

L'INOCULATION DE LA LUZERNE

INTRODUCTION

LE DÉVELOPPEMENT NORMAL DE LA LUZERNE NECESSITE QU'ELLE ENTRE EN SYMBIOSE AVEC UNE BACTÉRIE, LE *RHIZOBIUM*. CETTE SYMBIOSE EST UNE COLLABORATION entre la plante et la bactérie qui permet à la plante d'assimiler l'azote de l'air. La culture de la Luzerne doit tenir compte du facteur microbiologique. Le but de cet article est d'en préciser l'importance.

Le *Rhizobium* de la Luzerne est appelé *Rhizobium meliloti*, car il peut contaminer le Mèlilot, mais aussi la Luzerne et le Fenugrec et il est spécifique de ces seules plantes. Les bactéries du Pois ou du Trèfle ne peuvent donc entrer en symbiose avec la Luzerne.

Ces *Rhizobium* peuvent vivre et se propager dans les sols favorables.

Dès que la radicule se développe, ils se multiplient dans la rhizosphère de la plante et pénètrent dans les poils absorbants. Les nodules ou nodosités se forment environ quinze jours après le début de la germination ; la symbiose s'établit huit à dix jours plus tard, le nodule fixe alors l'azote de l'air.

En fait, la Luzerne peut aussi assimiler l'azote du sol ; mais, si elle ne porte pas de nodule, elle ne pourra survivre que quelques mois, car elle aura vite épuisé les réserves ; et il serait trop onéreux d'entretenir une luzernière par des apports fréquents de fumure azotée.

L'importance de la symbiose est donc très grande : pratiquement tout l'azote de la plante provient de l'air par l'intermédiaire de ses nodules.

Heureusement, ces bactéries sont fréquemment présentes dans le sol, c'est du moins le cas dans les terrains où la Luzerne « vient bien ». Par contre, dans les champs où la Luzerne s'établit mal, jaunit l'année du semis, puis dépérit, il y a très souvent à l'origine de ces méfaits une déficience en *Rhizobium meliloti*.

L'inoculation consiste à apporter sur les graines un très grand nombre de *Rhizobium* qui ont été sélectionnés pour leur haut pouvoir fixateur en symbiose. Ainsi, la plante pourra former le nombre maximum de nodules et l'alimentation azotée de la Luzerne sera assurée à son niveau optimum.

Cette technique n'est pas nouvelle, les premiers essais ont été entrepris en Allemagne en 1896. La pratique de l'inoculation s'est répandue rapidement aux U.S.A. après la guerre de 1914 et constitue maintenant une pratique courante pour de nombreuses légumineuses. En Europe, l'inoculation de la Luzerne est largement répandue dans les Pays Scandinaves, aux Pays-Bas, en Belgique, en Allemagne.

En France, DEMOLON avait abordé ce problème en 1933 et avait développé l'inoculation. En 1951 ont été inoculés 10.000 ha de légumineuses (DEMOLON, 1952).

Cette technique ayant été pratiquement abandonnée après sa mort, nous avons repris l'ensemble de la question en 1957. Après avoir isolé de nombreuses souches, nous avons retenu une souche très efficiente en symbiose (M. OBATON, H. BLACHERE et P. FERRY, 1959).

Pour pouvoir juger des possibilités de cette technique, nous avons d'abord fait effectuer un grand nombre d'essais de comportement. Cette large investigation peu précise a permis de déterminer les sols où l'inoculation produisait un effet spectaculaire. Puis, nous avons entrepris une expérimentation précise qui doit nous permettre de déterminer les sols où l'inoculation de la Luzerne est indispensable, utile ou inutile (M. OBATON et H. BLACHERE, 1965). Cette expérimentation n'est pas terminée, mais il est déjà possible de discerner les orientations utilisables pratiquement.

Nous analyserons d'abord les différents effets que l'on peut observer dans les sols où les *Rhizobium meliloti* sont déficients. Puis nous étudierons sept essais qui nous permettront de tirer des conclusions provisoires sur la réponse de divers types de sols à l'inoculation de la Luzerne.

LES DIVERS SYMPTOMES DE DEFICIENCE EN RHIZOBIUM MELILOTI

1^{er} Cas : Les Rhizobium spécifiques sont absents.

Dans certains sols très acides, l'installation d'une luzernière est réputée impossible. On observe en effet que la Luzerne jaunit uniformément après le semis (photo 1), puis disparaît complètement l'année du semis ou l'hiver suivant (photo 2). Dans ces sols acides les *Rhizobium meliloti* ne peuvent vivre, la Luzerne ne forme pas de nodule et meurt dès que les réserves azotées du sol sont devenues insuffisantes. Chaulage et inoculation permettent de remédier à cette déficience.

2^e Cas : Les Rhizobium spécifiques sont en nombre insuffisant.

