

EFFET DU STRESS HYDRIQUE SUR LA FIXATION ET L'ASSIMILATION DE L'AZOTE CHEZ LE POIS-CHICHE

OUNANE S. M.

Institut National Agronomique - El Harrach, Alger

Résumé : Un stress hydrique progressif, obtenu par arrêt de l'arrosage et appliqué aux trois stades phénologiques (végétatif, floraison et gousse), provoque des modifications importantes au niveau de la nutrition azotée chez le pois-chiche. La fixation symbiotique de l'azote atmosphérique et l'assimilation des nitrates du sol subissent une diminution plus ou moins importante en fonction de l'intensité de la contrainte hydrique. La fixation est affectée en premier lieu et de façon plus importante au stade végétatif où nous observons une diminution de cette activité, accompagnée par une perte rapide de la réserve en eau des nodules. Au stade floraison et gousse, cette activité est moins affectée tout au moins quand nous avons appliqué des stress faibles ou modérés.

L'assimilation des nitrates est moins influencée sauf pour les stress sévères qui provoquent d'abord une légère augmentation de l'ANR, suivie d'une chute brutale de cette activité.

L'évolution des deux activités montre une compensation par l'ANR qui s'établit lorsque la fixation est déficiente sous une contrainte hydrique. La levée de la contrainte par le rétablissement de l'arrosage permet une reprise de ces deux activités sauf pour les plantes qui ont subi un stress sévère.

Mots clés : Stress hydrique, fixation symbiotique de l'azote, assimilation des nitrates, pois-chiche.

Hydrous stress effect on fixation and assimilation nitrogen by chick-pea

Abstract : gradual hydrous stress obtained by stopping watering and applied to three phenologic stage (vegetative ,flowerining and pod) induces important changes at the of nitrogenous nutrition in chick-pea.The symbiotic fixation of atmosphéric nitrogen and soil nitrates assimilation undergo a more or less diminution according to the intensity of hydrous strain the fixation is affected in the first instance and in a more important manner in the vegetative stage in which we can notice a diminution of this activity coupled with a rapid loss of nodules water reserve.. During the flowering and pod stage,this activity is less affected at least, when weak or moderated stresses have been applied.Nitrates assimilation is less influenced excepting for severe stress which induce in the first instance a low increase of RNA followed by a sudden drop of this activity Both activity evolution shows a RNA compensation which is established when the fixation is deficient

under a hydrous strain. The drawing out of the strain by re-establishing watering enables a renewal of these two activities excepting for plants that have undergone a severe stress.

Keys words : hydrous stress, nitrogen symbiotique fixation, nitrogen assimilation, chik-pea

INTRODUCTION

Le développement de la culture du pois-chiche reste largement tributaire des disponibilités en eau, dans les régions à vocation céréalière, où elle remplacerait avantageusement la jachère dans une rotation avec le blé. Il n'en demeure pas moins que c'est une espèce peu exigeante en eau, sauf pendant le stade floraison, où elle exprime le maximum de ses potentialités. En semis de printemps, ce stade coïncide généralement avec la saison où les risques de sécheresse sont fréquents dans ces régions. De ce fait, les rendements sont généralement faibles, et les charges qui se greffent à cette culture limitent considérablement son extension (Ministère de l'agriculture, 1996). L'augmentation des rendements passerait obligatoirement par l'utilisation de variétés adaptées aux contraintes hydriques. Les recherches entreprises en Algérie, dans ce domaine, ont été orientées essentiellement vers le comportement de variétés introduites et possédant le caractère de tolérance à la sécheresse. Il est cependant aussi intéressant d'étudier les paramètres ou les mécanismes physiologiques liés à ce caractère, et pouvant servir de base à des critères de sélection de cette espèce, très appréciée pour sa capacité de fixer l'azote atmosphérique, et pour la richesse de ses graines en protéines. Le pois-chiche assure sa nutrition azotée par deux voies, la fixation de l'azote de l'air ou /et l'assimilation de l'azote combiné du sol. Ces deux voies peuvent être concurrentielles ou complémentaires, et réagissent différemment aux conditions du milieu. Le stress hydrique se traduit généralement par une réduction de la croissance, mais aussi des échanges gazeux et du métabolisme général de la plante. Dans ce travail nous sommes intéressés à l'influence du stress hydrique croissant, appliqué à trois stades phénologiques, sur la fixation et l'assimilation de l'azote. Nous avons aussi étudié la réaction de ces deux activités après la levée de la contrainte hydrique.

