée. D'autre part, même si au moment du semis, le nombre de microorganismes était encore suffisamment élevé, l'humidité insuffisante du produit ne pourrait leur assurer une survie prolongée dans le sol.

Comme l'inoculation doit pouvoir être appliquée à toutes les légumineuses, dans toutes les situations possibles, il était indispensable de mettre au point une technique utilisable lors de semis mécaniques.

## 1. Préparation des inoculum.

Le produit à utiliser comme substrat doit réunir un certain nombre de qualités; il doit notamment pouvoir :

— se mélanger très facilement aux semences, de préférence à la façon d'un produit granulé qui tomberait du semoir avec les graines;

— constituer un milieu artificiel, convenant particulièrement au *Rhizobium*, de façon à ce que ce dernier puisse s'y maintenir avec toutes ses propriétés, en quantité élevée et pendant un temps assez long.

Pour réaliser une telle préparation, nous avons songé à utiliser la vermiculite, employée actuellement comme substrat inerte, pour des cultures artificielles.

Selon GRIM [1953], « la vermiculite est une matière minérale considérée comme étroitement apparentée aux micas. La vermiculite, ou mieux les vermiculites ont été fréquemment considérées comme des produits d'altération, principalement des biotite et phlogopite ». Elles ont une structure telle qu'elles se gonflent très facilement pour finalement constituer une superposition de feuillets et être douées d'un pouvoir exceptionnel de rétention des liquides. Leur composition chimique, variable, montre cependant, dans tous les cas, une proportion très élevée de magnésium (tabl. I).

Tableau I

*Composition centésimale de quatre vermiculites (selon E. GRIM).*

	1	2	3	4
SiO <sub>2</sub>	36,12	35,92	36,54	34,04
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	13,90	10,68	16,96	15,37
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	4,24	10,94	2,78	8,01
FeO	0,68	0,82	0,95	—
MgO	24,84	22,00	19,78	22,58
CaO	0,18	0,44	0,06	—
Ti <sub>2</sub> O	0,24	—	—	—
H <sub>2</sub> O	18,94	19,84	20,40	19,93
NiO	—	—	2,32	—
Total :	99,14	100,64	99,79	99,93

Leur capacité d'échange des cations est très élevée, plus encore que celle des montmorillonites (tabl. II).

Tableau II

*Capacité d'échange des cations de différents composés (selon E. GRIM).*

Kaolonite . . . . .	3 - 15 m.éq./100 grammes
Hallogsite 2 H <sub>2</sub> O . . . . .	5 - 10 »
Hallogsite 4 H <sub>2</sub> O . . . . .	40 - 50 »
Montmorillonite . . . . .	80 - 150 »
Illite . . . . .	10 - 40 »
Vermiculite . . . . .	100 - 150 »
Chlorite . . . . .	10 - 40 »
Sepiolite . . . . .	20 - 30 »

Le tableau I fait ressortir la pauvreté en calcium des vermiculites; elle pourra être facilement compensée par un apport supplémentaire dans le milieu de culture.



En bref, pour le but qui nous intéresse, on peut résumer comme suit les avantages de la vermiculite :

1. Capacité exceptionnelle de rétention des liquides;
2. Structure telle que l'aération interne est particulièrement élevée;
3. Légèreté;
4. Particules suffisamment volumineuses pour diminuer les possibilités d'entraînement par les pluies;
5. Mélange facile des semences aux grains de vermiculite non agglomérés, malgré la quantité de liquide retenue;
6. pH assez favorable du produit préparé (6,5 environ), pouvant être très facilement relevé;
7. Meilleure résistance que la matière organique (tourbe, balles de riz) à la dégradation biologique dans le sol. Il s'agit en effet d'un substrat minéral inerte.

Par contre, l'utilisation de ce produit présente un inconvénient à ne pas perdre de vue : il est inexistant au Congo belge et devrait donc être importé. Si son prix est très bas, les frais de transport de cette matière volumineuse sont néanmoins à envisager; à notre connaissance, des vermiculites seraient disponibles en Afrique du Sud.

Un autre inconvénient de la vermiculite réside dans le fait qu'il s'agit d'un matériau isolant, qui pourrait offrir une certaine résistance à la stérilisation par la chaleur humide, surtout s'il s'agit de quantités assez importantes.

Un essai effectué à Yangambi a montré que cette difficulté pouvait être facilement surmontée par une stérilisation triple (trois fois une heure à 120° C, à vingt-quatre heures d'intervalle).

Quant à la valeur définitive du produit, en tant que substrat pour la culture des *Rhizobium*, elle a donné lieu à différents essais que nous rapportons brièvement.

### **Essai 1.**

Dans un premier essai, on a comparé deux lots de vermiculite; le premier, constitué de gros grains, gris-noir, plus riche en micas noirs, l'autre, constitué de particules plus petites, plus régulières, jaune-blanc.

Dans les deux produits, les éléments trop fins sont éliminés sur tamis n° 20 (0,84 mm). Le matériel expérimental comportait dix Erlenmeyer, dont cinq garnis de vermiculite noire et cinq de vermiculite blanche; ils contenaient :

120 g de vermiculite,  
5 g de CaCO<sub>3</sub>,  
500 cm<sup>3</sup> de milieu de WRIGHT.

La stérilisation s'est effectuée par trois passages d'une heure à l'autoclave à 120° C, à vingt-quatre heures d'intervalle (1).

Dans chacun des deux groupes d'Erlenmeyer, cinq souches ont été examinées :

- 1.5, spécifique de *Medicago*;
- 3.15, spécifique de *Soja hispida*;
- 10.16, spécifique de *Arachis hypogaea*;
- 15.1, spécifique de *Pueraria javanica*;
- 17.7, spécifique de *Stylosanthes gracilis*.

Les comptages préliminaires, effectués après plusieurs jours de séjour à l'étuve, ont montré la nette supériorité de la vermiculite de couleur blanc jaunâtre. Les préparations à base de cette dernière apparaissent comme les plus favorables au développement des *Rhizobium* ensemencés, quelle que soit la souche en cause.

En conséquence, ce produit a été utilisé exclusivement pour toutes les préparations ultérieures.

## Essai 2.

Le deuxième essai se rapporte au nombre de bactéries développées sur vermiculite. Des Erlenmeyer de 300 cm<sup>3</sup> sont garnis de la préparation suivante et stérilisés de la façon décrite plus haut :

- 25 g de vermiculite blanche,
- 1 g de CaCO<sub>3</sub>,
- 1 g de CaSO<sub>4</sub>,
- 115 cm<sup>3</sup> de milieu de WRIGHT.

Cinq souches : 1.5, 3.15, 10.16, 15.1 et 17.7 sont ensemencées.

Après douze jours de développement, les Erlenmeyer ensemencés de la souche 1.5, spécifique de *Medicago sativa*, contenaient un milliard de germes vivants au gramme; ceux ensemencés au moyen de la souche 15.1, spécifique de *Pueraria javanica*, en contenaient cinq cents millions. Par contre, il a fallu vingt jours pour que les souches 10.16 et 17.7 donnent des résultats satisfaisants. Quant à la souche 3.15, dont le développement fut très mauvais dans cet essai, elle a donné par la suite de meilleurs résultats. La valeur de l'inoculum pour soja à base de vermiculite a été mise en évidence dans des essais en plein champ, notamment à Keyberg.

---

(1) Notons que, malgré la quantité élevée de liquide absorbée par la vermiculite (plus de quatre fois son poids), les granules sont restés bien distincts et ne formaient pas d'agglomérats, contrairement aux inoculum composés, soit de balles de riz, soit de tourbe.

Il convient de signaler que les colonies obtenues en boîtes de Petri, au cours des opérations de comptage, se développent avec une lenteur particulière, phénomène assez inhabituel. C'est ainsi que des prélèvements ont été effectués après vingt jours de passage à l'étuve, dans des Erlenmeyer ensemencés des souches 3.15, 10.16 et 17.7; les colonies qui en sont issues ne se sont développées qu'après trois semaines.

A quoi peut être due cette lenteur du développement des colonies de *Rhizobium*? Nous ne pouvons répondre avec certitude à cette question. Signalons seulement que, par examens microscopiques, effectués sur les inoculum à base de vermiculite avant le comptage, nous avons observé que les bactéries développées sur ce substrat étaient constituées de formes anormalement ténues.

Ajoutons que les Erlenmeyer ensemencés des souches 1.15 et 15.1 ont fourni, pour le comptage en boîtes de Petri, des échantillons dont les colonies sont apparues beaucoup plus rapidement. Il s'agit précisément de souches conservées et repiquées en laboratoire depuis un temps assez long déjà et donc mieux adaptées aux milieux de culture artificiels.

Peut-être est-ce là qu'il faut chercher la raison du développement très lent de certaines souches fraîchement isolées et immédiatement utilisées, dès le premier repiquage, pour la préparation des inoculum.

### Essai 3.

Afin de connaître la composition chimique exacte du substrat à base de vermiculite contenant le milieu de WRIGHT, compte tenu du  $\text{CaCO}_3$  et du  $\text{CaSO}_4$  ajoutés, nous avons préparé des Erlenmeyer contenant :

40 g de vermiculite,  
2 g de  $\text{CaCO}_3$ ,  
2 g de  $\text{CaSO}_4$ ,  
200  $\text{cm}^3$  de milieu de WRIGHT.

Après les trois stérilisations habituelles, on a utilisé ces préparations pour effectuer une analyse chimique des principaux constituants.