Dans beaucoup de sols, en général faiblement acides ou pauvres en calcium échangeable, on observe un dépeuplement partiel de la luzernière (photo 3). Dans ce cas, les *Rhizobium* sauvages sont présents en nombre insuffisants pour inoculer tous les pieds de Luzerne. Si une racine ne rencontre pas de bactérie spécifique, elle ne forme pas de nodule, manque donc d'azote, jaunit et meurt. Si elle en rencontre, il se formera des nodules, mais en nombre trop faible pour permettre un développement normal de la plante : elle est verte mais reste petite la première année. L'année suivante, les pieds jaunes ont disparu, les pieds verts se développent mieux car les *Rhizobium* se sont multipliés dans la rhizosphère de la plante, et le nombre des nodules augmente. Ces pieds reprennent de la vigueur au point de pouvoir couvrir tout le sol en troisième et quatrième année, si le dépeuplement initial n'a pas été trop sévère. L'inoculation des graines permet à toutes les plantules de rencontrer des *Rhizobium*, toutes les plantes survivront donc et présenteront une végétation normale.

Le chaulage peut parfois produire un effet analogue à l'inoculation, car il crée un milieu favorable à la diffusion rapide des *Rhizobium* autochtones ou apportés dans le sol (photo 4). Mais dans les sols très acides, le rendement optimum est toujours obtenu avec chaulage et inoculation (C. PFITZENMEYER, 1966).

Dans ces sols peu favorables à la survie des *Rhizobium*, on observe dans les parcelles non inoculées que les nodules sont groupés par dix à cinquante, alors qu'ils sont dispersés sur tout le système racinaire de la plante si les conditions sont favorables.

Ces nodules groupés sont un excellent indice : ils montrent que la culture de la Luzerne peut être considérablement améliorée par le chaulage et l'inoculation.

3^e Cas : Les *Rhizobium* sont inefficaces.

Les auteurs étrangers ont signalé la présence de *Rhizobium* non efficaces, ou peu efficaces qui forment des nodules sur la *Luzerne*, mais ces nodules ne fixent pas ou peu d'azote ; les plantes restent alors chétives. Nous n'avons jamais observé ce cas en France.

LES ESSAIS

1) Généralités.

Dix-huit essais ont été mis en place sur des sols variés, au point de vue pH (sols de pH 4,2 à pH 8,1) et de leur aptitude à porter la Luzerne.

Ces essais furent effectués en suivant le même protocole et comportent huit répétitions de trois traitements :

T : graines humidifiées

St : graines inoculées avec le produit stérilisé

I : graines inoculées avec le produit vivant.

Le traitement avec des bactéries stérilisées n'ayant jamais donné de résultat significativement différent du témoin humidifié, nous citerons seulement, dans tout ce qui suit, les rendements obtenus avec les parcelles témoin T et les parcelles inoculées I.

Les façons culturales sont adoptées à chaque sol ainsi que la fumure et les amendements, de façon à placer l'essai dans de bonnes conditions pour la culture de la Luzerne.

Dans les graphiques suivants, sont donnés les rendements en t/ha (échelle en ordonnée), en matière verte (colonne blanche) et matière sèche (colonne hachurée). La flèche à côté de chaque colonne traduit graphiquement la grandeur de la « plus petite différence significative ». Sous chaque colonne est indiqué le numéro de la coupe (c) et le rendement de la parcelle inoculée en pour cent du témoin (sur la matière verte).

Au-dessus des colonnes est indiqué, par année, le rendement total en t/ha de poids vert (P.V.) pour la parcelle témoin (T) et inoculée (I).

2) Essai situé en sol très acide :

— Mérinchal (Creuse) : graphique n° 1 :

But : Implantation de Luzerne dans un sol très acide.

Nature du sol : silico-argileuse.

Analyse chimique :

pH (Ca Cl ₂)	4,2	
pH (eau)	4,9	
Azote total	1,93	p. 1.000
Calcaire total	nul	
Ca échangeable	0,54	»
Mg échangeable	0,09	»
P ₂ O ₅ assimilable	0,11	»
K ₂ O échangeable	0,26	»

Sous-sol : arène granitique pénétrable par les racines sur plus de 1 mètre.

Evolution de l'essai :

Les parcelles témoin jaunissent, puis se dépeuplent. L'année du semis, la première coupe est faible à cause de la sécheresse, la seconde coupe donne pour les parcelles inoculées un rendement égal à 154 % du témoin.

Le rendement de la première année est 7 t/ha en vert sur les parcelles témoin et 11 t/ha sur les parcelles inoculées.