MATERIEL ET METHODES

Le pois - chiche (ILC 3279) est cultivé en pot sous serre en conditions semi-controlées. Les pots d'une contenance de 8 litres sont remplis d'un mélange composé en volumes équivalents de terre, de sable et de terreau.

Les stress hydriques sont provoqués par un tarissement en eau du sol (arrêt de l'arrosage) correspondant à 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90% de la réserve utile (RU). La mesure du taux de tarissement se fait par pesée. Pour chaque pot nous avons calculé la réserve totale (RT) et la RU ($RU=1/2 RT$). La réserve totale est mesurée à partir de quatre échantillons du substrat utilisé. Ils sont ramenés à la

capacité au champs ,pesés, séchés à 105°C pendant 48 heures, puis repesés. La différence entre le poids frais et le poids sec nous donne la réserve totale (Ducroq M., 1990). Les stress hydriques sont appliqués aux trois stades phénologiques critiques : stade végétatif , stade floraison , et stade gousse.

La fixation de l'azote est estimée par la mesure de l'activité réductrice d'acétylène (ARA) directement dans le pot. Le dispositif utilisé pour cette mesure est une adaptation de la méthode de Balandreau et. Dommergues (1971). Un couvercle en bois comportant une fente est glissé sur la partie supérieure du pot, pour isoler le système racinaire du reste de la plante qui demeure à l'air libre. L'étanchéité étant assurée par du mastic. Le volume réactionnel du pot correspond au volume interstitiel ou macroporosité du sol. Après 30 minutes d'incubation, nous prélevons 5 ml de gaz qui seront stockés dans des tubes venoject. L'éthylène produit est dosé par chromatographie en phase gazeuse.

L'assimilation de l'azote est estimée par la mesure de l'activité nitrate-réductase avec la méthode in-situ de Robin et al (1983) . La dernière feuille du sommet entièrement formée est placée en anoxie et à l'obscurité permettant ainsi le blocage de la nitrite-réductase (obscurité) tout en maintenant l'activité de la nitrate-réductase, grâce à l'anoxie et à un apport de nitrate exogène au cours de l'incubation. Le nitrite accumulé dans les tissus est extrait par de l'eau bouillante et dosé après diazotation à 540 nm .

Nos résultats ont fait l'objet d'une analyse de la variance avec cinq répétitions L'intervalle de confiance est représenté sur les courbes quand c'est nécessaire

RESULTATS ET DISCUSSION

1- Effet du stress hydrique sur l'A.N.R.

La figure 1 montre bien un effet dépressif du stress hydrique sur l'activité de la nitrate réductase . Cet effet ne s'observe pas de la même façon en fonction de l'intensité de la contrainte et du stade de développement de la plante. En effet ,nous remarquons au stade végétatif (fig. 1 A) une diminution de l'A.N.R. mais uniquement à partir de 40% de la R.U. Cette chute s'observe aussi aux deux autres stades (fig.1 B et C) mais à des stress plus sévères (20% R.U.) .

Nous remarquons par ailleurs aux stades floraison et gousse une augmentation de l'A.N.R. entre 60 et 30% de la RU suivie par une diminution assez brutale de cette activité mais sans jamais s'annuler complètement.. Hsiao (1973) a pu montrer depuis longtemps que le déficit hydrique provoque une diminution du potentiel hydrique du végétal et des troubles métaboliques au niveau cellulaire . D'autres auteurs ont pu observer une forte diminution de l'A.N.R. sous l'effet des stress hydriques sévères chez le trèfle (Wery et al, 1986) et chez le dactyle (Triboï-Blondel ,1978)

La levée de la contrainte (réarrosage) se traduit dans le premier stade par une reprise de l'A.N.R. jusqu'à atteindre le niveau du témoins et même le dépasser quand les plantes subissent un stress sévère (fig.1 A) Ce dépassement a été expliqué par Smirnof et al (1984) sur la base d'une accumulation importante de nitrates au niveau de la vacuole pendant le stress ,formant ainsi un grand pool rapidement disponible pour l'enzyme au moment de la levée de la contrainte. Le rétablissement de l'arrosage provoquerait un flux d'eau fortement chargée en ions, notamment des nitrates nécessaires à la synthèse et à l' activité de la nitrate-réductase.

