

HAKIZIMANA Athanase.

Microbiologiste à l'ISAR

BP 1387

— Correspondance.

12/01/1988

27 Pges

1 Doc.

HAKIZIMANA Athanase
Microbiologiste à l'ISAR
B.P. 138 BUTARE

ISAR ISAR

Rubona, le 12/01/1988

*Vu 9/2/88
M. M. M. M. M.
M. M. M. M. M.*

Date: 9-2-88
N° Classification: 2727/88

A Son Excellence Monsieur le Président
de la République Rwandaise
à KIGALI.

Objet: Rapport de voyage
d'Etude au Centre
International
d'Agriculture Tropicale.
(CIAT)

S/C : Monsieur le Directeur de l'ISAR
B.P. 138 BUTARE



Excellence Monsieur le Président,

J'ai l'honneur de Vous transmettre en annexe le rapport
d'un voyage d'étude que j'ai effectué au Centre International
d'Agriculture Tropicale (CIAT) à Cali (Colombie).

Le voyage a été très fructueux: le CIAT s'est proposé de
coopérer avec l'ISAR dans le domaine de la fixation biologique de
l'azote par le haricot. Un projet d'accord est actuellement en
élaboration et sera présenté prochainement aux organes rwandais
compétents.

Je Vous en souhaite bonne réception et Vous prie de
croire, Excellence Monsieur le Président, à l'assurance de ma plus haute
considération.

HAKIZIMANA Athanase
Microbiologiste à l'ISAR

C.P.I:

- Monsieur le Ministre des Affaires
Etrangères et de la Coopération
- Monsieur le Ministre de l'Agriculture,
de l'Elevage et des Forêts

KIGALI

INSTITUT DES SCIENCES AGRONOMIQUES DU RWANDA

I . S . A . R .

RAPPORT D'UN VOYAGE D'ETUDE
EFFECTUE AU CENTRE INTERNATIONAL
D'AGRICULTURE TROPICALE (CIAT)
A COLI (COLOMBIE)

DU 12 Octobre AU 28 NOVEMBRE 1987

Par

HAKIZIMANA Athanase
Programme Légumineuses (Microbiologie)
RUBONA - DECEMBRE 1987.

I REMERCIEMENT.

A la rédaction de ce rapport, je tiens à exprimer mes vifs remerciements au Gouvernement rwandais et à l'Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda (ISAR) pour avoir accordé toutes les facilités administratives de départ en cette mission.

Je remercie également le Centre International d'Agriculture Tropicale (CIAT) qui a bien voulu supporter les frais de séjour et d'un si long voyage.

Ma gratitude s'adresse tout particulièrement au Docteur Kipe-Nolt et tous ses collaborateurs du Service de Rhizobiologie du CIAT pour leur gentil accueil et leur sérieux encadrement scientifique.

II

CADRE ET BUT DU V. KARI D'ÉTUDE

Depuis 1965, l'Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda (ISAR) effectue des Recherches sur la Fixation Biologique de l'Azote par le biais de la Symbiose Rhizobium - Légumineuses. L'on peut dire que des résultats concluants ont été obtenus puisqu'actuellement l'Institut dispose d'une Unité de Production semi-industrielle d'inoculum de Rhizobium pour le Soja (*Glycine max. L. Merrill*), le pois (*Pisum sativum L.*), et le Lencœna (*Leucoœna leucocephala*), avec l'appui de la FAO.

Cependant, il est vrai que le haricot reste la principale légumineuse cultivée dans le pays et que des recherches faites jusqu'aujourd'hui n'ont pas encore permis de bien déceler tous les facteurs limitants de la fixation biologique de l'azote par cette culture. Aussi, le nouveau programme est -il principalement orienté vers la recherche de solution à ce problème, dans l'optique pratique de pouvoir produire des inoculums pour le haricot dans un proche avenir.

Deux approches ont été adoptées pour l'immédiate :

- La Sélection de souches natives de Rhizobium phaseoli hautement efficaces. Ce travail est en train d'être réalisé dans le cadre d'une bourse FAO André - Mayer.

- Visiter le Programme de Microbiologie du sol du CIAT pour s'informer des derniers développements enregistrés dans le domaine de la Fixation Biologique de l'Azote par le haricot en général, tant du point de vue Scientifique que technique.

Le moment était bien choisi puisqu'il allait se tenir au CIAT à la même époque deux conférences internationales autour du même sujet.

III PRÉSENTATION GÉNÉRALE DU CENTRE INTERNATIONAL
D'AGRICULTURE TROPICALE (CIAT).

