

40265

SB

329

A84



ATELIER SUR LA FIXATION BIOLOGIQUE  
D'AZOTE DU HARICOT EN AFRIQUE  
WORKSHOP ON BIOLOGICAL NITROGEN  
FIXATION OF BEANS IN AFRICA

RUBONA, RWANDA  
27 - 29 Octobre 1988

CIAT African Workshop Series, No 8

Organisé et compilé par  
Organized and compiled by

*de la ...*  
Pierre Nyabyenda, ISAR  
Athenase Hakizimana, ISAR  
Judy Kipe-Nolt, CIAT  
Jeremy Davis, CIAT  
Willi Graf, CIAT

91800

Organisation

Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda (ISAR),

Centro Intercional de Agricultura Tropical (CIAT), Programme  
Régional pour l'Amélioration du Haricot dans la Région des  
Grands Lacs

Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT)  
Programme Régional pour l'Amélioration du Haricot dans la Région des Grands Lacs  
Boîte Postale 259  
Butare - Rwanda  
300 copies  
Imprimé au Kenya

## P R E F A C E

Ce document est le huitième d'une série de publications qui résument les résultats de recherche sur le Haricot Commun (*Phaseolus vulgaris*) en Afrique. Ces actes de séminaires font partie des activités du réseau de recherche sur le haricot au niveau de toute l'Afrique. L'objectif de ce réseau est de stimuler, orienter et coordonner la recherche sur cette culture.

Le réseau est organisé par le Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) sous forme de trois programmes régionaux interdépendants: Grands Lacs de l'Afrique Centrale, Afrique de l'Est et Afrique Australe (en collaboration avec SADCC).

Les publications dans cette série comprennent les compte-rendus des séminaires et ateliers tenus pour évaluer l'avancement, les méthodes et les besoins futurs de la recherche sur cette culture en Afrique. La présente publication résume les discussions de la première réunion qui rassemblait la plupart des chercheurs travaillant sur la fixation biologique de l'azote du haricot en Afrique et comprend des plans de recherche collaborative soutenus par le réseau.

Les publications dans cette série comprennent actuellement

- No 1 Bean Fly Workshop, Arusha, Tanzania, 16-20 November 1986
- No 2 Bean research in Eastern Africa, Mukono, Uganda, 22-25 June 1986
- No 3 Soil Fertility Research for Bean Cropping Systems in Africa, Addis Ababa, Ethiopia, 5-9 September 1988
- No 4 Bean Varietal Improvement in Africa, Maseru, Lesotho, 30 January - 2 February 1989
- No 5 Troisième Séminaire Régional sur l'Amélioration du Haricot dans la Région des Grands Lacs, Kigali, Rwanda, 18-21 Novembre 1987
- No 6 First SADDCC Regional Bean Research Workshop, Mbabane, Swaziland, 4-7 October 1989
- No 7 Second Workshop on Bean Research in Eastern Africa, Nairobi, Kenya, 5-8 March 1990
- No 8 Atelier sur la Fixation Biologique d'Azote du Haricot en Afrique, Rubona, Rwanda, 27-29 Octobre 1988

Le soutien financier pour les Programmes Régionaux du Haricot et pour cette publication provient de l'Agence Canadienne pour le Développement International (ACDI), de la Coopération Suisse (DDA) et de la United States Agency for International Development (USAID).

Pour des informations supplémentaires veuillez contacter une des trois adresses suivantes:

Coordinateur Régional, CIAT, Programme Régional pour l'Amélioration du Haricot dans la Région des Grands Lacs, B P 259, Butare, Rwanda

Regional Co-ordinator, SADCC/CIAT Regional Programme on Beans in Southern Africa, P O Box 2704, Arusha, Tanzania

Regional Co-ordinator, CIAT Regional Programme on Beans in Eastern Africa, P O Box 67, Debre Zeit, Ethiopia

## P R E F A C E

This volume is the eighth in a publication series that documents the findings of researchers on bean (*Phaseolus vulgaris*) in Africa. These proceedings form part of the activities of the pan-African bean research network, which serves to stimulate, focus and co-ordinate research efforts on this crop.

The network is organized by the Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) through three interdependent regional projects, for the Great Lakes region of Central Africa, for Eastern Africa and, in conjunction with SADCC, for the Southern Africa region.

Publications in this series include the proceedings of workshops held to assess the status, methods and future needs and methodological issues of research in selected topics that constrain production or productivity of this crop in Africa. The present publication documents discussions of the first meeting involving most researchers working on biological nitrogen fixation of beans in Africa and includes plans for collaborative research supported by the network.