Dans les deux autres stade le réarrosage semble produire peu d'effet sur l'A.N.R. sauf pour les stress sévères où nous observons une faible reprise ,qui pourrait signifier une détérioration plus ou moins importante des structures enzymatiques, sous l'effet de la contrainte hydrique (fig.1 B et C)

2- Effet du stress hydrique sur l'A.R.A.

La figure 1 montre bien un effet dépressif du stress hydrique sur l'activité de la nitrogénase qui s'annule pratiquement quand les plantes sont soumises à un déficit sévère . IL est plus ou moins important en fonction du stade phénologique et de l'intensité de la contrainte. Au stade végétatif (fig.1 D) nous observons une diminution très forte dès l'application des premiers niveaux de stress . Aux stress sévères la fixation est fortement déprimée et s'annule pratiquement au delà de 30%de la RU. Aux deux autres stades (fig.1 E et F), l'A.R.A. semble moins affecter et les premiers effets du stress n'apparaissent que plus tard, notamment au stade gousse où la diminution ne s'observe qu'à partir de 50%de la RU .

La figure 1, montre aussi une évolution de l'ARA comparable a celle du poids frais des nodosités. Cette relation a été déjà mise en évidence chez le soja par Johnson et Hume (1973), Finn et Brun (1980) et Sprent (1981). D'autres auteurs ont trouvé aussi une corrélation entre le contenu en eau des nodules, leur taille et l'ARA. Ils ont pu montrer que les gros nodules possèdent une proportion de matière sèche très faible par rapport a celle de l'eau, traduisant ainsi une présence plus importante en léghémoglobine et l'existence d'espaces intracellulaires plus grands, favorables à la circulation des gaz (Denison et al, 1985 ; Durand et al, 1987).

La sensibilité du Pois chiche, soumis au stress hydrique, pendant la phase végétative peut s'expliquer par la présence d'une proportion plus importante de nodules de petite taille qui se dessécheraient plus rapidement que les autres. La perte en eau provoque leur rétrécissement, et une diminution de la porosité de leur épiderme dont la conséquence est une mauvaise circulation de l'oxygène nécessaire aux bactéroïdes (Durand et al, 1987). En effet, le comptage des nodules que nous avons réalisé sur des plants non stressés nous a permis de constater que pour un même poids frais, le nombre de nodules au stade végétatif est trois fois supérieur à celui du stade gousse.

Aux deux autres stades, nous avons pu observer la présence de nodules de taille plus grande, qui aurait permis une meilleure protection contre le dessèchement. Leur parenchyme cortical plus épais, réduit dans une certaine mesure la perte de leur contenu en eau, leur permettant ainsi de conserver une bonne activité fixatrice lors d'un déficit hydrique faible ou modéré (Sall, 1987).

D'autres auteurs ont mis en évidence chez des génotypes de soja, une relation directe entre la fixation de l'azote et la taille ou le volume de leurs nodules (Paul et Planchon, 1990 ; Burias et al, 1990).

Le Pois chiche, réalimenté en eau à la RU après avoir subi un stress hydrique, développe un ARA qui varie en fonction de l'intensité du stress, et du cycle végétatif de la plante (Fig. 1). Pendant le premier stade (Fig.1 D), la réalimentation permet une reprise de l'ARA pouvant atteindre, le niveau du témoin pour les stress modérés (90 à 40% de la RU), mais reste faible quand les stress sont sévères . Aux stades floraison et formation de gousses la reprise de l'ARA rejoint aussi le niveau du témoin, tout au moins jusqu'à 40% de la RU (Fig.1 EetF). Au delà, les contraintes sévères ne permettent plus de reprise de cette activité.