Créé en 1975, le Centre International d'Agriculture Tropicale (CIAT) est l'un des treize Centres de Recherche Agronomique Internationaux qui se sont fixé comme objectif d'aider les pays en voie de développement à accroître leur production vivrière. Les investigations multidisciplinaires du CIAT sont essentiellement axées sur le haricot, le manioc, le riz et les herbes fourragères tropicales. Le CIAT se classe premier mondialement en ce qui concerne l'importance de collection de haricot, de manioc et d'espèces d'herbes fourragères.

L'une des ambitions appréciables du CIAT est de trouver, en étroite collaboration avec les Instituts de Recherche Agronomique Nationaux, des géotypes capables de produire un bon rendement sans devoir recourir à une application importante d'intrants chimiques. Ainsi, la recherche se préoccupe de créer des lignées possédant un potentiel élevé de résistance génétique aux pertes et ravageurs, et pouvant supporter des conditions écologiques variées.

La formation des cadres nationaux fait aussi l'objet d'un grand intérêt pour le CIAT, dans le but d'assurer la pérennité des programmes engagés dans leurs pays respectifs.

Le CIAT a son quartier général à Cali en Colombie. Son champ d'action s'étend principalement sur les pays d'Amérique Latine et les Caraïbes. En Afrique, il couvre les pays de l'Est et Australe, ainsi que les Pays des Grands-Lacs en Afrique Centrale. L'ISCR a l'honneur d'abriter le bureau de Coordination Régionale pour les trois pays de la CEPGL.

IV DEROULEMENT DE LA MISSION

4.1. Participation aux conférences

Du 12 au 17 octobre et du 23 au 28 Novembre 1967, j'ai participé à deux conférences Internationales au CIAT, respectivement sur " les essais internationaux du haricot" organisé par le CIAT, et sur "l'utilisation des techniques nucléaires pour la mise en valeur de la fixation biologique de l'azote chez le haricot" organisé par l'Agence Internationale d'Energie Atomique (FAO/AIEA). Dans les deux cas, j'avais le statut d'observateur. Aussi ne donnerai-je que les points qui m'ont paru les plus pratiques pour le Rwanda, le détail devant être fourni par mes collègues du Programme Légumineuses qui participaient de façon effective (Ukiriho à la première et Scaglia à la dernière).

4.1.1. Conférence sur "les essais internationaux sur le haricot" " (12-17 Octobre 1967).

La conférence avait réuni les améliorateurs du haricot venus de tous les pays qui collaborent avec le CIAT dans ce domaine de recherche (Amérique, Afrique et Moyen-Orient). Quelques idées dignes d'intérêt sont ressorties de leurs discussions

- La classification des variétés commerciales doit se faire en fonction des réalités régionales. Ainsi, par exemple, tandis que l'intérêt pour la couleur rouge est presque généralisée en Amérique latine, en Afrique Centrale le choix se porte sur le type de mélange.

- L'objectif des Sélectionneurs du CIAT n'a pas été jusqu'ici d'augmenter le rendement (d'induire des gènes d'augmentation du rendement), mais bien celui de stabiliser les bons rendements aux diverses régions.

- Le CIAT devrait continuer à se soucier d'augmenter le pool de son génotypage, mais devrait en même temps songer davantage aux autres aspects agronomiques, notamment les pratiques culturales qui peuvent varier de région à région, la gestion de l'eau, etc.....

- Il y a des projets qui sont considérés comme "à haut risque", même si il méritent une attention particulière.

Il s'agit, entre autres:

- de résistance à la sécheresse
- de rendement potentiel
- de faible fertilité du sol
 - . faible teneur en P
 - . faible fixation d'N

Ils sont considérés comme tels parce qu'ils sont contrôlés par plusieurs gènes, par le milieu ambiant et que leur variabilité génétique est très réduite.

- Jusqu'ici, 88 variétés sorties du germoplasme du CIAT ont été diffusées dans le monde mais on considère qu'un cinquième (19,1%) n'est pas accepté par les agriculteurs. D'où la nécessité de contact plus régulier entre chercheurs et agriculteurs pour être guidé par ces derniers dans l'orientation de la sélection.
- Au Brésil, les têtes de lignées **fixatrices** d'azote manifestent mieux ce potentiel en zones irriguées qu'en celles non irriguées.
- En Colombie, un essai mené par le CIAT a démontré qu'en culture associée, le haricot inoculé laissait l'azote au sol à la disposition du maïs, mais que par contre, un apport de 50 kg d'azote profitait davantage au maïs qu'au haricot non inoculé.

