

TECHNIQUES D'INOCULATION ET D'ENROBAGE DES SEMENCES DE LEGUMINEUSES

Les conditions d'installation des légumineuses, et en particulier de l'établissement de la symbiose *Rhizobium*-plantule, ont une importance primordiale sur leur mise en place, l'efficacité de leur fixation d'azote atmosphérique et leur production ultérieure.

Quelques recommandations pratiques devraient permettre de réaliser aisément cette opération et à moindre coût.

A.1.1. Inoculation

En général, une espèce de *Rhizobium* donnée est spécifique d'une légumineuse donnée. Un simple test de semis au champ permet de s'assurer de la présence du *Rhizobium* dans le sol.

L'aspect visuel de la légumineuse (bonne vigueur ou faible croissance), la couleur de ses feuilles (vertes ou jaunâtres) et la présence des nodosités sur ses racines donnent des indications très utiles, ainsi que l'observation d'une coupe de ces nodules :

- couleur blanche : inefficacité
- rouge : présence de légmoglobine et donc présomption d'efficacité
- verte : couleur pouvant être due au prélèvement trop tardif (dégénérescence de cette nodosité).

L'introduction d'une nouvelle légumineuse dans une zone est parfois conditionnée par celle de son *Rhizobium* spécifique.

L'infestation du terrain peut être réalisée par épandage de quelques kg d'un sol de la même zone où l'association légumineuse *Rhizobium* est efficace. Mais cette technique doit être réalisée avec précaution car elle risque aussi de conduire à l'infestation du sol par des maladies, le rendant ainsi impropre à certaines cultures (bactéries telles que le *Pseudomonas solanacearum*, mais aussi champignons, nématodes ...). Il est préférable d'utiliser des souches pures, sélectionnées pour leur efficacité, isolées localement ou dans un premier temps commercialisées dans le monde par les laboratoires spécialisées (en prenant toutes les précautions phytosanitaires nécessaires).

Le simple mélange d'inoculum et des semences sèches, ou même humidifiées ne permet pas une bonne adhérence sur les graines.

Pour réaliser l'inoculation ou l'enrobage des semences, il est souhaitable d'utiliser un adhésif, non seulement pour coller le *Rhizobium*, mais parfois aussi pour l'alimenter jusqu'à ce qu'il infecte la plantule. Pour une simple inoculation, de nombreux adhésifs sont efficaces : eau sucrée (10 à 25 %), amidon (de blé, maïs, riz en même quantité que l'inoculum), miel (10 %), huile de table (10 ml par kg de semences), ..., ainsi que la gomme arabique et la méthycellulose qui sont recommandées pour l'enrobage des semences (voir tableau 1).

Adhésif	Gomme arabique	Méthycellulose
Simple inoculation	15 %	2 %
Enrobage	40 %	3 à 4 %

Tableau 1 : Concentrations pour la préparation des adhésifs utilisables pour l'inoculation ou l'enrobage des semences (% en poids par volume d'eau).

Pour préparer l'adhésif :

- dissoudre de la gomme arabique finement moulue dans de l'eau chaude, à raison de 400 g de gomme arabique par litre d'eau (à réduire pour une simple inoculation),
- agiter à chaud jusqu'à complète dissolution et ne préparer que la quantité nécessaire (moisissures possibles),
- laisser refroidir.

Pour l'inoculation choisir un récipient adapté (bassine, tonneau mélangeur ...) et propre :

- mélanger les quantités d'inoculum et d'adhésif nécessaires en fonction du poids de graines et de leur taille,
- ajouter immédiatement les semences et mélanger jusqu'à ce qu'elles paraissent toutes inoculées (sans arracher leurs téguments).

Quelques précautions doivent être prises :

- la préparation du mélange semences-inoculum adhésif doit se faire juste avant le semis dans un endroit frais et à l'abri du soleil. Ne préparer que des quantités susceptibles d'être semées dans la journée afin d'éviter la mort des *Rhizobium*,
- s'assurer que les semences n'ont pas été traitées avec des substances toxiques et si des traitements phytosanitaires sont nécessaires, les adapter (utiliser du Thirame comme fongicide ...),
- ne pas mélanger les semences inoculées avec des engrais acides (superphosphate ...),
- semer en conditions humides : l'inoculation des semences peut conduire pour certaines espèces (soja, haricot ...) à une importante fonte des semis en cas de forte sécheresse et dans ce cas, il vaudrait mieux inoculer le sol que la graine.