Ces résultats suggèrent une bonne conservation des structures cellulaires des nodules, soumis a un déficit hydrique modéré ,qui leur permet de reprendre facilement une activité fixatrice après un réarrosage. Par contre les stress sévères semblent entraîner une destruction partielle de la nitrogénase, plus importante au stade végétatif. La grande sensibilité à ce stade pourrait être expliquée aussi par la présence de petits nodules. En effet Sprent (1972) et Sall (1987) ont pu montrer que les nodules de petite taille perdent rapidement leur réserve d'eau, provoquant ainsi une destruction du tissu central où sont localisés les bactéroïdes. De plus Sprent (1971) a obtenu une inhibition irréversible de l'ARA, lorsque les nodules subissaient une perte en eau supérieure à 20% du poids frais.

3- Effet du stress hydrique sur l'A.R.A. et l'A.N.R.

La figure 2 montre l'évolution des deux activités enzymatiques, chez des plantes soumises aux mêmes contraintes hydriques. Nous remarquons d'abord que le stress affecte plus l'A.R.A. que l'A.N.R. Cette tendance est plus marquée au stade végétatif où nous pouvons observer une chute de l'A.R.A. dès l'application des premiers niveaux de stress (fig 2A). La sensibilité de la fixation au déficit hydrique a été montrée par plusieurs auteurs, notamment chez le soja (Obaton et al., 1982) chez le pois-chiche (Wery et al., 1988). Ces chercheurs expliquent cette sensibilité par le fait que le nodule, ne possède aucun mécanisme lui permettant de s'adapter aux contraintes hydriques. De plus, leur localisation dans le profil de surface du sol les expose en premier, aux effets de la sécheresse . Par contre les deux autres stades, présentent une évolution différente où nous observons une compensation entre les deux activités (fg 2 BetC). En effet l'activité de la nitrate reductase augmente fortement quand l'A.R.A. diminue, tout au moins pendant les stress modérés (entre 60% et 30% de la RU). Ce comportement suggère une réponse du pois-chiche au contraintes hydriques par une alimentation à dominance nitrique capable de