Une extraction a été effectuée à la presse hydraulique à partir du contenu total de chaque Erlenmeyer, sous une pression très élevée (1.195,218  $\text{kg}/\text{cm}^2$ ). De chaque vase, on a pu extraire 150  $\text{cm}^3$  environ de liquide trouble, dont le pH était de 6,5. L'analyse de ce liquide a donné les résultats ci-après (mg pour 100  $\text{cm}^3$ ) :

N	7,152
P	0,062
K	36,000
Ca	57,930
Mg	20,870

Certaines conclusions peuvent être immédiatement tirées :

— Le pH est abaissé par la stérilisation. Il conviendrait donc de mettre davantage de  $\text{CaCO}_3$  de façon à maintenir le pH aux environs de 7.

— La teneur en azote est faible, celle en phosphore est nettement insuffisante. La composition du milieu de WRIGHT devra être modifiée pour augmenter l'apport en ces deux éléments particulièrement importants.

#### Essai 4.

En vue de répondre aux desiderata qui viennent d'être exprimés, on a adopté la formule suivante :

100 g de vermiculite,  
 4 g de  $\text{CaCO}_3$ ,  
 4 g de  $\text{CaSO}_4$ ,  
 4 g de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  
 450  $\text{cm}^3$  de milieu de WRIGHT modifié.

Tableau III

*Composition du milieu de WRIGHT (modifié et original).*

	Milieu modifié	Milieu original
Mannite . . . . .	20 g	10 g
NaCl . . . . .	0,2 g	0,2 g
$\text{K}_2\text{HPO}_4$ . . . . .	3,0 g	0,5 g
$\text{MgSO}_4$ . . . . .	0,2 g	0,2 g
$\text{CaSO}_4$ . . . . .	0,1 g	0,1 g
$\text{CaCO}_3$ . . . . .	0,1 g	0,1 g
Eau de levure . . . . .	300 $\text{cm}^3$	100 $\text{cm}^3$
Eau distillée . . . . .	700 $\text{cm}^3$	900 $\text{cm}^3$

Les inoculum préparés de cette manière ont généralement donné satisfaction et ont été utilisés par la suite de façon systématique. Notons encore que les isollements réalisés à partir de ces substrats ensemencés et ayant séjourné à l'étuve, ont toujours fourni des colonies à développement extrêmement lent (dix à vingt jours).

Pour cette raison, la lenteur des opérations de comptage, nécessitées par le contrôle indispensable de la valeur des inoculum, peuvent, dans certaines circonstances, constituer un inconvénient. C'est le cas précisément lorsqu'il est nécessaire d'effectuer un contrôle rapide.

A ce propos, il convient de faire remarquer que, avec une certaine habitude, un opérateur spécialisé peut très bien vérifier la richesse des préparations par un simple examen microscopique. Nous avons eu l'occasion de constater que cette méthode était amplement suffisante pour le but poursuivi.

En conclusion de ces premiers essais, il faut souligner, dès à présent, que des mises au point complémentaires sont indispensables avant que l'on puisse disposer, pour l'usage pratique, d'inoculum donnant complète satisfaction.

### Essai 5.

Il était également nécessaire de vérifier les possibilités de conservation des produits ensemencés, à base de vermiculite. Il est indispensable en effet que, dans un pays comme le Congo où les préparations et leur expédition ne peuvent se faire, dans chaque cas et pour chaque région, au moment du semis, nous puissions disposer de produits d'inoculation à longue durée de conservation (six mois à un an minimum).

Dans ce but, des préparations ont été effectuées dans des flacons qui peuvent être bouchés à l'émeri; elles furent ensemencées avec des souches de différentes origines, notamment :

- 1.5, spécifique de *Medicago*;
- 3.15, spécifique de *Soja hispida*;
- 10.16, spécifique de *Arachis*;
- 15.1, spécifique de *Pueraria javanica*;
- 17.7, spécifique de *Stylosanthes gracilis*.

Pendant trente-sept jours, ces flacons ont été maintenus à l'étuve avec une bourre d'ouate, de façon à ce que le nombre de bactéries développées atteigne une valeur suffisante. Après quoi, ils ont été refermés hermétiquement, au moyen de bouchons de verre stérilisés au four; ils furent ensuite maintenus à température ordinaire. Les premiers comptages, effectués après deux mois de conservation, ont donné les renseignements suivants :

- souche spécifique de *Medicago* : 300 millions de germes au g humide;
- souche spécifique de *Soja* : 940 millions de germes au g humide;
- souche spécifique d'*Arachis* : 600 millions de germes au g humide;
- souche spécifique de *Stylosanthes* : comptages irréalisables.

A la lecture de ces premiers résultats, on peut estimer que les qualités de conservation du produit à base de vermiculite sont suffisamment garanties pour assurer une bonne inoculation.

Le cas de la souche spécifique de *Stylosanthes* est particulier;

le développement en boîtes de Petri de la souche utilisée, à partir d'un ensemencement de substrat-vermiculite dilué, est tellement lent qu'il est masqué, après un certain temps, par des moisissures infectantes qui rendent toute lecture impossible.

## 2. Conditionnement des substrats.

Disposer d'un inoculum riche en bactéries et de longue durée de conservation ne suffit pas encore pour assurer la solution du problème de l'inoculation dans la pratique agricole. Il faut pouvoir non seulement stocker les produits préparés, mais encore disposer d'emballages robustes, résistants aux manipulations du transport et capables de maintenir une asepticité qui les garantisse contre toute dégradation.

Ce problème devait être résolu dès à présent, ne fut-ce que pour assurer, dans les meilleures conditions possibles, la réalisation d'essais d'inoculation prévus en dehors de Yangambi, à la Station de Keyberg notamment.

Les récipients en verre doivent être éliminés en raison de leur fragilité. Nous nous sommes arrêtés à des récipients métalliques et avons expérimenté l'usage de bidons, munis de bouchons à visser, tels qu'ils sont utilisés pour le transport de liquides, des huiles tout particulièrement.

Des bidons de cinq litres ont été remplis aux trois quarts de milieu à base de vermiculite, bouchés à l'ouate et stérilisés de la façon habituelle. Après ensemencement, ils ont été placés à la température de 28° C, pendant un mois, pour permettre un développement abondant du *Rhizobium*. Après quoi, les bourres d'ouate ont été remplacées par les bouchons métalliques à visser, garnis d'un joint en liège et stérilisés au préalable.

Ces bidons offrent de nombreux avantages et notamment :

- légèreté appréciable;
- bonne résistance à la stérilisation en vapeur humide;
- maintien d'une asepticité convenable;
- maintien des cultures bactériennes à l'obscurité;
- grande résistance aux diverses manipulations;
- prix de revient relativement faible.

Signalons que les granules de vermiculite, non agglomérés, tels qu'ils sont préparés, se déversent très facilement de ce genre de récipient et offrent, par là, de grandes facilités pour la manipulation sur le terrain.

Des bidons de toutes contenances peuvent être préparés, selon les surfaces à emblaver.

Dans ces conditions, nous croyons pouvoir résoudre le problème pratique de l'inoculation aux champs.

### 3. Quantité d'inoculum à utiliser.

Il s'agissait aussi de déterminer la quantité de produit nécessaire à l'inoculation d'une surface déterminée. Seuls des essais pratiques étaient à même de répondre à cette question.

Dans ce but, un essai a été installé en plein champ sur *Soja hispida*; il comportait deux parcelles de 20 m<sup>2</sup> (5 × 4 m).

Sur celles-ci, on a tout d'abord épandu une quantité de chaux agricole correspondant à 2,5 t/ha qui fut ensuite enfouie à la houe.

Avant le semis, chacune des deux parcelles a reçu :

- 500 g de superphosphate triple (47 % de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), soit 100 unités/hectare;
- 500 g de sulfate de potassium (48 % de K<sub>2</sub>O), soit 100 unités/hectare;
- 250 g de kieserite (26 % de MgO), soit 25 unités/hectare.

Le soja (variété Palmetto) est semé à 40 × 20 cm, de sorte que chaque parcelle compte douze lignes.

Les demi-lignes supérieures, considérées comme témoins, ont été semées au moyen de graines non inoculées (en poquets de trois). Les poquets des demi-lignes inférieures furent inoculés comme suit :

Ligne	Quantité de vermiculite
01	1 grain
02	2 grains
03	1 petite pincée (plus ou moins 5 grains)
04	1 pincée (plus ou moins 10 grains)
05	2 pincées
06	3 pincées
07	4 pincées
08	1 poignée

Après une levée régulière, on a noté une assez forte attaque de criquets, enrayée par une pulvérisation d'endrine.

Après deux mois de culture, on a observé l'existence d'une différence nette entre plantes inoculées et plantes-témoins, au point de vue de la teinte et du développement.

Les plantes inoculées avec un et deux grains de vermiculite sont indifférenciables des plantes-témoins; ces quantités sont donc nettement insuffisantes pour assurer une inoculation satisfaisante.

Le tableau IV résume les observations réalisées. Les évaluations de rendement ont été effectuées pour toutes les plantes de chaque objet, récoltées et examinées. Les chiffres constituent des moyennes exprimées en grammes de poids sec (105° C) par dix plantes.

Tableau IV

Résultats de l'essai « Quantité de vermiculite-substrat ».

Ligne	Graines	Gousses	Rendement au décortilage (%)	Examen des racines
T	31	22	58,5	Pas de nodule.
01	42	20	67,7	Une moitié des plantes sans nodule; l'autre, constituée de plantes, soit avec un ou deux nodules, soit relativement bien nodulées.
02	37	18	67,2	Mêmes remarques que pour l'objet précédent.
03	70	30	70,0	Plantes bien nodulées; deux plantes sont complètement dépourvues de nodosité.
04	70	30	70,0	Plantes bien nodulées; une seule sans nodule.
05	71	28	71,0	Plantes bien nodulées.
06	86	34	71,6	Plantes bien nodulées.
07	87	35	71,3	Plantes bien nodulées.
08	80	31	72,0	Plantes bien nodulées.