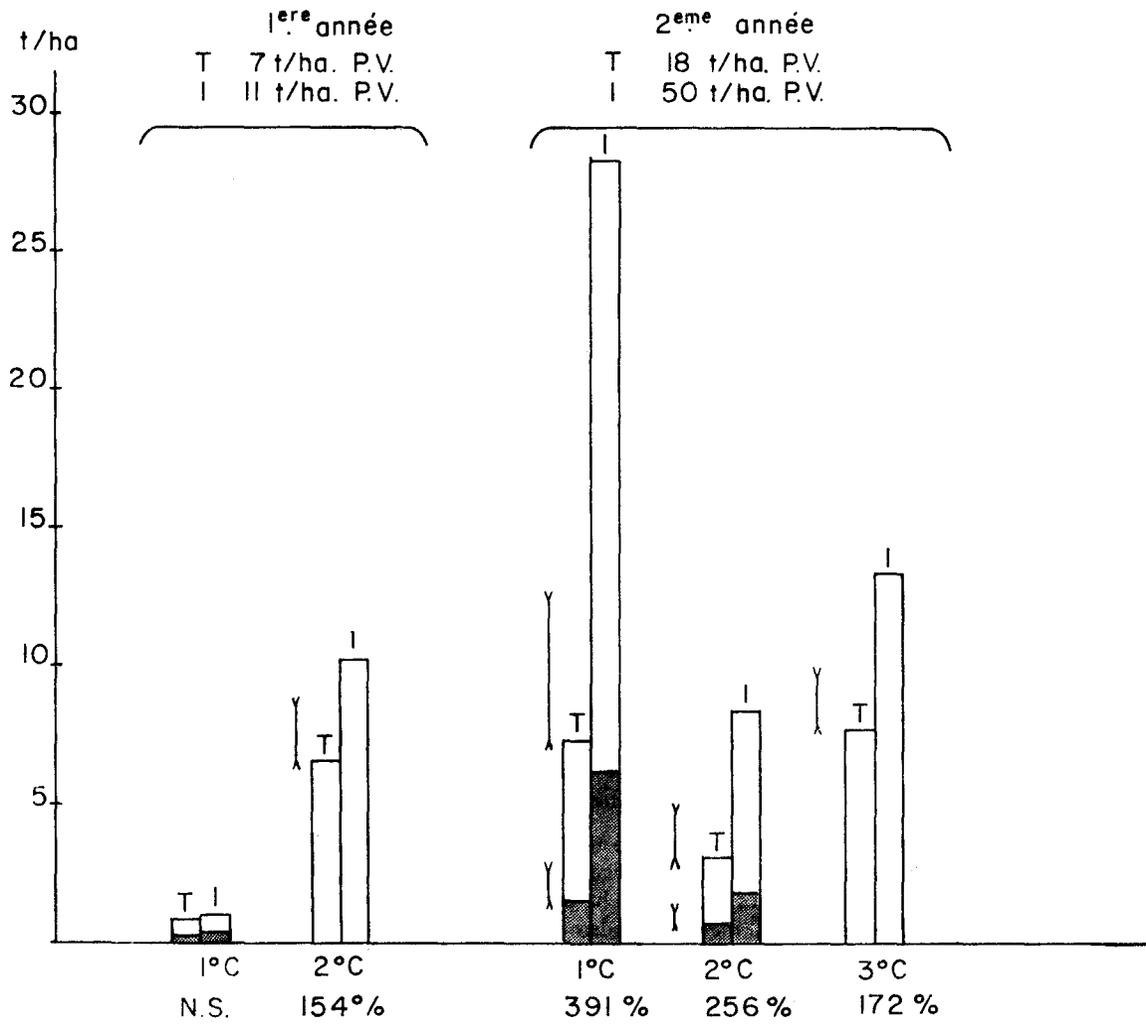
La première année d'exploitation, le rendement devient correct avec 50 t/ha en vert pour le traitement contre 18 t/ha pour le témoin. L'effet de l'inoculation est particulièrement spectaculaire sur la première coupe (parcelle inoculée 397 % du témoin en poids sec).

Conclusion :

Sur ce sol très acide, où la culture de la Luzerne était réputée impossible, l'introduction d'une luzernière correcte (50 t/ha en vert) a pu être réalisée grâce à l'inoculation. (Sur les trois coupes de la première année d'exploitation, le rendement moyen des parcelles inoculées est 278 % du témoin.)

Graphique 1

ESSAI DE MERINCHAL (Creuse)



N.S. = non significatif

3) Essais situés en sol peu acide :

— a) Saint-Pierre-Duchamp (Haute-Loire) : graphique n° 2 :

But : Implantation de Luzerne dans un sol granitique peu acide où la Luzerne « vient très mal ».

Nature du sol : arène granitique.

Analyse chimique :

pH (Ca Cl ₂)	5,9	
pH (eau)	6,6	
Azote total	1,48	p. 1.000
Calcaire total	nul	
Ca échangeable	1,02	»
Mg échangeable	0,29	»
P ₂ O ₅ assimilable	0,15	»
K ₂ O échangeable	0,34	»

Sous-sol : arène granitique pénétrable par les racines sur plus de 60 cm.