<u>Traitement</u>	Haricot (kg/ha)	Maïs (kg/ha)
Témoins	510	1171
Inoculé	568	1803
N(50kg/ha)	361	2872

- L'Uniformité des protocoles internationaux n'est pas mauvaise en soi, mais pour chaque pays les sites doivent être choisis plus au moins dans les mêmes conditions (même altitude, même pluviométrie) Les pratiques culturales doivent être celles pratiquées dans la région.

4.1.2. Conférence sur l'utilisation des Techniques Nucléaires pour la mise en valeur de la fixation biologique de l'azote chez le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.)
(23 - 28 Novembre 1987).

Cette Conférence avait moins de participants que la précédente, puisqu'elle n'avait réuni que peu de chercheurs venus de la FAO, de la FAO/AIEA, des Etats-Unis, de Colombie, du Brésil, du Mexique, du Guatemala, de Tanzanie et du Rwanda. Bien qu'étant observateur, il m'a été demandé d'y présenter les résultats préliminaires d'un essai d'utilisation d' ^{15}N sur 22 géotypes de haricot, conduit à l'ISAR en 1986 en collaboration avec l'AIEA.

De toutes les méthodes qui existent pour évaluer l'azote fixé par les légumineuses (N total, nodulation...) l'utilisation d' ^{15}N s'est révélée être la plus directe et la plus précise, parce qu'elle permet de quantifier séparément les différentes sources d'azote (azote dérivé du sol et celui dérivé de l'atmosphère). Elle est donc un outil très utile pour les chercheurs intéressés par la fixation biologique de l'azote particulièrement pour le haricot dont les contraintes sont souvent complexes dans ce domaine.

Dans le cadre de la nouvelle orientation de recherche sur la fixation biologique de l'azote par le haricot, l'utilisation d' ^{15}N a permis de :

- découvrir que certaines variétés avaient un potentiel de fixation plus élevé que d'autres et ainsi à aider à créer de nouvelles lignées fixatrices d'azote par croisement.
- Mettre en évidence qu'une plante de haricot inoculée avec une bonne souche efficiente fixe l'azote plus que celle non inoculée (même si cela n'est pas traduit en rendements en grains secs) et contribue ainsi à l'amélioration de la fertilité du sol. Comme dit plus haut, l'impact de ce phénomène est particulièrement visible en cultures associées où le haricot laisse à la disposition du maïs, p.ex., l'azote minéral du sol tandis qu'il profite, lui, de l'azote de l'air.

- Faire des observations très subtiles. Dans un essai mené par le Dr. HADARSON de l'AIEA à Vienne avec des variétés introduites du Rwanda, la variété Rubona 5 considérée comme mauvaise nodulante par l'ISAR et le CIAT, a été trouvée très bonne fixatrice. Elle est aussi très bonne productrice puisqu'elle est déjà en diffusion. Cela voudrait-il dire que pour certaines variétés et dans certaines conditions déterminées il n'y aurait pas de corrélation entre nodulation et fixation ? Ce manque de corrélation est ordinairement connu, mais pour des souches différentes inoculées à une même variété (les variétés testées à Vienne étaient inoculées avec une même souches !). D'autres essais sont nécessaires pour y voir plus clair.

Au Rwanda, un essai a été conduit en mars 1986 par l'ISAR et la FAO/AIEA pour évaluer le potentiel de fixation de 22 génotypes de haricot. Il n'est malheureusement pas encore possible de calculer la quantité d'azote fixé, par manque de résultats d'analyse d'N total; mais d'après les résultats préliminaires de % d'N dérivé de l'atmosphère, il semble que nos variétés surprennent par leur fixation élevée de 20 à 70%). L'intérêt suscité par cet essai a conduit la FAO/AIEA à proposer de fournir à l'ISAR de l' ^{15}N pour le refaire en 1988 et initier un autre sur la sélection de souches.

Toutefois, il convient de signaler aussi le côté contraignant de la méthode d' ^{15}N .

Techniquement, les utilisateurs doivent faire un choix judicieux de la plante de référence (blé, riz, sorgho...) et soigner la préparation des échantillons. Economiquement, l' ^{15}N coûte très cher, l'analyse des échantillons se fait à Vienne. Dans les conditions actuelles, il est peu probable que nous pourrions facilement l'utiliser avec nos propres moyens.