De ces observations, nous pouvons conclure que la quantité minimum de vermiculite-substrat, nécessaire pour assurer une bonne nodulation, est de plus ou moins cinq grains.

D'autre part, si l'on voulait réduire cette quantité, pour faciliter le semis mécanique par exemple, il serait indispensable d'accroître encore la richesse en germes de l'inoculum et de vérifier dans la pratique le comportement du produit enrichi.

#### 4. Remarques générales concernant les techniques d'inoculation pratique.

a. Nous devons nous attendre, dans un avenir très rapproché, à une demande très élevée de produits destinés à l'inoculation. A elle



seule, la multiplication des essais de démonstration sur différentes espèces, ne fut-ce que dans les Stations de l'I.N.É.A.C., exige la préparation, le stockage et l'expédition en temps opportun de quantités d'inoculum très conséquentes. Dès que l'inoculation deviendra une pratique culturale généralisée, les quantités à préparer seront sans aucun doute tellement importantes qu'elles poseront inévitablement des problèmes d'organisation. Ceux-ci sont facilement résolus dans un pays de superficie restreinte, à climat relativement uniforme, comme c'est le plus souvent le cas en régions tempérées.

Malheureusement, quelles que soient les qualités démontrées des produits solides à utiliser, il faut, croyons-nous, envisager dès à présent leurs inconvénients, non négligeables dans un pays comme le Congo belge.

En admettant même, ce qui n'est pas encore démontré pour tous les cas, que 3 kg de produit solide suffisent pour l'inoculation d'un hectare, on peut de suite imaginer les problèmes pratiques qui se poseront. La préparation, pour chaque saison culturale, de plusieurs milliers de doses de produit peut encore se réaliser facilement lorsqu'on dispose du matériel (matières premières, installations de stérilisation) et du personnel indispensables. Nous pouvons même considérer que le prix de revient de ces préparations, à l'endroit même de leur fabrication, serait négligeable en comparaison des résultats certains à obtenir.

Mais, si on s'arrête aux problèmes posés par l'expédition lointaine (à plus de 2.000 km parfois) et par la mise du produit à la disposition d'un utilisateur isolé au moment opportun, on se heurte bientôt à de nouvelles difficultés, moins facilement surmontables.

Pour simplifier le problème, nous disposons heureusement de procédés nouveaux qui, à notre avis, devraient être mis au point assez rapidement en ce qui concerne *Rhizobium*.

Nous proposons donc la solution suivante, pour autant que les techniques en soient mises au point avec précision. Un laboratoire, disposant d'un appareillage pour la lyophilisation à échelle industrielle, pourrait facilement préparer, à partir de cultures liquides très riches, des quantités importantes de *Rhizobium* desséché.

La quantité de bactéries nécessaires pour l'inoculation d'un hectare serait ainsi réduite à quelques grammes. Des expéditions faciles et peu coûteuses, même par voie aérienne, pourraient être effectuées à très longue distance sans aucun inconvénient.

Il suffirait ensuite que l'utilisateur, au reçu de cette poudre de bactéries, en fasse une suspension dans une quantité déterminée de liquide (l'eau suffirait vraisemblablement), qui servirait alors à arroser un substrat solide, non stérile et disponible sur place. L'inoculation pourrait ainsi s'effectuer selon notre technique habituelle.

Telle est la solution que nous proposons d'envisager, moyennant certaines études préliminaires qui auraient pour but de vérifier et les modalités de la préparation et son efficacité.

b. L'inoculation de certaines légumineuses pose des problèmes particuliers qui doivent aussi être résolus.

Nous pensons ici, entre autres, à *Pueraria javanica* qui, sur le terrain, se propage par stolons.

Le pied mère provenant de graines inoculées, le système racinaire principal peut donc être normalement colonisé par la bactérie. De ce pied mère partent de nombreuses ramifications qui s'enracinent, souvent à d'assez grandes distances. Comment ces nouvelles racines pourraient-elles être envahies par *Rhizobium* utilisé pour l'inoculation? La migration de ces microorganismes dans un sol quelconque est trop limitée pour qu'ils puissent atteindre et coloniser les racines stolonifères. Bien entendu, le traitement de la superficie entière du champ, par épandage d'un inoculum semé à la volée, permettrait à toutes les racines de se trouver au voisinage des bactéries symbiotes. En pratique courante, un tel système, théoriquement praticable par la mise au point d'un inoculum sous forme de granulés, n'est guère possible, ne fût-ce qu'en raison des quantités considérables de produit qu'il exige. Pour résoudre ce problème technique, il faudrait, à notre avis, pouvoir répondre à certaines questions qui se posent, notamment :

Les nodules « effectifs » formés sur le système racinaire principal peuvent-ils assurer une fixation symbiotique d'azote, en quantité suffisante? Les tiges et feuilles issues de stolons peuvent-elles profiter de l'azote fixé à distance sur les racines principales?

Une meilleure connaissance de la physiologie de la nutrition de ces légumineuses stolonifères fournirait des indications qui rendraient peut-être inutiles une inoculation généralisée de toutes les touffes appartenant à un seul pied mère. A un autre point de vue cependant, ne convient-il pas de multiplier, le plus possible, le nombre de nodules actifs, pour obtenir, sur des *Pueraria* utilisés comme plantes de couverture, une fixation maximum?

De même, il faudrait poursuivre l'étude détaillée de la migration des *Rhizobium* dans les sols et sélectionner, si possible, sur ce critère, des souches intéressantes.

c. En rapportant ces quelques remarques relatives aux techniques d'inoculation dans les conditions particulières de l'Afrique centrale, nous devons mentionner un travail récent, publié en Australie et qui a trait à l'inoculation des graines de trèfle dans certains sols acides de ces régions.

Après avoir constaté l'inefficacité de l'inoculation, au moyen de cultures liquides, de graines de trèfle semées sur des sols de pH inférieur à 5,5, ANDERSON, LONERAGAN, MEYER et FAUCETT [1956], ont imaginé de mélanger aux graines inoculées cinq livres de carbonate de calcium pulvérulent pour dix livres de semences. Ils sont ainsi parvenus à assurer la survie du *Rhizobium* dans ces sols acides. Dans les conditions locales, ce traitement est apparu suffisant et permet donc d'assurer une bonne nodulation. Ces essais semblent indiquer que, dans le cas particulier du trèfle, la chaux est surtout requise pour combattre l'acidité au voisinage des racines de la plante. Ces auteurs ont constaté de la même façon que le superphosphate d'ammonium (6 % de  $\text{NH}_4$ ) constituait un excellent antiacide, pour favoriser l'installation de la nodulation.

Bien que les sols d'Afrique présentent habituellement des conditions d'acidité autrement sévères que celles rencontrées dans les sols australiens en cause, nous pensons qu'il ne faut pas négliger les données qui viennent d'être rapportées. Elles méritent d'être expérimentées dans les conditions du Congo belge même si, à première vue, nous pensons que les traitements conseillés sont encore nettement insuffisants pour le cas qui nous occupe.

## CHAPITRE V

### ESSAIS EN VASES DE VÉGÉTATION

Un nouvel essai en vases de végétation a été effectué sur une légumineuse non encore étudiée : *Mucuna pruriens* var. *utilis*.

Cette espèce a été choisie en raison de l'intérêt qu'elle présente actuellement, intérêt tel qu'il nécessite la sélection immédiate de souches actives de grande valeur.

Le second but de ces essais consiste dans la vérification des qualités des races de *Rhizobium* choisies selon la nouvelle méthode exposée au chapitre II.

#### 1. Matériel et méthodes.

Seize vases de végétation métalliques, émaillés intérieurement et extérieurement, ont été garnis d'une terre sablonneuse, légère, provenant du champ d'essais de Lilanda. Après humidification convenable, les vases ont été stérilisés à l'autoclave à 120° C par trois passages d'une heure, espacés de vingt-quatre heures. Ils furent ensuite transportés dans la serre expérimentale de la Division d'Agrologie.

Les graines utilisées furent préalablement désinfectées selon la

technique habituelle et semées à raison de trois poquets de deux graines par vase.

Quatre objets, en quatre répétitions, furent constitués, à savoir :

1. quatre vases non inoculés, témoins;
2. quatre vases inoculés de la souche S.23.8;
3. quatre vases inoculés de la souche S.23.10;
4. quatre vases inoculés de la souche S.23.11.

L'inoculation fut réalisée au moyen d'une pincée de vermiculite, riche en bactéries, placée dans chacun des poquets.

Les arrosages furent effectués régulièrement au moyen d'eau bouillie, pour éviter tout apport accidentel de souches quelconques.

## 2. Observations et conclusions.

Après quelques semaines de végétation, les plantes-témoins avaient un aspect jaunâtre, avec des feuilles basales nécrosées.

Par contre, les plantes des quatre vases inoculés au moyen de la souche S. 23.8 étaient d'un vert très foncé et montraient, de façon évidente, qu'elles étaient le siège d'une fixation intense d'azote.

Les huit autres vases, inoculés au moyen des souches S. 23.10 et S. 23.11, portaient également des plantes vertes. Néanmoins, on pouvait juger à l'état de celles-ci que ces deux dernières souches, tout en étant nettement actives, étaient cependant moins efficaces que la souche S. 23.8.

En cours de végétation, des déficiences minérales (en magnésium notamment) ont été corrigées par adjonction périodique de 500 cm<sup>3</sup> d'une solution contenant 3 g de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 3 g de superphosphate triple et 1,5 g de MgO par litre.

Pendant plus d'un mois, les plantes inoculées au moyen de la souche S.23.8 ont conservé une nette supériorité sur les autres sujets inoculés. Par la suite, les individus inoculés avec la souche S.23.10 ont atteint un état physiologique aussi bon. Après un nouveau délai, les plantes inoculées avec la souche S.23.11 étaient comparables à celles traitées avec les deux autres souches.