Evolution de l'essai :

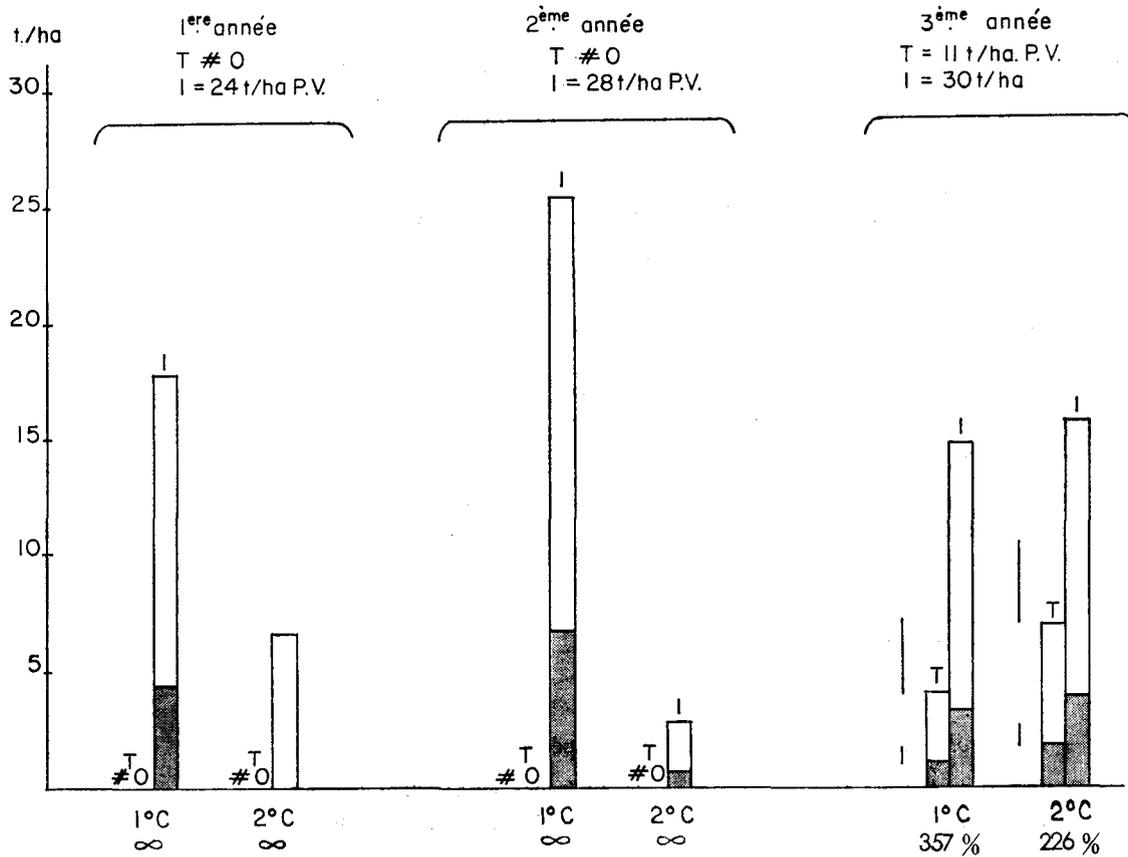
1^{re} année. — La levée est correcte dans toutes les parcelles mais, très rapidement, les parcelles non inoculées jaunissent ; les pieds restent si petits qu'ils passent sous la barre de coupe de la faucheuse et ne sont pas récoltables. Les parcelles inoculées vertes et bien développées donnent un rendement correct pour une année de semis (24 t/ha en vert).

2^e année. — Les pieds jaunes ont presque tous dépéri dans les parcelles non inoculées. Quelques pieds par parcelle ont cependant verdi, mais ne sont pas récoltables, noyés au milieu des mauvaises herbes. La végétation est correcte dans les parcelles inoculées, mais le rendement reste faible (28 t/ha en vert), car seulement deux coupes sont possibles à cette altitude (960 m).

3^e année. — A cause de la migration des *Rhizobium* dans le sol, la Luzerne se développe dans les parcelles non inoculées, mais le rendement reste très faible (11 t/ha en vert). La Luzerne se maintient bien, dans les parcelles inoculées (30 t/ha en vert).

Graphique 2

ESSAI DE SAINT-PIERRE-DUCHAMP (Haute-Loire)



Conclusion :

Dans ce sol peu acide, mais très pauvre en calcium échangeable, l'inoculation est absolument indispensable, car sans ce traitement, la Luzerne meurt très vite. Avec inoculation, les rendements restent faibles (de l'ordre de 30 t/ha en vert par an), à cause de l'altitude. Cette culture est néanmoins très intéressante sous ce climat sec en été.

— b) Marcenat (Cantal) :

Cet essai est situé dans la montagne (1 070 m) sur défriche d'alpage. Le sol est peu acide (pH Ca Cl₂ 6,1), mais pauvre en calcium échangeable (1,50 p. 1 000). Pendant les deux premières années, l'effet de l'inoculation a été très net : parcelles inoculées 182 % du témoin l'année du semis, 152 % la deuxième année, avec des rendements de 50 à 60 t/ha en vert.

La culture de la Luzerne a donc pu être introduite rentablement dans cette prairie de montagne, l'inoculation est pratiquement indispensable.

— c) Essai de Lopérec (Finistère-Sud) : graphique n° 3 :

But : Implantation de Luzerne dans un terrain n'ayant jamais porté cette culture. Sol originellement acide, mais chaulé régulièrement et riche en matière organique. Région où la Luzerne vient bien.

Nature du sol : Sol argilo-humifère, provenant de la décomposition de schistes.