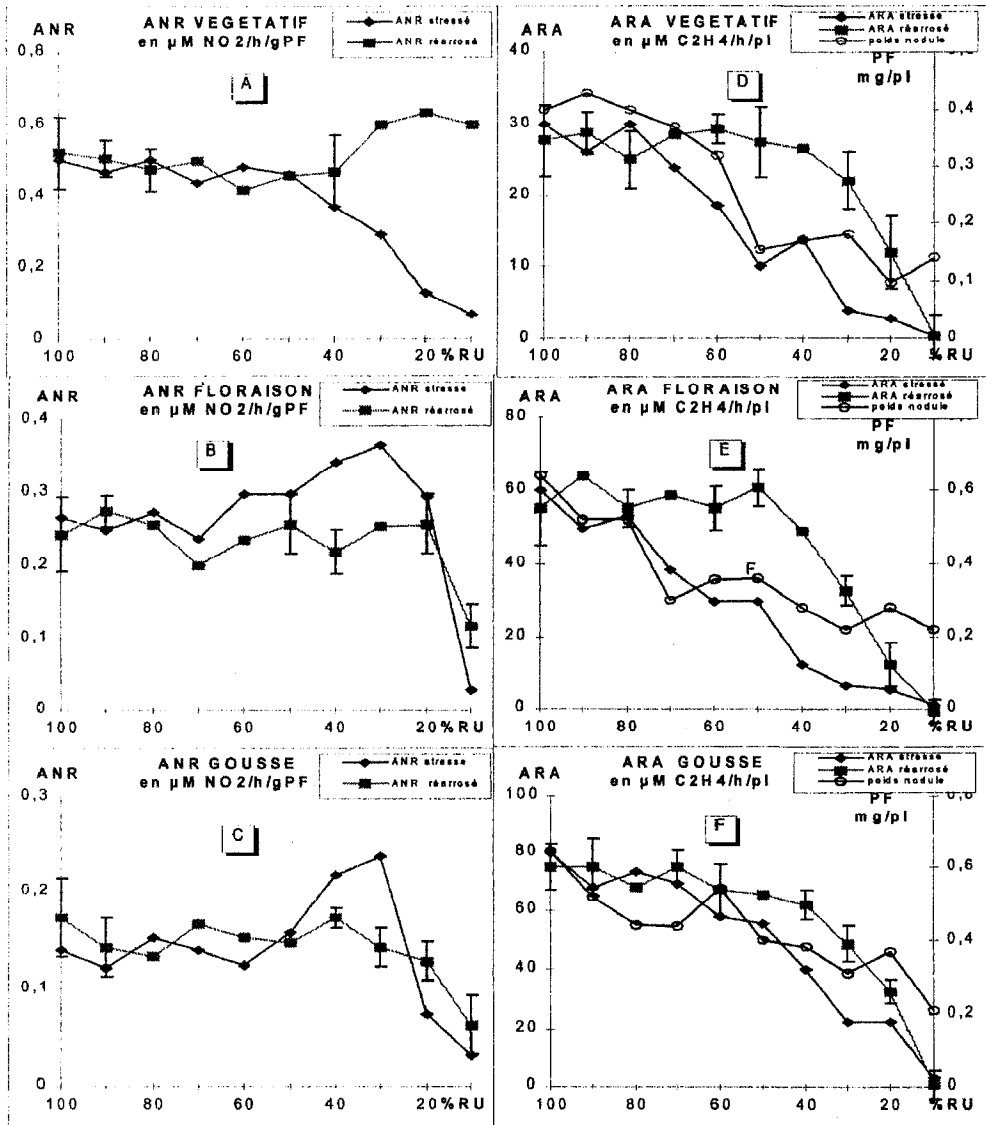


Figure 1. Effet du stress hydrique sur la fixation (ARA), l'assimilation (ANR) et le poids frais des nodules chez le pois-chiche, aux trois stades phénologiques