Publications in this series currently comprise

- No 1 Bean Fly Workshop, Arusha, Tanzania, 16-20 November 1986
- No 2 Bean research in Eastern Africa, Mukono, Uganda, 22-25 June 1986
- No 3 Soil Fertility Research for Bean Cropping Systems in Africa, Addis Ababa, Ethiopia, 5-9 September 1988
- No 4 Bean Varietal Improvement in Africa, Maseru, Lesotho, 30 January - 2 February 1989
- No 5 Troisième Séminaire Régional sur l'Amélioration du Haricot dans la Région des Grands Lacs, Kigali, Rwanda, 18-21 Novembre 1987
- No 6 First SADC Regional Bean Research Workshop, Mbabane, Swaziland, 4-7 October 1989
- No 7 Second Workshop on Bean Research in Eastern Africa, Nairobi, Kenya, 5-8 March 1990
- No 8 Workshop on Biological Nitrogen Fixation of Beans in Africa, Rubona, Rwanda, 27-29 October 1988

Financial support for the regional bean projects and for this publication comes from the Canadian International Development Agency (CIDA), the Swiss Development Co-operation (SDC) and the United States Agency for International Development (USAID).

Further information on regional research activities on beans in Africa is available from

Regional Co-ordinator, SADCC/CIAT Regional Programme on Beans in Southern Africa,  
P O Box 2704, Arusha, Tanzania

Regional Co-ordinator, CIAT Regional Programme on Beans in Eastern Africa, P O  
Box 67 Debre Zeit, Ethiopia

Coordonnateur Régional, CIAT, Programme Régional pour l'Amélioration du Haricot  
dans la Région des Grands Lacs, B P 259, Butare, Rwanda

## TABLE DES MATIERES / TABLE OF CONTENTS

	Page
<b>Version française</b>	
1 Introduction	1
2 Recherche sur la Fixation Biologique d'Azote en Afrique	2
3 Cadre méthodologique du CIAT pour la recherche sur la FBA	4
4 Visites du laboratoire de l'ISAR et des essais en milieu paysan	7
5 Projets d'essais ultérieurs	9
6 Sujets de discussion	11
<b>English version</b>	
1 Introduction	13
2 Research on Biological Nitrogen Fixation on beans in Africa	13
3 The methodological framework for BNF-research of CIAT	16
4 Visit to the ISAR laboratory and on-farm research sites	18
5 Plans for future trials	19
6 Discussion topics	22
Liste des participants / list of participants	24

## Version française

### 1 Introduction

Le haricot commun *Phaseolus vulgaris* L est la légumineuse à graine la plus importante du monde Il est cultivé surtout par des petits agriculteurs dans les pays en voie de développement, souvent dans des conditions de faible disponibilité d'azote dans le sol L'amélioration de la capacité de fixation biologique de l'azote (FBA) par symbiose avec la bactérie *Rhizobium phaseoli* est ainsi une option importante pour accroître la productivité de la culture du haricot en milieu réel Ceci est d'autant plus vrai en Afrique où les paysans auront difficilement accès aux engrais pour encore bien des années L'amélioration de FBA du haricot demande une approche multidisciplinaire sélection de nouvelles variétés pour augmenter la capacité de fixation de l'azote puisque le haricot est considéré comme une légumineuse avec une faible capacité de fixation, et sélection de souches de *R phaseoli* qui sont compétitives pour la nodulation contre les populations autochtones de ce bactérium présentes dans la plupart des sols Ceci rend l'amélioration de la FBA du haricot plus difficile que celle du soja en Afrique par exemple CIAT, avec son mandat mondial du CGIAR pour l'amélioration du haricot, a décidé d'accepter le défi que pose la fixation de l'azote par le haricot et d'attaquer le problème avec une approche de réseau de recherche basé sur les contributions d'un nombre important de chercheurs des instituts nationaux de recherche agricole

Cet atelier a regroupé des chercheurs intéressés dans la FBA du haricot de tout le continent de façon plutôt informelle L'objectif était d'établir les premiers contacts entre chercheurs, passer en revue les acquis de la recherche jusqu'à présent et définir les efforts collaboratifs dans le futur La réunion a été accueillie par l'ISAR (Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda) dans sa station principale de Rubona Le Directeur de l'ISAR, Monsieur Léopold Gahamanyi, a souhaité la bienvenue aux participants, tout en mettant dans son discours d'ouverture un accent particulier sur l'importance de la culture du haricot au Rwanda et la portée des facteurs édaphiques comme contraintes à la production de cette culture Il a été suivi par le Dr Pierre Nyabyenda, Chef du Département Production Végétale qui a ouvert les sessions de travail Lors de la réunion beaucoup d'accent a été mis sur le caractère informel de la réunion Ainsi il n'a pas été demandé aux participants de préparer des communications formelles Les notes suivantes ne sont qu'un bref résumé des travaux présentés, l'objectif de ce document étant de donner une idée générale de l'état d'une partie de la recherche sur la FBA du haricot en Afrique et de rassembler des réflexions clefs des chercheurs actifs dans cette recherche -