Analyse chimique :

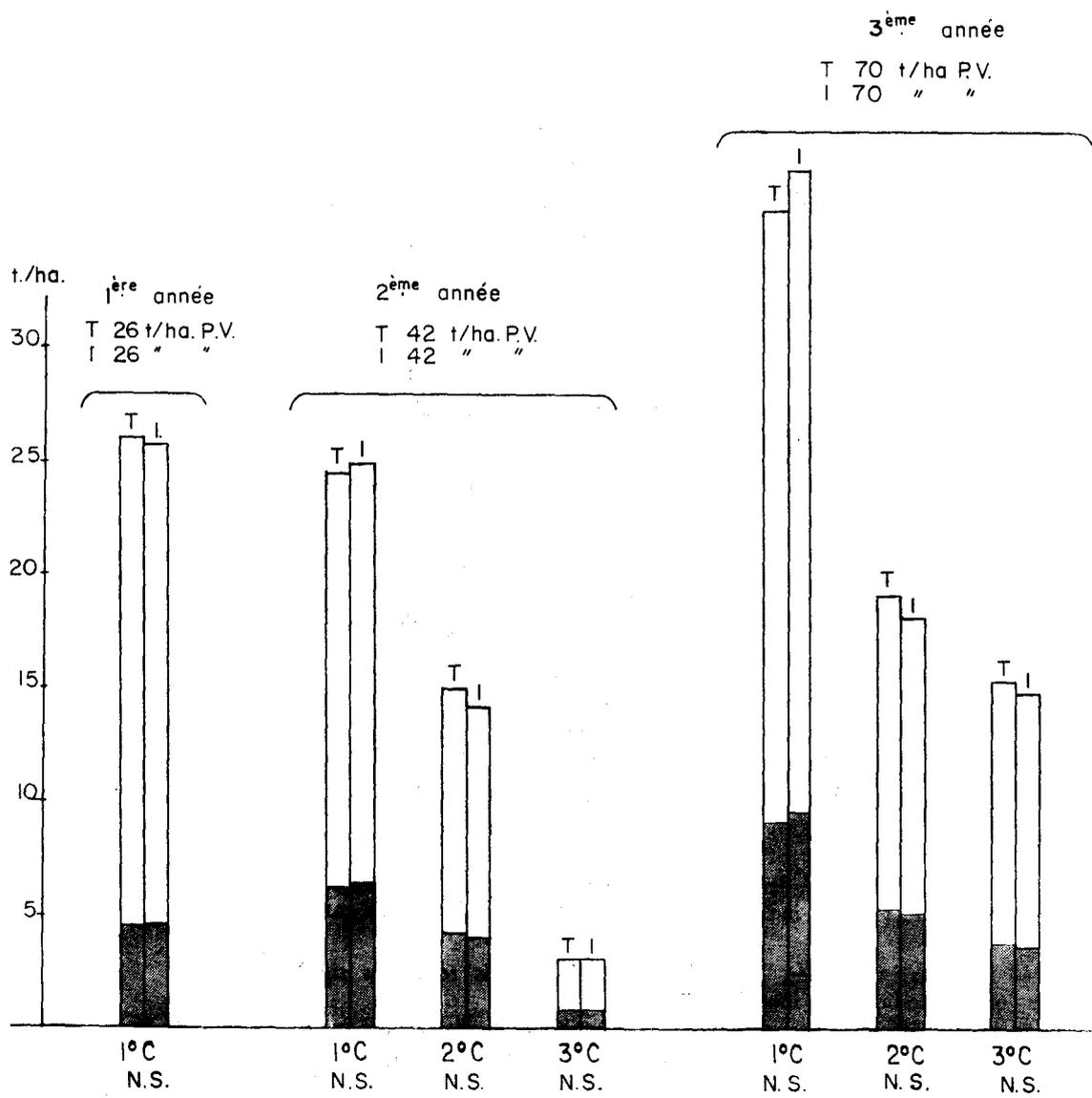
pH (Ca Cl ₂)	5,8
pH (eau)	6,4
Azote total	3,70 p. 1 000
Calcaire total	nul
Ca échangeable	2,70 »
Mg échangeable	0,31 »
P ₂ O ₅ assimilable	0,47 »
K ₂ O échangeable	0,62 »

Sous-sol : schistes de Chateaulin fendillés pénétrables par les racines.

Evolution de l'essai : Il n'y a jamais eu de différence visible dans l'aspect des parcelles, les pesées des récoltes n'ont jamais montré de différence significative entre les traitements.

Graphique 3

ESSAI DE LOPEREC (Finistère-Sud)



Conclusion :

Alors que dans la plupart des sols bretons l'inoculation est nécessaire, ici l'inoculation est parfaitement inutile. Ceci peut être attribué aux chaulages répétés (1 à 1,5 t/ha de CaO/ha tous les quatre ans depuis trente ans) qui ont remonté le taux de calcium échangeable du sol (2,70 p. 1 000) et ont permis aux *Rhizobium* de s'introduire et de survivre en nombre suffisant dans ce sol.