A.1.2. Enrobage des semences

Les exigences édaphiques de la légumineuse, ou celles nécessaires à la survie de son *Rhizobium* spécifique dans le sol, ainsi que celles requises momentanément lors de l'établissement de la symbiose ne sont pas toujours identiques.

L'enrobage peut alors permettre de modifier l'environnement immédiat de la semence en cours de germination de manière à permettre l'établissement de la symbiose, sans recourir à un amendement onéreux de l'ensemble du terrain (chaulage ...). La neutralisation ponctuelle des conditions de milieu favorise l'infection des racines par les bactéries fixatrices (*Rhizobium*) et permet ainsi l'établissement de la symbiose *Rhizobium*-légumineuse.

Selon les exigences des espèces, les produits les plus couramment utilisés sont le calcaire ou le phosphate naturel. Ils doivent être finement broyés (minimum de 90 % passant au travers d'un tamis de 15 Microns) et peuvent être remplacés par d'autres matériaux selon les disponibilités (dolomie ...) ;

Pour réaliser l'enrobage, mélanger l'inoculant et l'adhésif, puis les semences comme cela a été précédemment décrit. Puis ajouter la quantité de produit recommandée pour l'enrobage en une seule fois et mélanger rapidement jusqu'à ce que les graines se séparent et paraissent toutes enrobées (2 mn environ). La poursuite du mélange conduit à durcir les granulés qui peuvent ensuite se briser. Les quantités de produit peuvent être ajustées (finesse du broyage, importance du lot de semences ...) et, en particulier elles doivent être augmentées lorsqu'une partie des semences reste collée.

Espèces	Groupe du <i>Rhizobium</i>	Nombre de graines par kg en 103	Matériau d'enrobage	Casse (en 103 grains par kg)	Adhésif en ml par kg	Matériau d'enrobage en g par kg
<i>Lipinus albus</i> <i>Dolichos lablab</i> <i>Arachis pintoï</i>	Lupin Dolique <i>Arachis pintoï</i>	2 à 5 4 à 5 6 à _	Phosphate Phosphate Phosphate	3 à 10	11	170
<i>Vugna unguiculata</i>	« Cowpea, mung bean »	7 à 15	Phosphate			
<i>Leucaena leucocephala</i> <i>Centrosema pubescens</i>	<i>Leucaena</i> Centrosema	20 à 24 40	Chaux Phosphate	20 à 50	13	190
<i>Calopogonium mucunoïdes</i> <i>Macroptilium atropurpureum</i>	« Calopogonium, Siratro pueraria, ... » « Calopogonium, Siratro pueraria, ... »	73 75	Phosphate Phosphate	50 à 100	14	215
<i>Vigna parkeri</i> <i>Pueraria phaseoloïdes</i>	« Cowpea, mung bean » « Calopogonium, Siratro pueraria, ... »	75 81	Phosphate Phosphate			
<i>Macroptilium lathyroïdes</i> <i>Neonotonia wightil</i> <i>Trifolium suberraneum</i>	« Calopogonium, Siratro pueraria, ... » Glycine Trèfle souterrain	120 130 à 170 150	Phosphate Phosphate Chaux	100 à 200	17	250
<i>Desmodium uncinatum</i> <i>Cassia rotundifolia</i> <i>Stylosanthes scabra</i>	<i>Desmodium</i> - S. scarba	200 à 220 200 à 470 400 à 800	Phosphate - Phosphate			
<i>Desmodium intortum</i> <i>Trifolium semipilosum</i>	<i>Desmodium</i> Trèfle du Kenya	600 700 à 1000	Phosphate Chaux	500 à 1000	27	410
<i>Lotus uliginosus</i> <i>Trifolium repens</i>	Lotier velu Trèfle blanc	1250 1500 à 1700	Phosphate Chaux	1000 à 2000	33	500
<i>Lotononis bainesii</i>	Lotononis	3300	Phosphate	2000 à 4000	40	600