En plus des discussions sur l'utilisation d' ^{15}N , le Représentant de la FAO (J.A. SCAGLIA, expert FAO au Rwanda), a présenté aux participants l'état d'avancement des Unités de production d'inoculum pour légumineuses installées dans plusieurs pays avec l'appui de la FAO. Notons que la première Unité de Production en date a été installée au Rwanda en 1983, à l'ISAR. Les activités sont toujours en extension continue. Les autres pays africains dotés de ces Unités sont : le Burundi, le Zaïre, la Tanzanie, le Kenya, (Madagascar), le Sénégal, et, sous peu, la Tunisie.

4.2. Visite du programme de microbiologie du sol du CIAT.

(18 Octobre - 22 Novembre 1987).

Le Programme de Microbiologie du sol du CIAT est divisé en 2 grandes sections : la Rhizobiologie appliquée aux légumineuses fourragères et celle appliquée au haricot.

Mon intérêt s'est principalement porté sur cette dernière.

J'ai eu l'opportunité de suivre le déroulement de tous les travaux de recherche en cours au laboratoire, en serre et en champs. Ci-après les techniques et méthodologies susceptibles d'aider dans l'amélioration de programme de l'ISAR.

4.2.1. Techniques de laboratoire.

4.2.1.1. Conservation et préservation des souches de Rhizobium

3 méthodes sont utilisées au CIAT.

1. Utilisation d'huile minérale commerciale pour éviter une dessiccation trop rapide du milieu gélosé incliné dans le tube à essai.

L'huile est stérilisée, refroidie et versée sur la culture bactérienne faite sur milieu gélosé.

Durée de conservation : 2 à 3 mois au frigo à 4°C.

2. Utilisation de grains de porcelaine

L'opération se fait en 3 étapes.

- a. Stérilisation pendant 2h à 160°C d'un tube contenant quelques grains de porcelaine posés sur du coton et le silicagel pour contrôle d'humidité.

- b. Stérilisation à 120°C pendant 20 minutes d'un tube contenant 0.1 g de maltose.

Après refroidissement, les grains de porcelaine sont placés dans le tube de maltose au quel on ajoute aussi 1 ml de suspension de Rhizobium. On agite le tube pour que les grains de porcelaine soient imprégnés de Rhizobium et sont remis ensuite dans le premier tube au dessus du coton et du silicagel.

- c. Conservation du tube contenant les grains de porcelaine au frigo à 4°C. Durée de conservation : jusqu'à 2 ans.

3. Lyophilisation.

La lyophilisation consiste en une dessiccation à froid sous vide. La méthode est très appropriée et permet une durée de conservation de plusieurs années, mais requiert un équipement trop coûteux pour qu'on puisse la préconiser pour le Rwanda. A la limite, on pourrait plutôt envisager d'envoyer certaines de nos meilleures souches au laboratoires amis mieux équipés pour qu'ils les lyophilisent pour nous.

Conclusion partielle pratique : Jusqu'ici, les souches de Rhizobium de la collection de l'ISAR étaient conservées au frigo à 4°C sur du milieu gélosé (yeast extract mannitol agar). Cette pratique favorise non seulement la dessiccation rapide du milieu gélosé mais aussi augmente les risques de mutation de rhizobium à croissance rapide comme les R. Phaseoli par des repiquages répétés (tous les six mois maximum) sur d'autres milieux plus frais. La méthode de conservation avec des grains de porcelaine pourrait bien aider à résoudre ce problème.

4.2.1.2. Caractérisation des souches de Rhizobium.

1. Les Rhizobiums n'absorbent généralement pas le rouge congo et restent blancs ou occasionnellement roses. Les autres microorganismes contaminants absorbent le rouge congo et apparaissent rouges sur culture en plaque de pétri.
2. Le milieu Yeast Extract Mannitol (YEM) contenant du bleu de bromothymol a un pH de 6,8. Il est vert. Les souches à croissances lente comme celles de soja sont alcalinisantes et n'altèrent pas le milieu. Les souches à croissance rapide comme celles du haricot acidifiantes et tournent le milieu en jaune. Toutes les autres colonies produisant des réactions contraires sont probablement des infections.

3. Sur culture en plaque de pétri, les souches peuvent être décrites d'après :

- la texture : crémeuse ou élastique.
- l'aspect des colonies : gélatineux, sec ou aqueux.

Les souches de Rhizobium phaseoli forment des colonies gélatineuses; les souches de Bradyrhizobium Spp. forment des colonies plus variables.