Bref, pour *Mucuna*, la technique des vases s'est révélée, ici encore, extrêmement utile pour la sélection de souches particulièrement actives.

De plus, les observations ont montré l'activité des trois souches étudiées, précisément choisies selon la nouvelle méthode. Soulignons d'ailleurs que, avant cette vérification, les fiches établies lors de l'isolement de ces souches avaient été rédigées comme suit :

S.23.8. — Isolée d'un nodule simple, prélevé au Jardin agrostologique.

L'intérieur est rouge très foncé. Bâtonnet assez long, avec de très nombreuses formes en Y. Le colorant utilisé, la

fuschine phéniquée, ne prend pas uniformément sur la bactérie; une zone non colorée est souvent visible à l'extrémité du bâtonnet. Les colonies se développent très lentement et peu abondamment; elles montrent une certaine fluorescence.

Souche à surveiller très attentivement; elle doit être particulièrement intéressante si les nouveaux critères de sélection se révèlent sûrs.

S.23.10. — Isolée d'un nodule simple, prélevé au Jardin agrostologique. L'intérieur est rouge foncé. Bâtonnet assez long dont les colonies, de croissance lente, sont mélangées dans les boîtes de Petri avec des colonies, de croissance abondante, constituées de bâtonnets beaucoup plus petits.

S.23.11. — Mêmes annotations que pour la souche S.23.10.

Ainsi donc, l'essai d'inoculation en vases, effectué notamment dans le but de juger la valeur de la nouvelle méthode de sélection, a donné des résultats très satisfaisants. Il s'agit là, croyons-nous, d'un fait important; il semble bien montrer que nous pouvons à présent disposer d'une méthode de travail beaucoup plus rapide et très efficace.

## CHAPITRE VI

### ESSAIS EN CHAMPS, DANS LES CONDITIONS DE LA PRATIQUE AGRICOLE

#### 1. Au Centre de Yangambi.

Trois champs d'essais, comportant chacun quatorze parcelles, ont été installés en 1957 dans trois sols différents.

L'expérience a porté sur : *Soja hispida*, *Arachis hypogaea*, *Mucuna pruriens*, *Stylosanthes gracilis*, *Pueraria javanica*, *Phaseolus angularis* et *Canavalia ensiformis*.

Dans chacun des trois champs, ces sept espèces furent semées sur deux parcelles contiguës, dont une inoculée.

A première vue, on pourrait s'étonner de voir ces essais établis pour chaque champ, sans répétition.

Plusieurs raisons nous ont poussé à agir de cette façon :

1. Nous ne comparons pas ici des souches entre elles, mais des plantes inoculées et non inoculées. Dans le premier cas, les différences peuvent être faibles et interprétables seulement à l'aide du calcul des rendements. Dans le second cas par contre, si différences il y a, celles-ci se marquent d'une façon absolue, sans hésitation possible, ainsi que l'expérience antérieure l'a montré. La réaction à l'inoculation est positive ou négative, sans situation intermédiaire possible.

2. La présence de nodules sur chacune des plantes de la parcelle inoculée et leur absence sur tous les individus-témoins constituent des critères d'observation que l'on peut répéter dans les deux parcelles, pour toutes les plantes. Chacune de celles-ci peut donc être considérée comme une répétition du même objet.

Lorsque dans ce genre d'essais, nous faisons des estimations de rendement, qualitatif et quantitatif, un certain nombre de plantes sont prélevées au hasard (une sur dix par exemple), dans chaque parcelle.

Rappelons que nous avons utilisé pour *Soja hispida* une souche sélectionnée selon les critères habituels et ayant fait ses preuves à Yangambi, lors de nos précédents essais (1956). Sauf pour *Phaseolus angularis*, pour lequel nous ne disposons que d'une souche spécifique de *P. vulgaris*, introduite de Belgique, toutes les autres souches utilisées ont été choisies, comme pour l'essai en vases sur *Mucuna* d'ailleurs, selon les nouveaux critères rapides énoncés précédemment.

Cet essai devait donc servir également à étudier et, éventuellement, à démontrer le bien-fondé de nos observations.

#### MATÉRIEL ET MÉTHODES.

##### a) Champ d'essais de la Division de Phytopathologie.

Situé sur sol pauvre, couvert de graminées, il occupe une superficie de 500 m<sup>2</sup> (25 × 20 m).

L'ensemble a été divisé en seize parcelles de 20 m<sup>2</sup> (5 × 4 m), bordées et séparées, dans toutes les directions, par des sentiers d'un mètre de largeur.

Après enlèvement des graminées, on a procédé à l'épandage de chaux agricole (2,5 t/ha), puis au labour du sol. Chacune des parcelles a reçu, quelques jours avant le semis :

500 g de superphosphate triple (46-48 % de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), soit 100 unités/ha;

500 g de sulfate de potassium (48 % de K<sub>2</sub>O), soit 100 unités/ha;  
250 g de kieserite (26 % de MgO) soit 25 unités/ha.

*Semis.* — Ils furent effectués aux écartements normalement pratiqués pour les différentes espèces, soit en poquets pour *Soja* (variété Palmetto), *Arachis* (A 20), *Phaseolus*, *Mucuna*, *Pueraria* et *Canavalia*, soit en lignes continues pour *Stylosanthes*.

Comme il s'agissait d'un essai effectué dans les conditions de la pratique agricole, aucune graine ne fut désinfectée avant le semis.

*Inoculation.* — Du fait que nous ne connaissions pas encore, au début de l'essai, les qualités de l'inoculum à base de vermiculite, les espèces semées en premier lieu, *Soja*, *Arachis*, *Stylosanthes* et *Pueraria*, ont été inoculées au moyen du substrat solide à base de balles de riz.

Par la suite, seule la vermiculite fut employée. Cette inoculation a toujours eu lieu au moment du semis, soit en plaçant une pincée du produit dans chaque poquet, soit, dans le cas du semis en lignes continues, en couvrant les semences au moyen du substrat utilisé. Bien entendu, les parcelles-témoins furent semées en premier lieu, de façon à éviter toute contamination accidentelle.

#### OBSERVATIONS.

##### *Soja hispida.*

Le semis fut effectué le 12 août. Dès la levée, les plantes ont subi des dégâts de criquets et furent traitées en conséquence.

Une vingtaine de jours après le semis, les plantes inoculées portaient des nodules, rouges à l'intérieur, tandis que les plantes-témoins en étaient pratiquement dépourvues.

Après un mois environ, des différences morphologiques très nettes se sont révélées. A vue, on pouvait estimer que la quantité de matière verte des parcelles traitées était au moins doublée par rapport à celle du témoin. Les différences de développement ne sont pas les seules observées; alors que les plantes inoculées sont d'un vert foncé, celles du témoin sont jaunâtres, de teinte nettement plus claire, caractéristique bien connue de la carence en azote.

Tableau V

##### *Pesée et analyse des plantes de Soja hispida.*

Caractéristique	Parcelle-témoin	Parcelle inoculée
Rendement en graines (matière sèche pour dix plants, séchage à 105°C) . . . . .	28,4 ± 3,8 g	51,4 ± 9,8 g
Nombre de graines sur 20 m <sup>2</sup>	787	1.657
N en % de la matière sèche :		
dans les tiges . . . . .	0,61	1,01
dans les feuilles . . . . .	2,30	3,45
dans les gousses . . . . .	0,81	0,86
dans les graines . . . . .	6,23	7,80
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en graines (m.s.)		1,8
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en graines (N) .		2,26

La récolte a été effectuée le 4 novembre, selon les modalités suivantes :

1. Prélèvement dans chaque parcelle de cinq lots de dix plantes; pesée et analyse de chaque lot.
2. Récolte de toutes les plantes restantes; examen des racines. Celui-ci a révélé une absence totale de nodules sur les plantes-témoins et une nodulation abondante sur les individus inoculés (nodules généralement assez gros).

*Arachis hypogaea.*

La variété A 20, semée le 13 août, a levé de façon régulière. Il faut signaler que, contrairement au soja, les arachides semblent ne pas être attaquées par les criquets.

A trois semaines, on ne note aucune différence morphologique sensible; néanmoins, les sujets inoculés portent de nombreux nodules, encore petits mais bien rouges à l'intérieur. Par contre, dans la parcelle-témoin, aucun nodule rouge n'a pu être observé sur les plantes prélevées. On y constate la présence de quelques nodosités, plus exactement de quelques « gonflements » radiculaires (il pourrait donc s'agir de faux nodules), tous blancs à l'intérieur.

Un mois après le semis, on observe de nettes différences de teinte entre les deux parcelles, différences qui s'accroîtront d'ailleurs par la suite. De plus, le sol est complètement couvert dans la partie traitée, alors que dans le témoin, il est loin de l'être. Il est intéressant d'ajouter que plusieurs plantes de la parcelle-témoin sont atteintes de rosette alors que tous les individus inoculés sont sains. Cette remarque sera faite également dans d'autres champs.

La récolte a été effectuée le 20 novembre, de la même manière que pour le soja. Dans la parcelle inoculée, les racines sont abondamment nodulées, notamment sur le pivot qui est généralement couvert de nombreux nodules assez gros (3 à 4 mm). Sur les racines latérales, les nodules sont également nombreux mais plus petits et moins « effectifs ».

Chez le témoin, la nodulation est très irrégulière, avec des plantes, soit complètement dépourvues de nodules, soit couvertes de petites nodosités, localisées uniquement sur les racines latérales. Tous les stades intermédiaires entre ces deux extrêmes ont pu être observés.



Tableau VI  
Pesée et analyse des plantes de *Arachis hypogaea*.