## 2 Recherche sur la Fixation Biologique de l'Azote par le haricot en Afrique

RWANDA, Présenté par A Hakizimana et J A Scaglia, ISAR/FAO<sup>1</sup>

L'unité de production d'inoculants installée à l'ISAR produit des inoculums de soja, *leucaena* et de pois, et ces légumineuses ont répondu de façon encourageante à l'inoculation aussi bien au niveau station expérimentale qu'au niveau paysan. Les résultats avec les haricots ont été beaucoup plus variables à cause d'une population importante de souches autochtones et des interactions sol/souche de rhizobium. En 1987, plusieurs essais ont été conduits pour évaluer la réponse de Rubona 5 (faible nodulatrice) et Tostado (bonne nodulatrice) à l'inoculation avec trois souches de rhizobium CIAT 899, 57 et 632. Dans un site de sol pauvre, Rubona 5 n'a pas répondu, tandis que le rendement de Tostado a augmenté de façon significative ( $P=0.05$ ) à l'inoculation avec CIAT 57 et la nodulation a été augmentée par l'inoculation avec CIAT 899. Sur un site de sol fertile, la nodulation était meilleure en générale et les rendements de Rubona 5 étaient plus importants que ceux de Tostado. Rubona 5 ne répondait pas à l'inoculation alors que la nodulation et le rendement de Tostado étaient significativement augmentés par l'inoculation. CIAT 57 était encore la meilleure des 3 souches. D'autres essais du genre sont encore conduits cette année. Il semble qu'il y a un effet saisonnier sur la nodulation avec des effets plus importants après la grande saison sèche. Ceci est probablement dû à la réduction de la population de souches autochtones pendant la période sèche.

Des micro-parcelles d'essais ont été mises en place sur 57 fermes dans trois communes autour de Rubona. Chaque fermier recevait 40 g du mélange d'inoculums (CIAT 899, CIAT 632 et RW113) pour ensemercer une petite parcelle au milieu d'un de ses champs. Il y a eu une augmentation significative de nodulation mais le rendement n'a pas augmenté significativement. Si, néanmoins, les sites avaient été stratifiés suivant le niveau de fertilité de sol, la réponse à l'inoculation aurait été significative dans la strate des sols les plus fertiles. Ces essais seront répétés.

RWANDA, Projet régional sur la FBA, Présenté par A Hakizimana, ISAR

Quatre essais sont actuellement conduits à Rubona

- 1) Évaluation du potentiel de nodulation de vingt variétés de haricots nains et 16 variétés de haricots volubiles en provenance du PRELAAC<sup>2</sup>
- 2) Des lignées provenant du programme des croisements pour la nodulation précoce du haricot du CIAT sont testées
- 3) La fixation de N par une gamme de génotypes a été quantifiée par méthode de dilution de  $N^{15}$
- 4) L'effet de l'inoculation sur Rubona 5 et Tostado est évalué en utilisant le  $N^{15}$

<sup>1</sup> Food and Agriculture Organization des Nations Unies

<sup>2</sup> Pépinière Régional des Lignées Avancées de l'Afrique Centrale pépinière du Programme Régionale Haricot pour la Région des Grands Lacs pour l'évaluation des caractères

A 20 jours, la meilleure nodulation des variétés naines était celle de PVA 1438, Tostado, RWR 221 et PVA 781, à 32 jours, ZAA 99 et PVA 15 étaient bonnes aussi. Parmi les haricots volubiles, 9042-61(B)G était la meilleure pour la nodulation précoce. D'autres variétés dont la nodulation est bonne sont AND 10, G 2333 et Urunyumba 3. Les avantages et désavantages des méthodes suivantes d'évaluation de la nodulation ont été présentés et discutés: Nombre total des nodules, volume des nodules, nombre de nodules rouges, poids sec des nodules, vigueur des plantes, réduction de l'acétylène, azote total du plant et quantification à l'aide du N<sup>15</sup>.