Catégorie	pH initial 5.5.	pH initial 6.8.
W	Colonies petites ou moyennes (1.5-5.00 mm), sèches, élastiques ou crémeuses sur les 2 pH.	
X	Colonies gélatineuses de dimension moyenne (3 à 5 mm de diamètre), texture crémeuse ou élastique, sur les 2 pH.	
Y	Colonies aqueuses qui produisent de la gomme liquide sur les 2 pH, produiront plus de gomme en pH. 5-5 qu'en pH 6-8.	
Z	Colonies aqueuses qui produiront de la gomme liquide	Colonies petites, sèches et crémeuses

Symboles utilisés pour l'évaluation de changement de pH du milieu suivant les différentes catégories

- N = pas de changement de pH
- A = acidifiant
- C = alcalinisant
- CA = initialement ne change pas le milieu, ensuite acidifiant
- NC = initialement ne change pas le milieu, ensuite alcalinisant.

- Le temps de croissance et l'aspect des colonies se classent en 5 groupes :

- , (+) , + , + + , + + +

Conclusion partielle

Les souches de collection de l'EBIR doivent désormais avoir chacune une fiche de caractérisation. Celles qui sont introduites soumises à la même description et celles qui seront livrées ailleurs seront chaque fois accompagnées d'une copie de la fiche de caractérisation respective. Tous les laboratoires devraient d'ailleurs s'entendre pour adopter une même méthodologie de caractérisation. Cela permettrait de suivre régulièrement l'état de pureté des souches (il y a des souches qui continuent de faire le tour des laboratoires du monde sous un même nom alors que certaines d'elles ont été contaminées par d'autres bactéries ou ont subi des mutations accidentelles incontrôlables autrement que par la caractérisation).

4.2.1.5. Évaluation de la fixation d'azote par la méthode chromatographique de réduction d'acétylène en éthylène

Le laboratoire de l'ICR va bientôt recourir à cette méthode pour faire ses études d'évaluation d'azote fixé par les plants de haricot. Il vient d'être équipé à cet effet d'un chromatographe portable modèle australien presque identique à celui que j'ai trouvé au CIAT. J'en ai alors profité pour apprendre au moins son fonctionnement et les différents étapes de préparation des échantillons:

1. - Préparer les flacons pour la prise d'échantillons (flacons de confiture ou d'autre produit pourvu qu'il soit hermétiquement fermé et que le bouchon puisse permettre l'intrusion d'une aiguille).
La taille du flacon est importante. Ni trop petite pour que les racines ne puissent pas entrer, ni trop grande pour que le C_2H_2 ne se dissolve pas beaucoup.
2. - Prévoir de l'acétylène par exemple dans une chambre à air, ainsi que de l'éthylène standard (100 ppm).
3. - Couper les racines de la plante à analyser, une à une, durant les premières heures de la journée (entre 6 h et 10 h à. m.) pour éviter une chaleur élevée. Il est conseillé de ne faire qu'une répétition si l'essai est grand.
4. - Mettre les racines dans les flacons immédiatement après l'arrachage de la plante, sans les laver, l'eau pouvant inhiber l'échange des gaz. Bien serrer pour que les gaz ne s'échappent pas.
5. - Injecter de l'acétylène à raison approximative de 10% du flacon (par exemple 5 ml d' C_2H_2 dans un flacon de 50 ml - Homogénéiser en faisant des mouvements de va-et-vient avec la seringue, et retirer 5 ml avec la même seringue pour garder les 50 ml préconisés. Noter l'heure exacte où l'injection est faite.
- Injecter la même quantité de C_2H_2 dans un flacon ne contenant pas de racines (blanco).

6. - Les pics de référence se font en injectant 0.5 ml de C_2H_4 standard (100 ppm), ensuite 0,5 ml de C_2H_2 .
7. - Injecter 0.5 ml de l'échantillon à analyser, en prenant soin de bien homogénéiser.
Attention à la lecture : 3 pics sortent à chaque injection de l'échantillon
pik 1 : contenants
pik 2 : éthylène
pik 3 : acétylène.

4.2.2. Travaux en serre

Les travaux en serre constituant une étape importante intermédiaire entre le laboratoire et les essais en champs. Au CIAR, deux types de recherche à caractère original sont en cours et paraissent intéressants pour le programme de l'ISAR. Il s'agit de création de nouvelles lignées fixatrices et la nouvelle méthodologie de sélection de souches en sol normal non stérile.