Tableau 2 : Technique d'inoculation et d'enrobage de différentes espèces de légumineuses

- Groupe de *Rhizobium*, spécifique ou non, commercialisé en Australie.
- Nombre de graines de chaque espèce par kg.
- Produit conseillé pour l'enrobage par SHAW et BRYAN (1976).
- Quantité d'adhésif et de produit d'enrobage selon la taille des semences, conseillées par WILLIAMS, Directeur de PRIMAC SEEDS.

Adresses pour la fourniture d'inoculum : Outre le laboratoire de Biologie des sols du CIRAD-CA pouvant satisfaire des besoins limités, et les producteurs de semences australiens, des inoculums peuvent être commandés à :

- BIO-CARE TECHNOLOGY PTY-L.T.D., RMB 1084 Pacific Highway, SOMERSBY, N.S.W. 2250 – AUSTRALIE.
- BIOPROX-PROTEX, 6 rue Barbes, B.P. 177, 92305 LEVALLOIS PERRET, télex : 630957 F, Tél : 47-57-74-00 (Soja)
- QUEENSLAND INOCULANTS, P.O. Box 1052, Toowoomba, QLD 4350, Australie.
- ROOT NODULE PTY.LIMITED, 84 Rawson Road, Woy Woy 225, Australie.

Adresses pour la fourniture de semences :

- HERITAGE SEEDS PTY LTD, P.O. Box 943, Murwillumbah 2484 NSW, Australie, Téléx AA 166142 PRIMAC.
- SAUERS, P.O. Box 117, Rockhampton, QLD 4700 Australie, Téléx : 146945 YATES., Télécopies : 19 61 79 22 22 19.

Les semences sont prêtes pour être semées immédiatement, soit directement à la volée sur terrain humide herbicide, soit à une faible profondeur en conditions plus sèches.

Il est recommandé d'effectuer des tests préliminaires au champ pour ajuster les techniques et les doses en fonction des conditions locales (chaulage dans la raie de semis par semoir à double goulotte ...);

Certains oligo-éléments sont parfois incorporés dans l'enrobage (molybdate d'ammonium à raison d'un quart du matériau d'enrobage), sauf s'ils sont phytotoxiques au moment de la levée, comme le bore. Les déficiences sont alors évitées par un épandage préventif de 20 kg par ha de borate agricole (boracine, borate de sodium). Cet apport est indispensable à la Réunion pour le trèfle qui est une plante indicatrice de cette carence (rougissement des feuilles).

A.5.3. Bibliographie

- BEUNARD P., 1994 : Contribution à l'étude de la fixation d'azote chez les légumineuses. Mémoire IRAT, 111 p
- BRADFORD G.R., 1966 : Boron p. 33 – 61. In :CHAPMAN H. Diagnostic criteria for plants and soils. University of California, 793 p.
- BURTON J.C., 1979 : New developments in inoculating legumes. In : SBBA RAO N.S. – Recent advances in biological nitrogen fixation. OXFORD and IBH publishing Co. New Delhi, Bombay, Calcutta, pp 380 – 405
- MEISNER C.A., GROSS D., 1980 : Some guidelines for the evaluation of the need for and response to inoculation of tropical legumes. North Carolina Agric. Research Service. Techn. Bul. N°265, 59 p.
- NORRIS D.O., DATER R.A., 1976 : Legume bacteriology. In : SHAW N.H., BRYAN W.W. – tropical pasture research. Principles and method. CAB n°51 ALDEN PRESS Ed., OXFORD, 454 p. (pp. 134-174).
- RENNIER R.J., 1991 : Inoculums pour légumineuses au Canada – Evolution d'une industrie, P. 55 – 63. In : F.A.O. Consultation d'experts sur la production et le contrôle de qualité des inoculums pour légumineuses, 140 p.
- SAINT-MACARY H., 1981 : Compte-rendu de mission à la Réunion et à Madagascar. IRAT, 23 p.