**BURUNDI**, Présenté par S. Ntihakose et A. Moudiongui, ISABU<sup>3</sup>/FAO

En 1985, la FAO a installé à l'ISABU, un laboratoire de microbiologie et de production d'inoculum, mais les travaux ont été retardés jusqu'au début de 1988. Une gamme de légumineuses fourragères et à graines seront étudiées en étroite collaboration avec le programme légumineuses de l'ISABU.

**ZIMBABWE**, Présenté par P. Davis, Soil Production Research

Au Zimbabwe, les travaux ont débuté en 1950 et actuellement la collection de rhizobium compte 530 souches. Plus de 100,000 sachets de 50 g sont préparés chaque année. La plupart d'inoculum sont pour le soja (souche USDA 110). Le substrat est du bagasilla stérile et le contenu minimum est de  $2 \times 10^6$  par sachet. Malheureusement, les souches de *Rhizobium phaseoli* meurent rapidement en utilisant ce substrat. C'est pourquoi une souche alcaline (1487) est actuellement testée en essais d'inoculation. Les expériences conduites en 1960 ont montré des réponses positives à l'inoculation du haricot, la souche 650A étant la souche avec les résultats les plus stables. Dans des essais récents la souche 1487 s'est révélée très prometteuse. Dans un essai de cette année-ci la production du haricot a doublé. Jusqu'à présent toute la sélection des souches a été faite dans des bocaux Leonard et la plupart des légumineuses qui ont une bonne nodulation spontanée ne répondent pas à l'inoculation (e.g. arachide, petit pois et noisettes de bambara). Plusieurs méthodes d'inoculation ont été testées. L'application comme bouillie dans le sillon est plus efficace que l'enrobage des semences. Plusieurs essais à long terme sont en cours sur le bilan de l'azote dans la rotation. Il a été montré que le pois bambara maintient un niveau plus haut de production de maïs que d'autres légumineuses y compris le haricot.

**TANZANIE**, Présenté par M. P. Salema, Sokoine University

La recherche systématique sur la fixation biologique d'azote a commencé en 1985-1986 quand une unité de production d'inoculum financée par la FAO a été installée. La nodulation spontanée avait été trouvée très variable, ainsi la sélection de quelques souches a été faite. Les inoculum sont préparés en utilisant un filtre humide stérile comme substrat. La souche CIAT 899 s'est avérée efficace et les augmentations de rendements de la variété "Canadian Wonder" et des haricots verts ont été de l'ordre de 40-70% si une fertilisation phosphatée est appliquée. Une évaluation détaillée d'une gamme des géotypes a été faite l'an dernier. Des différences en nombre de nodules, en masse, en ARA (Activité Réductrice

---

<sup>3</sup> Institut des Sciences Agronomiques du Burundi

d'Acétylène), en rendement en graines et en index de rendement ainsi que en rendement en N ont été observés entre les dix génotypes

En général, le nombre de nodules et l'ARA étaient le plus élevés à quatre semaines, mais la masse de nodules atteignit le niveau maximum à cinq semaines. Le meilleur génotype pour la nodulation n'était pas le meilleur pour le rendement en graines et pour le rendement en azote.

**MALAWI**, Présenté par S K Mughogho, Bunda College

Au Malawi, les travaux de fixation biologique d'azote ont débuté il y a bien des années, mais l'effort n'était pas soutenu. Des résultats prometteurs pour le haricot ont été rapportés en 1977-1978, l'inoculation avec la souche MQ 300 augmentait la nodulation, mais les rendements étaient bas à cause de la pression de plusieurs maladies. Des essais de comparaisons variétales ont été conduites par T Edje et la souche 1308 s'est montrée meilleure nodulatrice en comparaison avec Nasaka et Seperekendwe. Le haricot inoculé ou inoculé et fertilisé avec azote était plus vigoureux et plus vert que ceux dans le traitement témoin. La souche MG 3356 est actuellement testée en essai d'inoculation.

**UGANDA**, Présenté par M Silver, Makerere University

Les essais d'inoculation du haricot et des légumineuses fourragères ont été conduits sans trouver de réponses dans les années soixantes. Pendant les deux dernières années, USAID/MFAD a financé la recherche sur la FBA du haricot. Dans une expérience, un inoculum du MIRCEN-Nairobi était testé avec la variété K20. Il n'y avait pas de réponse à l'inoculation alors que les réponses à la fertilisation azotée étaient significatives. Les variétés K20, Kanyebura et White Haricot étaient évaluées dans un deuxième essai en utilisant un inoculum de la NIFTAL. Il y avait des différences entre les génotypes pour la nodulation mais aucun effet de l'inoculation sur le rendement a été observé.