4.2.2.1. Création de nouvelles lignées fixatrices

C'est maintenant chose non discutable, le caractère varietal joue un rôle certain dans la fixation biologique de l'azote au haricot. Les travaux conduits au Rwanda par l'ISA et la FAO en 1965 (Tranchant et HAKIZIMANA) l'ont démontré et les mêmes travaux repris par le CIAT (Kipe-Volt) l'ont confirmé. C'est pourquoi dans son programme de sélection le CIAT a déjà entrepris de faire des croisements entre variétés fixatrices et celles non fixatrices. Actuellement, par exemple, un travail de croisement est en cours en serre, entre la variété KIZ 29, très bonne fixatrice mais non adaptée aux conditions du Rwanda, et la variété Mutiki 2, mauvaise fixatrice mais bien adaptée au Rwanda. Pour augmenter les chances d'avoir des descendants adaptés, la première lignée (P1) est de nouveau croisée avec Mutiki 2 (back-cross).

DISCUSSION

Il semble de plus en plus que la solution aux problèmes fondamentaux de la fixation du haricot passera nécessairement par la voie de la sélection par le croisement.

Ces problèmes sont, notamment :

- le caractère variétal (certaines variétés nodulent plus que d'autres).
- la senescence rapide des nodules qui rend le temps de fixation très réduit.
- la fragilité des nodules qui les rendent sensibles à la sécheresse et au stress hydrique.

Bien entendu, cela ne supprimerait pas l'importance de la sélection des souches, mais il est connu que c'est la plante qui "choisit" la souche et non l'inverse. De même que le facteur sol doit être étudié séparément.

Si cette hypothèse de solution par le croisement est vraie, alors il faut changer de stratégie. Traditionnellement confié aux seuls microbiologistes, le travail de recherche sur la fixation du haricot doit être aussi une affaire des améliorateurs: chose déjà faite au CIAT.

Une contrainte subsiste cependant. En effet, il sera plus facile de créer de nouvelles lignées pour les pays où les agriculteurs ne sèment qu'une ou deux variétés que pour le Rwanda où l'on sème toujours en mélange de plusieurs variétés.

4.2.2.2. Sélection de souches en sol normal non stérile

La sélection classique de souches de Rhizobium s'opère entièrement dans des conditions stériles en tubes, en "Leonard you" ou en pots. Les souches les plus efficaces sont retenues pour être ensuite testées pour leur pouvoir compétitif en sol normal, en pot ou en champs.

Bien qu'un peu long, ce procédé n'est pas mauvais mais il convient surtout pour les plantes où le problème de compétition ne se pose pas, comme le soja.

Tandis que pour les légumineuses à spécificité large comme haricot, il arrive presque toujours que les meilleures souches retenues dans la sélection en conditions stériles se montrent médiocres en sol réel du champ, alors que la rigueur du tirage a peut-être écarté celles qui sont moins efficaces mais plus performantes du point de vue de la compétition.

Le nouveau procédé consiste donc à tester directement les souches spécifiques en pots contenant le sol provenant des champs où l'on voudrait qu'elles soient inoculées. C'est grâce à cette nouvelle voie que le CIAT a trouvé des souches adaptées pour l'inoculation des légumineuses fourragères naturelles d'Amérique latine et c'est également grâce à elle qu'il espère sélectionner les souches performantes pour le haricot.

Le détail de la méthodologie de cette sélection se trouve dans un document séparé remis au service de microbiologie de l'IBAR.

4.2.3. Essai en champs

Les essais sur terrain du Programme de Rhizobiologie du CIAT se font chez les agriculteurs à PASTO et à IPIALES (+ 500 km du CIAT, et dans une sous-station de POPAYAN situé à + 250 km.

4.2.3.1. Essai de POPAYAN

Située à 150 km du CIAT, la sous-station de Popayan a une altitude de 1300 m. Le sol y est généralement léger et riche en matières organiques. Les problèmes de maladies qu'on y rencontre sont l'Anthracnose, l'Aschochitose, le Rhizoctonia et quelques nématodes.

En 1988 B, le programme de fixation biologique de l'azote y avait installé 5 essais.

- Essai d'évaluation du matériel africain pour leur potentiel de fixation d'N.

12 variétés d'origine africaine y sont testées

(dont Tostaco, Ikiniaba, Karawa, d'origine rwandaise).

- Essai d'évaluation des lignées dites "RIZ" considérées comme bonnes fixatrices d'N.

- Essai d'évaluation du matériel d'hybridation en collaboration avec le programme de sélection (p ou croisement entre lignées très bonnes fixatrices et celles non fixatrices).

Tous les dix jours, les essais sont visités pour comptage du nombre de nodules rouges jusqu'à leur senescence.