4) Essais situés en sol neutre :

— a) Marigny-en-Orxois (Aisne) : graphique n° 4 et photo n° 3 :

But : Sol neutre situé dans une région où la Luzerne vient bien. Dans ce champ cependant la Luzerne s'établit mal.

Nature du sol : Limon silico-argileux avec forte battance en surface.

Analyse chimique :

pH (Ca Cl ₂)	6,9	
pH (eau)	7,4	
Azote total	0,67	p. 1 000
Calcaire total	nul	
Ca échangeable	1,16	»
Mg échangeable	0,17	»
P ₂ O ₅ assimilable	0,08	»
K ₂ O échangeable	0,12	»

Sous-sol : Limon pénétrable par les racines sur plus de 1 mètre.

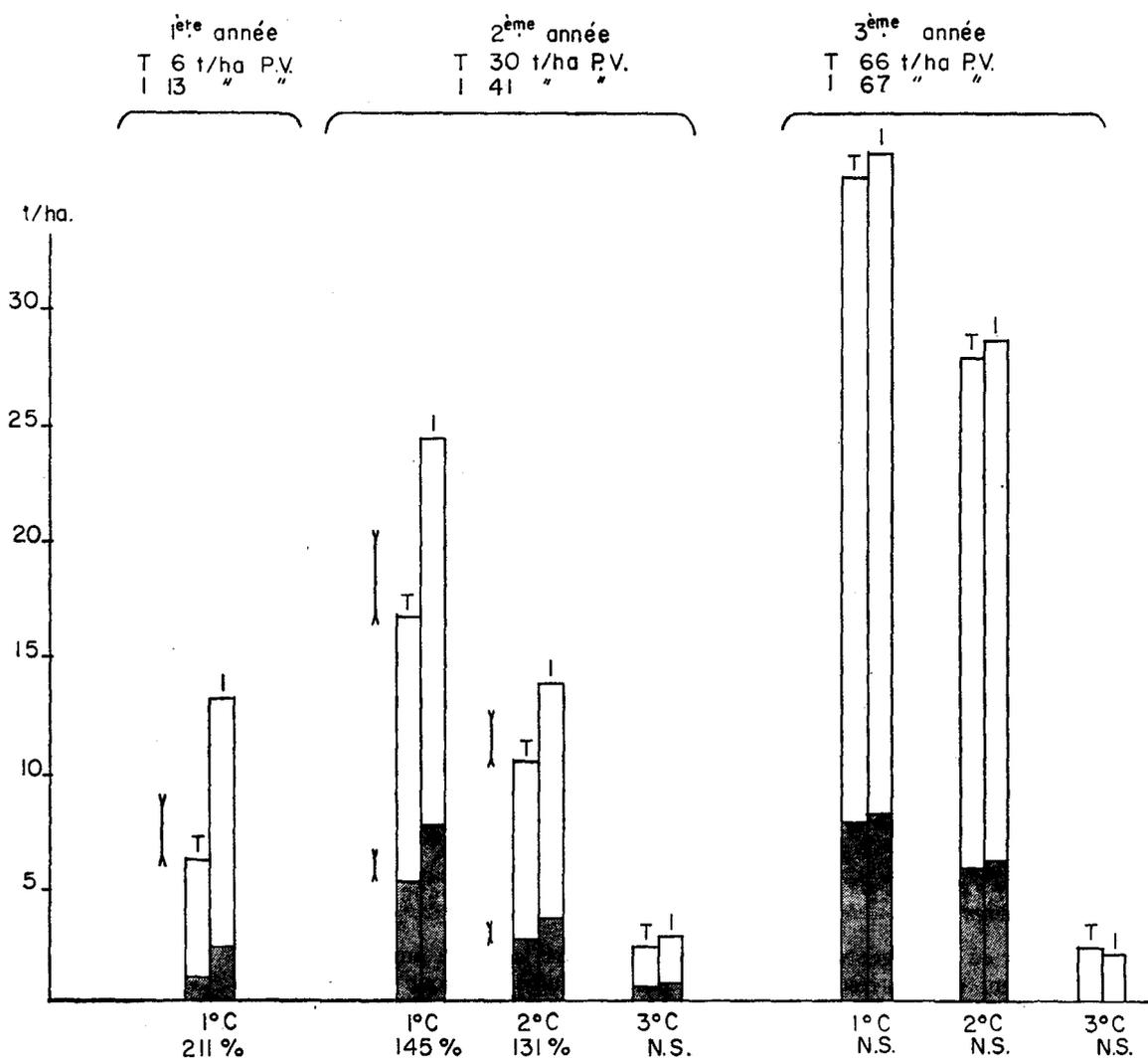
Evolution de l'essai :

— La première année, la différence de peuplement de taille et de couleur est très nette (témoin indice 100, inoculé 211 sur rendement en matière verte).

— En deuxième année, la différence s'atténue mais reste très significative (témoin indice 100, inoculé 137).

— En troisième année, la différence n'est plus significative (témoin indice 100, inoculé 102). Ceci est probablement dû à la migration entre les parcelles des *Rhizobium* apportés lors de l'inoculation.