Caractéristique	Parcelle-témoin	Parcelle inoculée
Rendement en gousses (matière sèche pour dix plants) . . .	15,6 g	26,4 g
Rendement en amandes (matière sèche pour dix plants).	47,2 ± 11 g	84,6 ± 12,5 g
Nombre d'amandes sur 20 m <sup>2</sup>	1.306	3.048
N en % de la matière sèche :		
dans les tiges . . . . .	0,76	2,14
dans les feuilles . . . . .	1,93	3,25
dans les gousses . . . . .	1,16	1,24
dans les amandes . . . . .	3,93	5,40
Teneur en huile (%) . . . . .	53,9	48,3
Rendement en huile . . . . .	25,45 g	40,86 g
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en amandes (m.s.)	1,79	
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en amandes (N).	2,46	

*Pueraria javanica*.

De très grandes difficultés ont été rencontrées pour obtenir de bonnes parcelles de *Pueraria*. La germination des graines de cette espèce est très mauvaise, même après traitement à l'acide sulfurique concentré.

Fin septembre, seules l'une ou l'autre plante était visible dans les deux parcelles de sorte qu'aucune observation n'a pu être faite. Ainsi que nous l'avons déjà signalé, il y aurait un intérêt certain à entamer une étude systématique des facteurs qui déclenchent la germination de certaines graines de légumineuses. En se plaçant au point de vue strictement pratique, les conclusions de ces travaux seraient très profitables.

*Stylosanthes gracilis*.

Les parcelles ont été semées le 13 août au moyen de graines préalablement trempées, pendant un quart d'heure, dans de l'eau à 55° C. Néanmoins, pendant les premières semaines, la germination et la levée ont été fort irrégulières. Il a fallu un mois et demi pour que les parcelles soient normalement peuplées. Cent-trente jours après le semis, le recouvrement des parcelles est très bon mais aucune différence n'est appréciable entre la parcelle-témoin et la parcelle inoculée.

*Phaseolus angularis.*

Le semis a été effectué le 27 août. L'inoculation de la parcelle traitée fut effectuée au moyen d'une souche spécifique de *P. vulgaris*, isolée en Belgique. Nous n'avons pu, en effet, trouver à Yangambi le matériel végétal indispensable à l'isolement d'une souche spécifique de l'espèce en cause.

En début de végétation, les deux parcelles étaient de teinte jaune très nette. Cinquante jours après le semis, les plantes inoculées ont acquis une teinte verte significative.

Malgré les pulvérisations, d'importants dégâts d'insectes sont apparus et se sont maintenus dans la parcelle-témoin. A première vue, en raison de ces dégâts, on pourrait hésiter sur la valeur des renseignements fournis par les pesées et analyses effectuées à la récolte, réalisée le 19 novembre.

A notre avis, ces renseignements sont à prendre en considération, puisque les dommages se sont limités au témoin et qu'ils peuvent être dus à son mauvais état physiologique, consécutif à une déficience en azote.

A la récolte, parmi cinquante plantes examinées dans la parcelle-témoin, une seule portait un nodule. Dans la parcelle inoculée par contre, si certaines plantes sont dépourvues de nodosités, d'autres en portent une ou deux, d'autres enfin en sont très riches.

Tableau VII

*Pesée et analyse des plantes de Phaseolus angularis.*

Caractéristique	Parcelle-témoin		Parcelle inoculée	
	Matière sèche (g)	Teneur en N (% de m.s.)	Matière sèche (g)	Teneur en N (% de m.s.)
Tiges . . . . .	11,2	0,64	17,4	0,86
Gousses . . . . .	7,0	1,26	14,4	1,49
Grains . . . . .	19,2 ± 4,6	3,57	40,6 ± 7,8	3,59
Rapport « Inoculé/ Témoin » des rendements en grains.	2,11			

### *Mucuna pruriens.*

Le semis a été effectué le 6 septembre et l'inoculation fut réalisée au moyen de la souche S.23.8 qui a donné d'excellents résultats lors des cultures en vases de végétation (cfr chapitre précédent).

Des différences nettes dans les teintes du feuillage sont apparues quarante-cinq jours après le semis. Les plantes inoculées sont restées bien vertes tandis que les plants-témoins ont marqué un jaunissement très accentué. Le recouvrement, faible dans les parcelles-témoins, était dense dans la parcelle inoculée.

Après avoir été très sensibles, ces différences se sont atténuées trois mois après le semis, pour disparaître complètement après quatre mois environ.

Ceci semble indiquer que des souches quelconques de *Rhizobium* du sol ont pu s'adapter au *Mucuna* et qu'une symbiose active s'est finalement installée. Nous ne disposons pas de renseignements concernant la récolte; il serait cependant intéressant de suivre avec précision l'évolution de telles parcelles, pour vérifier si la nette avance, prise par les plantes inoculées, se répercute encore sur les rendements en matière sèche et en azote.

### *Canavalia ensiformis.*

Les parcelles furent semées le 25 septembre. Les observations faites à leur sujet sont du même ordre que pour *Mucuna*. De très nettes différences de teinte sont apparues; elles se sont peu à peu atténuées pour disparaître complètement.

### b) Champs d'essais de la Division des Plantes vivrières, au « Couloir 11 ».

Il s'agit ici d'un sol nettement meilleur que dans le premier cas et cultivé depuis plusieurs années; les précédents immédiats sont le maïs et le manioc.

La superficie totale et la dimension des parcelles sont les mêmes que pour le premier champ. La terre a été travaillée de façon semblable et a reçu de la chaux et des engrais (P, K, Mg) en doses identiques. De plus, on a eu recours au même matériel végétal.

### *Soja hispida.*

Le semis a été effectué le 21 août et, dès la levée, les plantes ont été traitées contre les criquets qui, ici encore, pouvaient causer des dégâts importants.

Fin octobre, soit deux mois après le semis, de nettes différences de teinte sont apparues. Les plants inoculés sont restés colorés en vert franc jusqu'à la fin de la végétation, tandis que les plantes-témoins marquaient un jaunissement croissant. Rappelons que dans le champ



Fig. 1. — *Mucuna pruriens*.

A droite : la parcelle-témoin précède la parcelle inoculée.

A gauche : vue partielle des parcelles de *Phaseolus angularis*.

PHOTO SEEGER



Fig. 2. — *Arachis hypogaea*.

A l'avant-plan : la parcelle-témoin précède la parcelle inoculée.

A gauche : parcelles de *Phaseolus angularis*.

A la partie supérieure droite : vue partielle des parcelles de *Canavalia ensiformis*.

PHOTO SEEGER



de la Division de Phytopathologie, les différences étaient déjà nettes quarante jours après le semis.

Dans ces parcelles du « Couloir 11 », la qualité du sol est nettement supérieure et a, sans aucun doute, permis au soja de vivre plus longtemps sur les réserves azotées du milieu.

Lors de la récolte, le 14 novembre, on a pu constater que les sojas inoculés étaient abondamment nodulés, tandis qu'aucune nodosité n'a pu être observée sur les racines des témoins.

Tableau VIII  
*Pesée et analyse des plantes de Soja hispida.*

Caractéristique	Parcelle-témoin		Parcelle inoculée	
	Matière sèche (g)	Teneur en N (% de m.s.)	Matière sèche (g)	Teneur en N (% de m.s.)
Tiges . . . . .	20,0	0,71	26,0	0,93
Feuilles . . . . .	—	2,83	—	2,96
Gousses . . . . .	38,4	0,65	56,6	0,93
Graines . . . . .	68,2 ± 7,6	6,57	132,0 ± 19,6	7,49
Nombre de graines sur 20 m <sup>2</sup> . . . .	2.431		4.672	
Teneur en huile (%)	21,2		20,2	
Rendement en huile	144,58 g		266,64 g	
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en graines (m.s.) . . . . .			1,93	
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en graines (N) . . . . .			2,2	

*Arachis hypogaea.*

Les arachides ont été également semées le 21 août. La levée fut excellente et aucun dégât de criquets ne fut constaté.

Après dix-huit jours de végétation, on note sur les plantes inoculées de nombreux nodules rouges alors que les nodosités sont très rares sur les plantes-témoins (un nodule pour trois plantes).

Trois semaines après le semis, des différences de densité, de végétation et de teinte se sont marquées peu à peu pour devenir bientôt

très nettes. Fin septembre, les plantes-témoins étaient d'un vert jaunâtre, comparées aux plantes inoculées d'un vert foncé, plus denses et couvrant mieux le sol. Ces différences se sont accentuées jusqu'à la récolte.

Des différences dans la vigueur végétative furent également observées, dans une mesure moindre cependant qu'au champ de la Division de Phytopathologie.

On enregistra une sévère attaque de rosette dans la parcelle-témoin, alors que les symptômes étaient nuls dans la partie inoculée.

La récolte a été effectuée le 28 novembre, toujours selon les mêmes modalités. Dans la parcelle inoculée, les racines sont abondamment nodulées, avec un pivot généralement couvert de nodules nombreux et assez gros (3 à 4 mm), dont certains possèdent encore un centre rouge. Dans la parcelle-témoin, la nodulation est irrégulière, avec de petites nodosités localisées uniquement sur les racines latérales; ceci semble indiquer que des souches quelconques du sol se sont adaptées tardivement à l'arachide, d'une manière d'ailleurs peu « effective ».

Tableau IX  
*Pesée et analyse des plantes de Arachis hypogaea.*

Caractéristique	Parcelle-témoin		Parcelle inoculée	
	Matière sèche (g)	Teneur en N (% de m.s.)	Matière sèche (g)	Teneur en N (% de m.s.)
Tiges . . . . .	—	1,01	—	1,04
Gousses . . . . .	33,2	0,90	47,8	1,17
Amandes . . . . .	88,6 ± 34,2	2,94	149,4 ± 15,3	4,83
Nombre d'amandes sur 20 m <sup>2</sup> . . . .	3.330		5.580	
Teneur en huile (%)	54,9		52,6	
Rendement en huile	48,64 g		78,58 g	
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en amandes (m.s.) . . . .			1,68	
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en amandes (N) . . . . .			2,77	

*Mucuna pruriens.*

Les parcelles furent semées le 7 septembre; l'inoculation fut effectuée au moyen de la souche S.23.8.