4.2.3.2. Essais de PASTO et D'IPIALES

Les régions de Pasto et d'Ipiiales sont situées de l'autre côté de la Cordillère des Andes à \pm 45 km et \pm 500 km respectivement du CIAT. L'altitude varie de 140 à 2500 m.

Dans ces deux régions, les essais d'inoculation sont intégrés parmi les autres essais d'adaptation conduits chez les agriculteurs par le programme de ce qu'on appelle aujourd'hui à l'INRA "l'étude du milieu ou des systèmes de production "ou anciennement" Action en milieu rural"

A Pasto, les agriculteurs sèment le haricot en association avec le maïs (1 ligne de maïs, 4 lignes de haricot). Même pratique à Ipiiales mais avec les variétés de haricot volubiles (altitude de 2500 m).

Trois types d'essais sont installés à Pasto et répétés à Ipiiales mais là avec des variétés volubiles. Tous sont supervisés par le programme d'essais en milieu rural, mais les observations spécifiques sont faites par les services concernés.

- Essai de technique culturale (association maïs-haricot);
- Essai d'adaptation variétale (27 variétés du CIAT et trois locales);
- Essai d'évaluation de l'inoculation (inoculation avec une seule souche et avec un mélange de 3 souches).

Méthodologie d'observations de nodulation

Nombre de plants par parcelle : 3 prélevés dans les lignes de bordure

Paramètre considéré : Nombre de nodules rouges

Discussion sur la méthodologie d'observation en champ et en serre pour évaluer la fixation d'N.

Divers paramètres peuvent être pris et sont variablement utilisés par les chercheurs :

- le nombre total de tous les nodules

Les nodules de haricot sont généralement très nombreux et très petits.

Probabilité d'erreur de comptage élevé, surtout que le nombre de nodules blancs efficients est aussi inclus.

- Le nombre de nodules rouges seulement

Les nodules rouges sont les seuls actifs et sont généralement assez grands pour les compter facilement.

- Le poids sec des nodules

- . méthode longue et fastidieuse
- . danger de ce qu'un seul grain de sable perdu dans les nodules fausse le poids
- . la pesée ne distingue pas les nodules rouges efficients et les nodules blancs et verts inefficients

- Le volume des nodules

- . Corréle avec le poids sec
- . Préférable au poids sec puisqu'il prend le volume de tous les nodules visibles et que les grains de sables perdus dans les nodules ne changent pas significativement le volume.
- . Ne distingue pas les nodules efficients et inefficients. Peut donc ne pas fournir d'indication intéressante s'il y a présence de beaucoup de nodules blancs ou verts.

- La vigueur des plantes : peut être un bon indicateur, mais seulement à l'intérieur d'une même variété semée dans des conditions identiques.

- La réduction d'acétylène

La méthode souffre d'une grande variabilité selon les moments de prise d'échantillon, mais ses données sont généralement corrélées avec le $\% N$ dans la partie aérienne de la plante.

- Le $\% N$ total dans la plante (méthode Kjeldhal)

C'est un bon indicateur de souches fixatrices en milieu contrôlé (serre).

Conclusion partielle :

En serre, le meilleur indicateur pour évaluer la fixation d'azote semble être le % N dans la plante. Le comptage de nodules n'est pas utile. En champs, le comptage du nombre de nodules rouges et la réduction de C_{12} seraient les meilleurs paramètres.

4.3. DIVERS

4.3.1. Initiation au Programme MSTAT

L'analyse des données sur ordinateur devenant de plus en plus une nécessité pour quiconque travaille dans la recherche, j'ai eu une courte initiation à l'utilisation de l'ordinateur IBM Personnel Computer, programme MSTAT. L'initiation se poursuivra dès le retour à l'ILR.

4.3.2 Viaje au Programme des mycorrhizes

Dans le but d'explorer d'autres possibilités d'exploiter utilement les microorganismes au Rwanda, j'ai visité le service des mycorrhizes qui malheureusement va fermer ses portes au CIAT fin décembre 1977. Non pas parce qu'il a été trouvé inutile, mais tout simplement par manque de financement.