Graphique 4
 ESSAI DE MARIGNY-EN-ORXOIS (Aisne)



Conclusion :

L'inoculation est nécessaire dans ce sol battant si l'on veut y installer une luzernière (rendement de 41 à 67 t/ha en vert par an avec inoculation). Les *Rhizobium* spécifiques sont présents, mais en nombre insuffisant, ce qui explique le dépeuplement des parcelles non inoculées. Ceci est probablement dû à la battance du sol (milieu asphyxique en hiver) et au faible taux de calcium échangeable (1,16 p. 1 000), bien que le sol soit neutre.

— b) Essai de La Minière (Yvelines) : graphique n° 5 :

But : Préciser s'il est possible d'améliorer le rendement de la Luzerne grâce à l'inoculation dans un sol où elle vient très bien et donne d'excellents rendements.

Nature du sol : Limon des plateaux, battant.

Analyse chimique :

pH (Ca Cl ₂)	6,0
pH (eau)	6,4
Azote total	0,92 p. 1 000
Calcaire total	nul
Ca échangeable	1,96 »
Mg échangeable	0,14 »
P ₂ O ₅ assimilable	0,15 »
K ₂ O échangeable	0,18 »

Profondeur du sol pénétrable par les racines : plusieurs mètres.

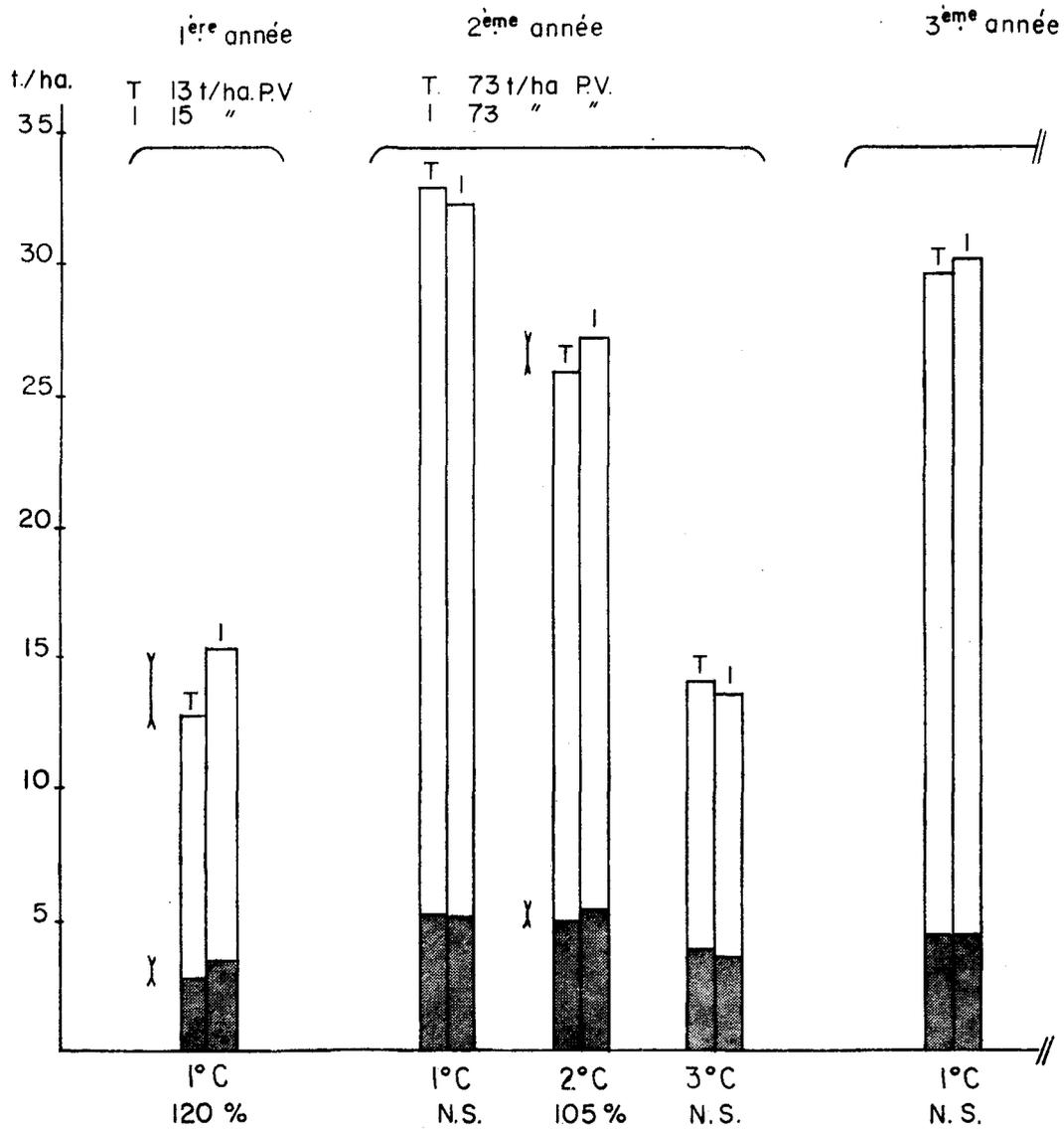
Evolution de l'essai : Il n'y a jamais eu de différence discernable entre les parcelles quant à l'aspect de la végétation.