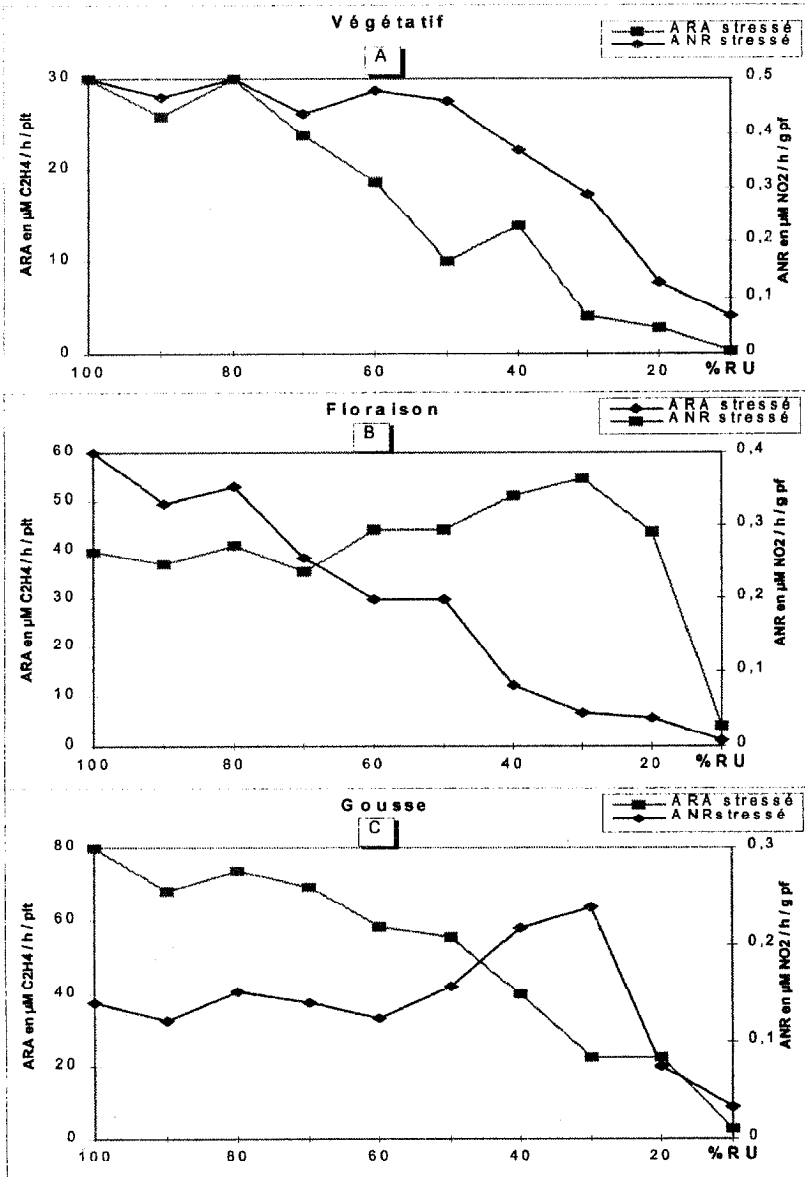


Figure 2. Evolution de la fixation (ARA) et de l'assimilation (ANR) chez le pois-chiche soumis aux contraintes hydriques aux trois stades phénologiques

compenser le déficit provoqué par la baisse de la fixation. Les stress sévères provoquent généralement une forte diminution des deux activités qui s'annulent pratiquement à 10% de la RU

CONCLUSION

Le développement de la culture du pois-chiche dans les régions méditerranéennes où le déficit hydrique est fréquent, reste largement dépendant de ses capacités à utiliser les réserves hydriques du sol grâce à un système racinaire dense et profond, ou à maintenir au niveau des tissus, une bonne turgescence en diminuant le potentiel osmotique (Sloanne et al., 1990) . La nutrition azotée constitue aussi un paramètre important à prendre en charge pour la compréhension des mécanismes impliqués dans la réponse de la plante au stress hydrique.

Nous avons pu montrer que le stress hydrique provoque une diminution des deux activités enzymatiques et du poids des nodules. Pour la fixation, la diminution est plus importante au stade végétatif qui semble représenter une phase très sensible du cycle de la plante. Cette sensibilité se manifeste d'abord par une perte rapide de la réserve en eau des nodules et une baisse concomitante de la fixation. La relation entre l'état hydrique des nodules et la fixation a été démontrée à plusieurs reprises, sans pour autant constituer la principale cause de la baisse de l'A.R.A. En effet, d'autres relations ont été mises en évidence notamment entre la photosynthèse et la fixation (Vignes et al., 1986).

L'application d'une contrainte progressive nous a permis de constater que le stress modéré affectait moins l'A.R.A. pendant la floraison et la formation des gousses. Nous avons pu expliquer ce fait par la présence en plus grand nombre, de gros nodules capables de développer une meilleure résistance à la déshydratation et de conserver une bonne activité nitrogénase.

L'assimilation des nitrates est moins déprimée par le stress hydrique, tout au moins pour les contraintes faibles ou modérées. Par contre les contraintes sévères provoquent d'abord une légère augmentation, de l'A.N.R. suivie par une chute brutale.

La levée de la contrainte se traduit par une reprise de l'activité nitrogénase et nitrate réductase quand le stress est faible ou modéré alors le stress sévère provoque une inhibition irréversible de ces deux activités

La comparaison des deux activités sous une contrainte hydrique laisse entrevoir une sensibilité plus grande de la fixation par rapport à l'assimilation et une compensation qui s'établit pour assurer une alimentation régulière en azote de la plante. La plante réajuste sa nutrition par une augmentation de l'A.N.R. au moment où la fixation diminue sous l'effet du stress hydrique. Encore faut-il qu'à ce moment là, la plante puisse disposer de suffisamment de nitrate dans le sol pour équilibrer sa nutrition azotée. Mais dans tous les cas la plante finit par se dessécher si la contrainte se prolonge au delà d'une certaine limite.

Références

BALANDREAU J., DOMERGES Y., 1971. Mesure in situ de l'activité nitrégénase. C.R.Acad.Sci.Paris,273,2020-2023.