Je me limiterai à en rappeler l'importance théorique pour qu'un jour les microbiologistes rwandais songent à valoriser cette autre source potentielle d'augmentation des rendements des cultures : les champignons mycorrhizés jouent un rôle important dans la nutrition phosphatée, lorsqu'ils sont en association avec les plantes, à l'exception de certaines espèces dont les Cruciferae, les Cyperaceae et Chenopodiaceae. Dans cette association symbiotique, les champignons utilisent les carbohydrates produits par les plantes et les plantes voient augmenter leur pouvoir d'absorption du phosphate et d'autres éléments à travers les hyphes extérieurs qui se prolongent dans le sol à partir des racines. L'effet bénéfique des mycorrhizes est particulièrement important pour les plantes dont le système racinaire est faible ou ramifié, puisque les hyphes extérieurs peuvent s'étendre aussi loin que 20 cm à partir des racines, absorbent les éléments nutritifs dans un volume du sol plus grand que celui qui environne une racine non mycorrhizée.

Cela est particulièrement important pour l'absorption d'éléments de faible mobilité comme le P, N et Cu.

Techniquement, la production de mycorrhizes n'est pas aussi aisée que celle des rhizoliums. Il faut en effet inoculer à la plante spécifique dans un sol stérile, attendre que des nodosités se forment sur les racines. Ces racines sont découpées en petits morceaux et constituent l'inoculum. Ce travail ne requiert pas moins de 6 mois.

En Colombie, les travaux sur les mycorrhizes ont porté sur le manioc, le sorgho, le Brachiaria et le Pueraria. Les meilleurs résultats ont été obtenus sur le manioc où on a obtenu une augmentation de rendement de 25% pour une moyenne de 30 essais.

Conclusions Générales et recommandations

1. Il ressort des avis des spécialistes du CIAT et de tous ceux rencontrés dans les deux Conférences que le problème de la fixation biologique de l'azote par le haricot est complexe mais pas insoluble. On s'accorde plutôt pour regretter que de recherches ont jusqu'ici été menées sur ce sujet avec le sérieux qu'il mérite.
2. La grande idée qui doit désormais orienter notre programme est que les légumineuses ne fixent l'azote de l'air que lorsqu'elles ont une bonne nodulation et que dans le cas contraire elles appauvrissent le sol même plus que toute autre culture. Induire une nodulation efficiente chez le haricot est donc le principal but à viser mais il ne sera atteint que si microbiologistes, améliorateurs et spécialistes du sol y travaillent en commun. Toute initiative menée isolément par l'un ou l'autre conduira nécessairement aux mêmes échecs du passé.
3. Dans le cadre d'améliorer le programme de fixation biologique de l'azote à l'ISRA, quelques techniques et méthodologies, appliquées au CIAT peuvent être essayées dans l'imédiat.
Au Laboratoire : - la technique de conservation des souches par l'utilisation des grains de porcelaine;
- l'évaluation de la fixation d'azote par la méthode chromatographique de réduction d'acétylène.
En serre : - le meilleur indicateur pour évaluer la fixation d'azote semble être le rapport dans la plante et non le comptage, la pesée ou le volume des nodules.
- Pour les légumineuses à spécificité large (haricot, pois...). La sélection de souches en sol normal non stérile serait à recommander.
En champs : - le comptage du nombre de nodules rouges et la méthode de réduction d'acétylène seraient les plus faibles pour évaluer la fixation.

4. La création de nouvelles lignées fixatrices d'azote est digne d'un grand intérêt. Dans les premiers temps, l'ICAR serait intéressé par l'essai des lignées créées au CIAT avant qu'il entreprenne de faire de croisements lui-même.

5. Le prochain essai sur l'utilisation d'15 N pour évaluer le pouvoir de fixation des différentes variétés du Rwanda sera installé à Rubona en septembre 1954. L'15 N sera fourni à Morogoro sur des variétés tanzaniennes. La proposition faite par le Représentant de la Tanzanie à la Conférence sur l'15 N au CIAT d'inclure dans son essai les meilleures variétés rwandaises et que les meilleures de Tanzanie soient aussi évaluées à Rubona mérite une réponse favorable.

A . N . N . E . X . E

I . T . I . N . E . R . A . I . R . E

2.10.1987 : KIGALI - KAMPALI
3.10.1987 : KAMPALI - NAIROBI
9.10.1987 : NAIROBI - SAN YUAN-CARACAS-BOGOTA
10.11.1987 : BOGOTA - CALI
23.11.1987 : CALI - BOGOTA - CARACAS - PARIS
01.12.1987 : PARIS - KAMPALI - KIGALI

N.5. : Le voyage a commencé et est fini plus tard que prévu pour deux raisons :

1. - L'obligation reçue à la dernière minute de passer une semaine à Nairobi pour subir un test médical préalable à l'obtention de visa pour la Colombie.
2. - Beaucoup d'escales sans possibilité d'avoir un autre avion le même jour.