De nettes différences dans la teinte du feuillage sont apparues après un mois de culture. Les plantes inoculées sont restées bien vertes, tandis que les individus-témoins marquaient un net jaunissement.

Sept semaines après le semis, ces différences se sont atténuées et n'existaient plus trois semaines après.

*Pueraria javanica.*

Les deux parcellesensemencées ont dû être abandonnées; la levée fut en effet très mauvaise par suite de l'irrégularité de la germination des graines, malgré leur traitement préalable à H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

*Stylosanthes gracilis.*

La levée a été très lente mais assez régulière. Le recouvrement était très bon, cent-trente jours après le semis. Mais, en raison sans doute de l'extrême lenteur du développement, aucune différence n'était perceptible entre parcelle-témoin et parcelle inoculée (les souches indigènes ont eu le temps de s'adapter).

*Phaseolus angularis.*

Dans ces parcelles, toutes les plantes, inoculées et -témoins, ont subi diverses attaques de parasites; des examens ont révélé que la plupart des racines étaient nécrosées. Dans de telles conditions, aucune observation utile n'a pu être effectuée.

*Canavalia ensiformis.*

Ici aussi, comme au champ de la Division de Phytopathologie, des différences de teinte du feuillage sont apparues qui, après avoir été très nettes, s'atténuèrent progressivement pour disparaître ensuite complètement.

c) Champ d'essais de la Division des Plantes vivrières, à la « Pépinière A ».

Le sol est ici de bonne qualité. On a recouru au même matériel expérimental et on a appliqué les mêmes façons culturales que précédemment.

*Soja hispida.*

Le semis a été effectué le 26 août.

Après deux mois, la parcelle inoculée était nettement plus verte que le témoin. Jusqu'à la fin de la végétation, les plantes non inoculées ont accusé un jaunissement croissant.



La récolte a été effectuée le 25 novembre. On a enregistré une absence totale de nodules sur les plantes non inoculées et une nodulation abondante dans les parcelles traitées, moins régulière toutefois que dans les deux autres champs.

Tableau X

*Pesée et analyse des plantes de Soja hispida.*

Caractéristique	Parcelle-témoin		Parcelle inoculée	
	Matière sèche (g)	Teneur en N (% de m.s.)	Matière sèche (g)	Teneur en N (% de m.s.)
Tiges . . . . .	—	1,24	—	1,15
Feuilles . . . . .	—	3,70	—	3,18
Gousses . . . . .	34,6	1,39	35,2	1,22
Graines . . . . .	44,8 ± 3,0	6,65	62,2 ± 3,4	6,98
Nombre de graines sur 20 m <sup>2</sup> . . . . .	1.089		1.304	
Teneur en huile (%)	21,6		21,6	
Rendement en huile	9,68 g		13,43 g	
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en graines (m.s.) . . . . .	1,38			
Rapport « Inoculé/Témoin » des rendements en graines (N) . . . . .	1,45			

*Arachis hypogaea.*

Dans ces parcelles, aucune différence n'a pu être observée.

La récolte a fait constater que les racines des plantes-témoins étaient aussi bien nodulées que celles de la parcelle inoculée.

Rappelons que le sol est ici de qualité nettement supérieure aux précédents et que l'arachide a donc pu y trouver les souches de *Rhizobium* adaptées. Peut-être la qualité du sol a-t-elle permis dans ce cas particulier la survie de *Rhizobium* issus, soit d'une culture précédente d'arachide, soit d'autres légumineuses. Il faut souligner en

effet que l'arachide s'adapte assez facilement à des types très divers de *Rhizobium*. Notons que, dans ce champ, seule la parcelle inoculée a été atteinte de rosette.

*Pueraria javanica.*

Quatre mois après l'établissement des parcelles, le recouvrement du sol n'était pas encore total : la levée très mauvaise et tardive nous a obligé à abandonner toute observation.

*Mucuna pruriens.*

Dans les parcelles de la « Pépinière A », aucune différence n'a pu être décelée au cours de la végétation, entre plantes-témoins et plantes traitées.

*Stylosanthes gracilis.*

Ici, comme dans les deux autres champs, aucun résultat positif n'a été enregistré.

*Phaseolus angularis.*

A la « Pépinière A », comme au « Couloir 11 », les plantes inoculées et -témoins ont subi diverses attaques de parasites; aucune observation utile n'a été effectuée.

*Canavalia ensiformis.*

Aucune différence n'a pu être décelée, même au début de la végétation.

## 2. En dehors du Centre de Yangambi.

a) Semis mécanique de soja, effectué à Keyberg en novembre 1957.

En raison des résultats obtenus jusqu'à présent à Yangambi, par inoculation des graines de soja, des essais ont été organisés à la Station de Keyberg, où la culture du soja fourrager notamment présente un intérêt particulier pour l'économie de l'élevage bovin.

En novembre 1957, on a inoculé 75 ares de soja, semé mécaniquement. Des bandes-témoins devaient servir de référence.

A cette fin, nous avons préparé au début du mois de septembre dix bidons métalliques de cinq litres; chacun des récipients utilisés contenait un inoculum solide sur vermiculite répondant à la formule suivante :

- 450 g de vermiculite tamisée;
- 15 g de  $\text{CaCO}_3$  ;
- 15 g de  $\text{CaSO}_4$  ;
- 15 g de  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  ;
- 2 litres de milieu de WRIGHT modifié, tel que formulé précédemment.

Après stérilisation, les bidons fermés à l'ouate ont été ensemencés par la souche S. 3.15 et mis à incuber jusqu'au moment de l'envoi. Pour l'expédition à Keyberg, les bourres d'ouate ont été remplacées par les bouchons métalliques à visser, stérilisés préalablement.

Le contenu d'un bidon et demi a été mélangé intimement aux graines, immédiatement avant leur distribution. Il s'agissait donc ici d'un semis mécanique dont les résultats devaient être particulièrement instructifs.

Les résultats ont été très nets. Sans pouvoir encore donner de détails sur les rendements quantitatif et qualitatif, on peut signaler que, en cours de végétation, les différences étaient très sensibles, tout particulièrement quant à la teinte du feuillage.

Ces faits montrent les possibilités d'inoculer artificiellement de grandes quantités de graines, comme c'est le cas en culture mécanisée.

#### b) Essais en cours.

##### *Soja.*

A Keyberg encore, deux essais d'engrais ont été installés, l'un (600 m<sup>2</sup>) sur soja grainier (variété Halberbland), l'autre (700 m<sup>2</sup>) sur soja fourrager (variété SHO 2). Leur but consistait notamment à comparer les effets de la fumure azotée à ceux d'une simple inoculation.

Cinq objets ont été étudiés :

1. L'inoculation;
2. L'azote;
3. L'acide phosphorique;
4. Le potassium;
5. Le calcium.

Notons que l'inoculation a été, ici aussi, réalisée au moyen du substrat à base de vermiculite et que le semis a été effectué manuellement.

##### *Luzerne.*

Un essai d'inoculation sur luzerne, dite d'Afrique du Sud, semée en lignes continues, a été entrepris en mars 1958 à la Station de Keyberg.

### 3. Conclusions des essais en champs.

A l'exception de *Stylosanthes gracilis*, dont la levée a été très tardive et le développement extrêmement lent, et de *Pueraria javanica*,

dont les parcelles ont du être abandonnées par suite de la mauvaise germination des graines, toutes les légumineuses expérimentées ont réagi positivement à l'inoculation.

Les résultats obtenus par l'inoculation du soja confirment les observations déjà faites en 1956. Même dans le sol de bonne qualité de la « Pépinière A », *Rhizobium* introduit a provoqué une augmentation, non seulement de la matière sèche récoltée mais aussi de la teneur en azote. Si la richesse en huile des graines obtenues s'est révélée un peu plus faible dans une des deux parcelles inoculées pour lesquelles l'analyse a été effectuée (l'augmentation de la teneur en protéines entraîne généralement un abaissement de la teneur en huile et ce, pour toutes les plantes oléagineuses), la production totale est cependant fortement accrue puisque les rendements en matière sèche sont nettement plus élevés. Le fait que, dans trois sols distincts de qualités différentes (pauvre, moyen et assez bon), les plantes-témoins étaient complètement dépourvues de nodules prouve à suffisance que le soja a des exigences très strictes quant à la spécificité des souches de *Rhizobium*.

L'inoculation du soja apparaît donc comme une pratique absolument indispensable.

Pour ce qui est de l'arachide, il faut souligner que, à notre connaissance, aucun résultat appréciable n'avait été jusqu'à présent rapporté dans la bibliographie. Il fut souvent constaté que cette espèce s'adaptait facilement à des types très divers de *Rhizobium* et que, par conséquent, l'inoculation ne s'avérait en aucun cas nécessaire. Sans doute ces considérations n'ont-elles de valeur que pour certains sols relativement riches car, dans les sols pauvres ou de qualité moyenne où nous avons expérimenté à Yangambi, les résultats de l'inoculation ont été très nets et inversement proportionnels à la qualité du milieu. Seule, la parcelle inoculée de la « Pépinière A » (sol assez bon) n'a pratiquement pas réagi, encore que, trois semaines après le semis, la nodulation y était nettement supérieure à celle de la parcelle-témoin. Il est néanmoins certain que des types très divers de *Rhizobium* peuvent s'adapter assez facilement à l'arachide puisque, même dans les parcelles où des différences se sont marquées, les plantes-témoins portaient des nodules en fin de végétation, nodules formés tardivement sur les racines latérales uniquement et trop peu « effectifs » pour que la récolte puisse extérioriser une bonne fixation d'azote.