Il y a cependant une petite différence de rendement significative sur la première coupe de première année (22 % d'augmentation de rendement en matière sèche) et sur la deuxième coupe de deuxième année (7 % sur matière sèche).

Conclusion :

Il y a eu un léger effet de l'inoculation. Mais la faible augmentation de rendement qui en résulte ne semble pas être suffisante pour justifier le traitement. D'autant plus que deux autres essais effectués en 1962 et 1964 n'ont donné lieu à aucune différence significative de rendement.

Graphique 5
 ESSAI DE LA MINIERE (Yvelines)



Une souche active de *Rhizobium meliloti* est présente dans ce sol. En 1963, elle fut probablement décimée par l'hiver rigoureux ou le printemps humide qui a rendu ce sol asphyxique. Il faut remarquer que ce sol est battant et assez pauvre en calcium échangeable (1,96 p. 1 000).

5) Essai situé en sol basique :

— Vitry-le-François (Marne) :

But : Essai d'implantation de Luzerne en sol calcaire n'ayant jamais porté cette culture (défriche de pins).

Nature du sol : Craie, pineraie défrichée juste avant le semis.

Analyse chimique :

pH (Ca Cl ₂)	8,1
pH (eau)	8,2
Azote total	1,85 p. 1 000
Calcaire total	583 »
(Ca échangeable	8,16) »
(Mg échangeable	0,36) »
P ₂ O ₅ assimilable	0,12 »
K ₂ O échangeable	0,11 »

Sous-sol : Craie.

Evolution de l'essai : Très légère différence de taille et de couleur en faveur des parcelles inoculées, les premiers mois, mais aucune différence de rendement décelable.

Conclusion :

L'inoculation est inutile dans ce sol, bien que la Luzerne n'ait jamais été cultivée dans cette région, les *Rhizobium meliloti* vivant spontanément soit à l'état libre dans ce sol calcaire, soit sur des *Medicago* sauvages.

CONCLUSION

L'expérimentation n'est pas terminée, les essais doivent rester en place quatre ans. De plus, ces essais sont encore peu nombreux. Cependant, après six ans d'expérimentation portant sur deux cents essais de comportement et dix-huit essais statistiques, il est déjà possible de tirer des conclusions générales qui seront précisées dans les années à venir.

L'inoculation de la Luzerne ne doit pas être conseillée sans distinction. Elle est inutile dans les sols calcaires, basiques.

La culture de la Luzerne peut être introduite dans les sols acides, et s'y maintenir rentablement grâce à l'inoculation. Il est de plus nécessaire que la profondeur pénétrable par les racines soit suffisante et les techniques culturales adéquates.

En dehors de ces cas extrêmes, la réaction du sol ne donne pas une indication suffisante pour préjuger de la présence ou l'absence des *Rhizobium meliloti*.

La connaissance du taux de calcium échangeable donne une indication utile. Si ce taux est inférieur à 2 p. 1 000, l'inoculation est nécessaire, s'il est supérieur à 2 p. 1 000, elle est inutile.

Dans les cas intermédiaires, si la Luzerne reste chétive ou se dépeuple, il est nécessaire d'envisager l'inoculation mais aussi de vérifier si les techniques culturales, la fertilisation et l'exploitation sont correctes.

Le tableau I résume ces données : ce sont des conclusions provisoires, elles peuvent cependant déjà servir utilement d'hypothèse de travail pour conseiller les agriculteurs.

TABLEAU I
RELATION ENTRE LA NATURE CHIMIQUE DU SOL ET L'UTILITE
DE L'INOCULATION DE LA LUZERNE

Sol très acide		Inoculation indispensable
Sol peu acide ou neutre	Ca + + échangeable inférieur à 2 p. 1 000	Inoculation indispensable
	Ca + + échangeable voisin de 2 p. 1 000	Essayer l'inoculation si la réussite de la Luzerne est difficile.
	Ca + + échangeable supérieur à 2 p. 1 000	Inoculation inutile.
Sol alcalin (calcaire)		Inoculation inutile.

M. OBATON,
Laboratoire de Microbiologie des sols,
C.N.R.A., Versailles (78).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- DEMOLON A. (1952) : « Contribution à l'étude de la symbiose bactérienne chez les légumineuses », *Rev. Gén. Bot.* 59, 42-64.
- OBATON M., BLACHERE H. et FERRY P. (1959) : « L'inoculation de la Luzerne. 1^{re} Partie - Sélection de souches bactériennes », *Ann. agro.* 10. 69-76.
- OBATON M. et BLACHERE H. (1965) : « L'inoculation de la Luzerne. 2^e Partie - Résultats de l'expérimentation », *Ann. agro.* 16, 25-51.
- 38 PFITZENMEYER C. (1966) : « La fumure de la Luzerne », *Fourrages*, 26 49-56.