BARDIN J., 1982. Influence du déficit hydrique sur l'activité nitratre réductase et nitrogenase chez le soja (Glycine max L. Mer. c.v. Hodgson) C.R.Acad. Sci. Paris, tome 294,serie III, 1007-1012.

BURIAS N., PLANCHON C.et PAUL M.H. 1990. Phenotypic and genotypic of nodules on soybean roots system inoculated with Bradyrhizobium japonicum strain G49. Agronomie, 10,57-62.

DENISON R.F., MEISK P.R.et SINCLAIR T.R., 1985 . Variably among plant in dinitrogen fixation(acetylene reduction) rates by field grown soybean. Agron. J., 77, 947-950.

DUCROQ M. , 1990. Les bases de l'irrigation. Editions Michel Ducroq, Paris, p350

DURAND J.L, SHEEY J.E.et MINCHIN F.R., 1987. Nitrogenase activity, photosynthesis and nodule water potential in soybean plants experiencing water deprivation . J.Exp.Bot., 38,311-321.

FINN M.H.et BRUN W.A., 1982. Effect of atmospheric CO₂ enrichment on growth, non structural carbohydrate content and root nodule activity in soybean. Pant Physiol.,69,327-331.

HSIAO T.C., 1973 . Plant responses to water stress . Annu. Rev. plant physiol.,24,519-570

JOHNSON H.S.et HUME D.J.,1973. Comparisons of nitrogen fixation estimates in soybean by nodules weight ,leghemoglobine content and acetylene reduction.Can. J. Microbiol., 19, 1165-1168.

OBATON M.,MIQUEL M.,ROBIN P., CONEJERO O., DOMENACH A.M., et BARDIN R., 1982. Influence du deficit hydrique sur l'activité nitratre-réductase et nitrégénase chez le soja. C.R. Acad. Sci. Paris, Serie III ,294, 1006-1012.

PAUL M.H.et PLANCHON C. , 1990. Chlorophyll fluorescence as a tool in soybean improvement for N₂ fixation efficiency. Euphytia,45,43-47.

RAISSAC de M., 1992. Mécanisme d'adaptation à la sécheresse et maintien de la productivité des plantes cultivées. Agro. Trop.,46,29-39.

SALL K. , 1987. Influence du déficit hydrique sur les activités nitrate réductase et nitrogénase chez le soja (*Glicine max. L. Merrill*) . Thèse Doctorat, INP-ENSA Toulouse, 140p.

SLOANE R.J., PATTERSON M. et CARTER T.E., 1990. Field drought tolerance of soybean plant introduction. *Crop. Sci.*,30,118-123.

SMIRNOF N., TODD P. et STEWART G.R., 1984. The occurrence of nitrate reduction in leaves of woody plants. *Ann. Bot.*,54 ,363-374.

SPRENT J. I , 1971 . Effects of water stress on nitrogen fixation in root nodules. *Plant and Soil*, special volume, 225-228.

SPRENT J. I , 1972 . The effects of water stress on nitrogen fixation in root nodules. IV. Effects on whole plants of *Vicia faba* and *Glycine max.* *New Phytol.*, 71, 603-611.

SPRENT J. I , 1981. Nitrogen fixation In PALEG L.G. ,ASPINAL D. (Eds) *Physiology and biochemistry of drought resistance in plants* . Academic press, New York, 131-143.

TRIBOI-BLONDEL M.M., 1978. Effet des différents régimes hydriques sur l'activité in vivo de la nitrate réductase dans les feuilles de dactyl. *C.R. Acad. Sc. Paris*, t.286 Serie D., 1795-1798.

VIGNES D. , DJEKOUN A. et PLANCHON C. , 1986. Réponses de différents génotypes de soja au déficit hydrique. *Can. J. Plant. Sci.*, 66,247-255.

WERY J., DESCHAMPS M., et CRESSON-LEGER N. , 1988. Influence of some agroclimatic factors and agronomic practices on nitrogen nutrition of chickpea (*Cicer arietinum L.*) . BECK D.P. et MATERON L.A. (editors) *Nitrogen fixation by legumes in mediterranean agriculture*, I. C.A.R.D.A. Netherlands, 287-299.