Il est remarquable qu'en conditions équatoriales l'arachide ait réagi aussi nettement à l'inoculation, quoique celle-ci ait été réalisée au départ d'une souche dont la sélection avait été extrêmement rapide et uniquement basée sur des critères de morphologie microbienne. Les résultats obtenus montrent par ailleurs d'une façon

pertinente la valeur de ces nouveaux critères de sélection, utilisés pour la première fois.

Il faut reconnaître que, étant donné la réputation faite à l'arachide en ce qui concerne sa réaction à l'inoculation, nous avons été quelque peu surpris d'obtenir, dans les conditions équatoriales, un résultat positif indiscutable.

La pratique de l'inoculation doit donc, dès à présent, être envisagée très sérieusement pour cette espèce, tout particulièrement dans certaines conditions écologiques défavorables, telles celles du Kwango (1).

Pour *Phaseolus angularis*, deux champs ont dû être négligés en raison d'attaques parasitaires. Dans le troisième par contre, la parcelle inoculée a verdi tandis que le témoin est resté jaune et a dû faire face à une sérieuse attaque d'insectes, peut-être favorisée par un moins bon état physiologique, consécutif à la déficience en azote. Notons que ce résultat a été acquis alors que la souche bactérienne utilisée a été isolée en Belgique sur *P. vulgaris*. Cet essai d'observation est d'autant plus encourageant et fait également bien augurer des possibilités offertes par cette espèce.

Pour *Mucuna* et *Canavalia*, les observations montrent que, par inoculation, les plantes acquièrent une très nette avance.

Des essais complémentaires nous renseigneront plus amplement sur l'efficacité du procédé dans la pratique agricole. Même si ces espèces s'adaptent assez facilement à des souches quelconques du sol, il est à prévoir que la croissance plus rapide, due à l'inoculation artificielle, pourra se répercuter favorablement sur les rendements.

## CONCLUSIONS GÉNÉRALES ET PROBLÈMES PARTICULIERS A RÉSOUDRE

### 1. Possibilités offertes.

Les résultats acquis en 1957 confirment la conclusion à laquelle nous avons abouti l'an dernier : l'intérêt indiscutable de l'inoculation des légumineuses au Congo belge.

Cinq plantes parmi les plus importantes : *Soja*, *Arachis*, *Phaseolus*, *Mucuna* et *Canavalia* ont réagi spectaculairement. Il s'agit cependant de légumineuses physiologiquement bien différentes.

---

(1) Le problème de l'inoculation de *Voandzea subterranea* mériterait, sans aucun doute, d'être envisagé dans cette région.

En 1956, les résultats positifs en champs étaient limités au soja, dont le *Rhizobium* est étroitement spécifique et qui réagit très facilement à l'inoculation. En choisissant notamment, en 1957, l'arachide, *Mucuna* et *Canavalia*, qui constituent des espèces défavorables au point de vue qui nous occupe, en raison de leurs propriétés d'adaptation particulières à des types très divers de *Rhizobium*, nous croyons avoir démontré d'une façon définitive le bien-fondé d'une technique, dont la généralisation, immédiate dans toutes les mauvaises situations et prévisible à l'avenir dans les bonnes situations dès que des souches de grande valeur seront disponibles, peut résoudre, gratuitement pourrait-on dire, le problème des ressources en azote. Les faits montrent qu'on peut aisément résoudre le problème de l'azote et disposer à volonté des réserves illimitées de l'atmosphère.

En intercalant, dans toutes les rotations, des cultures de légumineuses, en les utilisant également comme plantes de couverture et de sidération, il est possible, dès à présent, de passer rapidement à des systèmes intensifs de culture, pour autant que nous placions ces légumineuses dans des conditions telles qu'elles puissent exercer leur action fixatrice au maximum. Telle est la conclusion essentielle que nous pouvons tirer à la suite des travaux effectués jusqu'à présent à Yangambi.

## 2. Comment réaliser ce but ?

Pour parvenir à nos fins, il est indispensable de poursuivre, sans désespérer, l'exécution du programme proposé.

Il faudra de nombreuses années, disions-nous l'an dernier, pour qu'on puisse disposer de toutes les souches sélectionnées, nécessaires pour tous les cas et toutes les situations.

Il s'agissait là d'une réserve importante qui reportait à un avenir plus ou moins éloigné certaines réalisations. Nous pensons maintenant qu'en s'inspirant des méthodes rapides de sélection des souches dont nous avons parlé précédemment on pourrait, dans un avenir assez rapproché, disposer du matériel biologique indispensable. Les résultats obtenus sur *Arachis* et *Mucuna* le prouvent à suffisance. Il est donc possible d'inoculer rapidement toute une série d'espèces, avec toutes les conséquences favorables que l'on devine.

Peut-être les méthodes classiques de sélection permettraient-elles dans certains cas de parvenir à des résultats supérieurs; aussi, nous croyons qu'elles ne devraient pas être négligées. Néanmoins, il faut les réserver pour l'avenir, quand l'essentiel du travail sera accompli. Lorsque toutes les légumineuses intéressantes pourront être inoculées efficacement avec des souches actives, nous tenterons de perfectionner notre travail en améliorant les qualités de nos souches par une technique plus délicate et, forcément, plus longue.

Il nous paraît donc opportun, dans toutes les situations du Congo, de procéder à des essais généralisés d'inoculation des espèces cultivées, au fur et à mesure, bien entendu, que des souches seront disponibles.

Nous n'avons pas encore pu étudier d'autres régions que celle de Yangambi mais nous savons, par exemple, que des *Trifolium* et des *Medicago* cultivés à Nioka sont déficients au point de vue de la symbiose. Toutes les Stations de l'I.N.É.A.C., tous les centres de culture disséminés au Congo ont leurs problèmes « légumineuses » que l'on pourrait tenter de résoudre très rapidement.

Une remarque s'impose ici : sous prétexte de résoudre immédiatement le problème de toutes les légumineuses au Congo, il ne faudrait, en aucune manière, utiliser n'importe quelle souche bactérienne. Il revient aux spécialistes de juger du moment où une souche peut être raisonnablement expérimentée.

Il importe donc d'attribuer aux diverses espèces un ordre d'importance et de passer aux réalisations uniquement sur des légumineuses pour lesquelles des souches sont disponibles.

L'utilisation pratique de souches quelconques amènerait de nombreux résultats négatifs, qui influenceraient défavorablement les expérimentateurs. L'exemple des régions tempérées nous prouve à suffisance la pertinence de cette remarque.

Pour mener à bien la tâche entreprise, il est donc indispensable de concilier l'urgence du problème à résoudre et celui des ressources azotées avec la nécessité absolue de disposer de souches pouvant donner toutes garanties.

### 3. Techniques d'inoculation.

Un progrès certain a été réalisé par la préparation d'inoculum sur vermiculite. Le grand avantage de ce substrat réside dans le fait qu'il ne s'agglomère pas au contact des liquides dont il peut absorber sans inconvénient jusqu'à cinq fois son poids. Grâce à lui, l'inoculation des graines semées mécaniquement est rendue possible, par simple mélange préalable.

Certaines données restent néanmoins à mettre au point et, notamment, les causes du développement irrégulier et lent de certaines souches sur ce substrat.

D'autre part, il résulte de l'essai rapporté plus haut concernant le volume d'inoculum à utiliser que des quantités relativement importantes de produit seront nécessaires pour l'inoculation d'un hectare.

Nous estimons à un minimum de 3 kg/ha le poids de substrat nécessaire. Si ces quantités n'offrent aucun inconvénient lorsqu'elles sont utilisées à l'endroit même de leur préparation (dans un pays de faible superficie par exemple), il n'en va pas de même au Congo belge, où l'on travaille à une échelle beaucoup plus vaste. Comme

nous l'avons déjà proposé, l'idéal serait de préparer dans un laboratoire central des bactéries lyophilisées. Dans ce cas, quelques grammes suffiraient pour un hectare et ces faibles doses pourraient très facilement être expédiées à longue distance. Nous ne devons cependant pas perdre de vue qu'à notre avis, l'inoculation devra toujours se pratiquer à l'aide d'un substrat solide. Au moment d'effectuer un semis, il faudrait donc que l'utilisateur suspende les quelques grammes de bactéries lyophilisées dans une quantité déterminée d'eau, qui serait ensuite absorbée par une quantité donnée d'un substrat solide, comme la vermiculite. Un tel procédé n'offre pas de difficultés particulières, ainsi qu'en témoigne l'exemple concret suivant.

Si 3 kg d'inoculum-vermiculite sont nécessaires à l'hectare, cette quantité contient, sur la base minimum d'un milliard de micro-germes au gramme, 3.000 milliards de *Rhizobium* vivants, soit un poids net de bactéries que l'on peut qualifier d'insignifiant. Ces bactéries, lyophilisées, seraient suspendues dans 2,5 litres d'eau, qui serait alors absorbée par 500 g de vermiculite sèche. L'inoculation pourrait ensuite être effectuée selon le procédé habituel, tel que nous l'avons utilisé.

Telle est à notre avis la solution à envisager et à comparer aux autres procédés. Ceci implique évidemment une série de mises au point assez longues. Il s'agit essentiellement d'étudier le meilleur procédé de lyophilisation du *Rhizobium*, de façon à conserver et la vitalité et les qualités des différentes souches.

Si la technique proposée tenait ses promesses, il s'agirait de disposer d'un appareil de type industriel permettant la préparation, sur une grande échelle, de quantités relativement importantes de bactéries lyophilisées.

En attendant la solution de ces problèmes, nous serons obligés, pendant un certain temps encore, de préparer en laboratoire le produit complet, tel qu'il a été utilisé jusqu'ici.

En définitive, la solution du problème technique de l'inoculation relève avant tout de considérations économiques. Il faudrait comparer le prix de revient des *Rhizobium* lyophilisés (il s'agit d'un procédé coûteux), à celui des substrats solides tout préparés, rendus à leur destination définitive.

On peut enfin se demander si le procédé utilisant les bactéries lyophilisées serait facilement applicable. Il faut en effet souligner que l'inoculation doit devenir une pratique culturale qui puisse être généralisée; il est à craindre qu'un planteur non averti éprouve des difficultés à effectuer les manipulations exigées par l'emploi du *Rhizobium* lyophilisé.

A prix égal ou même légèrement supérieur, ne conviendrait-il donc pas de donner la préférence aux produits tout préparés? Seule l'expérience pourra nous renseigner à cet égard.



#### **4. Problèmes matériels posés par la préparation des produits destinés à l'inoculation.**

Comme l'inoculation des graines de légumineuses au Congo belge peut très rapidement concerner des milliers, voire des dizaines de milliers d'hectares, des problèmes d'organisation matérielle devront être résolus.

La préparation des produits, leur stockage et leur expédition dans des récipients adéquats exigent du personnel technique et un outillage approprié.

Ces produits à usage pratique pourront être fabriqués par des firmes industrielles et commerciales spécialisées, au départ des souches sélectionnées. Un contrôle de la qualité des produits devra être instauré.

Il est clair que seules des souches de valeur devront être mises à la disposition de l'agriculture, pour telles et telles légumineuses, au fur et à mesure des possibilités.

#### **5. L'inoculation dans les régions autres que la Cuvette équatoriale.**

On peut se demander si, dès à présent, il est possible de passer à des réalisations pratiques en dehors de la Cuvette centrale, dans les autres régions naturelles du Congo. La réponse est affirmative. Les expériences positives effectuées sur soja, par exemple, le démontrent à suffisance, les parcelles ayant, en effet, été inoculées au moyen d'une souche sélectionnée en Belgique, dans des conditions écologiques très différentes. Nous ne prétendons pas que, dans certains cas, des souches isolées sur place, sur des légumineuses adaptées écologiquement, ne peuvent se révéler plus actives, mais nous estimons que les résultats à obtenir seront très satisfaisants et qu'ils ne doivent pas être négligés.

Nous ajouterons que les réalisations peuvent non seulement porter sur les légumineuses expérimentées avec succès à Yangambi (soja, arachide et *Mucuna*), mais aussi sur des espèces cultivées dans d'autres régions (*Medicago*, *Trifolium*, *Lupinus*, etc.), pour lesquelles des souches actives sont disponibles.

#### **6. La réinoculation sera-t-elle nécessaire dans des sols ayant porté précédemment une légumineuse inoculée?**

Il va sans dire que cette opération est indispensable lorsqu'on sème sur un sol une espèce qui n'y a jamais été cultivée précédemment. Sans doute existe-t-il des groupes de légumineuses dont les espèces se laissent coloniser « effectivement » par une seule et même souche; mais, encore que ces groupes ne soient pas toujours exactement définis, il n'entre pas dans les possibilités d'un utilisateur ordinaire de

pouvoir préjuger, en connaissance de cause, des exigences particulières de telles ou telles espèces. De plus, dans les conditions écologiques défavorables du Congo (sol, climat, etc.), nous ne pouvons affirmer, loin s'en faut, que la souche précédemment inoculée puisse se maintenir plusieurs années en quantité et en qualité suffisantes. En régions tempérées, cette survivance des souches est réservée à certains sols de très haute qualité, qu'on ne rencontre généralement pas en Afrique centrale.

Ces considérations ont été développées précédemment [BONNIER, 1957].

Nous basant sur ces données, nous pouvons même ajouter que la réinoculation nous semble devoir s'imposer dans tous les cas, même lorsqu'une légumineuse déterminée revient sur un même sol, après une interruption plus ou moins longue, dans une rotation par exemple. Il importe d'ailleurs de souligner que le prix de revient de l'opération est négligeable, en comparaison de l'augmentation de rendement obtenue.



## BIBLIOGRAPHIE

- 1948 - ANDERSON, A.J. et SPENCER, D., Lime in relation to clover nodulation at sites on the Southern Tablelands of New South Wales, *Jl Austr. Inst. agric. Sci.*, XIV, 1, p. 39-41.
- 1956 - ANDERSON, A.J., LONERAGAN, J.F., MEYER, D. et FAUCETT, R.G., The Establishment of Legumes on acid soils, Rural Research in CSIRO (Australia).
- BOND, G., Communication personnelle.
- 1950 - BONNIER, C., Formation de nodosités radiculaires sur *Soja hispida* M., dans une terre dépourvue du *Rhizobium* spécifique, *Bull. Inst. agr. Stat. Rech. Gembloux*, XVIII, 1-2, p. 218-9.
- 1951 - BONNIER, C., Formation de nodosités radiculaires sur *Arachis hypogaea* L., dans une terre dépourvue du *Rhizobium* spécifique, *Bull. Inst. agr. Stat. Rech. Gembloux*, XIX, 1-2, p. 229-30.
- 1957 - BONNIER, C., Symbiose *Rhizobium*-Légumineuses en région équatoriale, Public. I.N.É.A.C., sér. scient., n° 72.
- s.d. - BONNIER, C., Observations non publiées.
- EVRARD, C., Communication personnelle.
- 1953 - GRIM, R.E., Clay mineralogy, McGraw-Hill Publishing Cy Ltd, New-York.
- 1957 - HELY, F.W., BERGERSEN, F.J. et BROCKWELL, J., Microbial antagonism in the rhizosphere as a factor in the failure of inoculation of subterranean clover, *Austr. Jl Agr. Res.*, VIII, 1, p. 24-44.
- 1957 - KRASSILNIKOV, N.A., Le principe écologo-taxonomique dans l'étude de la microflore du sol, Symposium d'Etudes microbiologiques du sol, organisé par la Société Internationale de la Science du Sol, 7 juin 1957, Louvain, II.
- 1954 - MALAN, C.E., Ricerche sui tubercoli radicoli e sulle micorize delle Leguminese alpine, *Ann. Bot.*, Rome, XXI, 3, p. 465-94.
- 1949 - NICOL, H. et THORNTON, H.G., Competition between related strains of nodule bacteria and its influence on infection of the legume host, *Proc. Roy. Soc.*, Londres, sér. B, CXXX, 858, p. 32-59.
- PARMENTIER, G., Communication personnelle.
- 1958 - POCHON, J. et DE BARJAC, H., Traité de Microbiologie des sols. Applications agronomiques, Dunod, Paris.
- 1957 - RASSEL, A., La culture de l'arachide sur les plateaux du Kwango, *Bull. Inf. INÉAC*, VI, 5, p. 301-11.

- 1952 - RICHARDS, P.W., The tropical rain forest; an ecological study, The University Press, Cambridge.
- 1954 - THORNTON, H.G., The nodule bacteria and their host legumes : some problems that they still present, *Sci. Progr.*, XLII, 166, p. 185-204.
- 1956 - VIOLARD-GOUDON, A. et RICHARD, C., Étude pluviométrique, physico-chimique et économique des eaux de pluie à Saïgon, *Agron. trop.*, XI, 1, p. 74-92.
- 1932 - WAKSMAN, S.A., Principles of Soil Microbiology, The Williams Wilkins Company, Baltimore, 2nd ed.
- 1955 - WHYTE, R.O., NILSSON-LEISSNER, G. et TRUMBLE, H.C., Les Légumineuses en agriculture, FAO, Rome, Études agricoles, 21.
- 1925 - WRIGHT, W.H., The nodule bacteria of soybeans : 1. Bacteriology of strains, *Soil Sci.*, XX, p. 95-120.





MM. SCHOENAERS, F., Professeur à l'Ecole de Médecine Vétérinaire de l'État, à Cureghem;  
SIMONART, P., Professeur à l'Université Catholique de Louvain;  
SOYER, L., Secrétaire général de l'Institut pour la Recherche Scientifique en Afrique Centrale;  
STANER, P., Inspecteur royal;  
STOFFELS, E., Professeur à l'Institut Agronomique de l'État, à Gembloux;  
TAVERNIER, R., Professeur à l'Université de Gand;  
TULIPPE, O., Professeur à l'Université de Liège;  
VAN DE PUTTE, M., Membre du Conseil Colonial;  
WILLEMS, J., Vice-Président du Fonds National de la Recherche Scientifique.

#### B. — COMITÉ DE DIRECTION

*Président :*

M. JURION, F., Directeur général de l'I.N.É.A.C.

*Représentant du Ministre du Congo belge et du Ruanda-Urundi :*

M. STANER, P., Inspecteur royal.

*Secrétaire :*

M. LEBRUN, J., Secrétaire général de l'I.N.É.A.C.

*Membres :*

MM. GILLIEAUX, P., Membre du Comité Cotonnier Congolais;  
HENRARD, J., Directeur de l'Agriculture, Forêts, Elevage et Colonisation, au Ministère du Congo belge et du Ruanda-Urundi;  
HOMÈS, M., Professeur à l'Université Libre de Bruxelles;  
OPSOMER, J., Professeur à l'Institut Agronomique de Louvain;  
STOFFELS, E., Professeur à l'Institut Agronomique de l'État, à Gembloux;  
TAVERNIER, A., Professeur à l'Université de Gand.

#### C. — DIRECTEUR GÉNÉRAL

M. JURION, F.



M. Weissenbruch S. A., Bruxelles