**ETHIOPIE**, Présenté par M Haile, Alemaya University

A part la thèse d'Amare Abebe, il y a très peu de travaux faits sur la fixation biologique de l'azote par le haricot. Il n'y a pas d'infrastructure disponible pour la production d'inoculums. Dans le futur, l'université espère pouvoir soutenir les programmes de recherche du Ministère de l'Agriculture et de l'Élevage déjà en cours.

### 3 Cadre méthodologique du CIAT pour la recherche sur la FBA<sup>4</sup>

La déficience en azote limite la production du haricot sur des grandes superficies et dans différents systèmes de production. La recherche entreprise par le CIAT pour surmonter cette contrainte par l'augmentation de la fixation d'azote

---

<sup>4</sup> Présenté par J Kipe-Noit, responsable du programme FBA sur haricot du CIAT

atmosphérique, insiste sur l'amélioration du génotype de la plante et de la souche de rhizobium qui sont les composantes de la symbiose. Les effets des facteurs agronomiques et environnementaux sur l'efficacité de la symbiose sont évalués par essais en milieu paysan. Une stratégie générale d'amélioration de la fixation biologique de l'azote peut être subdivisée en quatre phases. Des exemples des types d'expérience effectuées dans chaque phase et des résultats de la recherche de base ont été présentés.

#### PHASE I<sub>R</sub> Isolation et caractérisation de souches de rhizobium

- \* Les rhizobiums qui font noduler les espèces de haricots sont très divers étant donné que le haricot est une légumineuse promiscue qui forme des nodules dans presque tous les sols. Ceci fait que l'amélioration de la composante souche de la symbiose est difficile. Ainsi il existe des souches de rhizobium pour *Leucaena* et des *Bradyrhizobium* qui forment des nodules sur le haricot mais qui sont souvent inefficaces. Il en sort qu'il est important que les souches choisies pour l'inoculation du *Leucaena* ne forment pas de nodules inefficaces sur le haricot.
- \* Les résultats d'une étude sur la diversité des populations de souches autochtones de *Rhizobium phaseoli* dans huit sols de la Colombie indiquaient que ni les antécédants cultureux ni le génotype du haricot expliquaient la variabilité. Les facteurs édaphiques et climatiques à leur tour sont responsables pour 24% de la diversité. L'importance pratique de ces résultats est que quand on fait le triage de souches contre les populations autochtones, il est mieux de tester dans plusieurs sols peu de souches que de tester beaucoup de génotypes dans un nombre réduit de types de sols.
- \* Un système simple de caractérisation de *Rhizobium phaseoli* a été développé pour permettre de déterminer la diversité et pour assurer la pureté et la conservation des souches testées. Les caractères morphologiques d'une colonie comprennent le taux de croissance, la production de gomme et d'acides, l'aspect et la texture. Certains paramètres physiologiques comme la tolérance aux pH bas et la croissance à des températures extrêmes peuvent aussi être mesurées.

#### PHASE I<sub>L</sub> Inefficacité de la symbiose avec les souches autochtones

- \* Quelle est l'efficacité de nodulation et de fixation d'azote de différents génotypes du haricot avec des souches autochtones de *R. phaseoli*? Les résultats d'un essai en Zambie ont été présentés où des différences entre les génotypes dans l'Essai National de Rendement de 1986 furent observées, avec BAT 85, Carioca et A 442 étant les meilleures nodulatrices.
- \* Est-ce que la déficience en N limite la production? Des essais avec un traitement sans azote minéral et un traitement avec un niveau élevé d'azote minéral sont utilisés pour voir si l'azote est une contrainte importante.

#### PHASE II Amélioration de la symbiose à travers l'inoculation et la sélection des plantes

- a) Les expériences pour déterminer si une sélection de souches est nécessaire ont trois traitements. Fertilisation avec azote, pas de fertilisation avec

azote du tout et inoculation avec une souche recommandée provenant d'un autre laboratoire. Si la souche s'avère efficace avec une variété locale du haricot, les essais de la phase III devraient être initiés.

b) La sélection des souches efficaces et compétitives de rhizobium

- \* Il est important qu'une vaste gamme des souches recommandées de plusieurs institutions aussi bien que des isolats locaux soient évalués.
- \* Puisque les souches doivent être capables de survivre et d'entrer en compétition avec des populations autochtones de rhizobiums, la sélection des souches ne peut pas être faite dans des systèmes type bocal Leonard stérile. Les souches doivent être évaluées dans des sols locaux en contrôlant l'azote minéral disponible.
- \* Le critère de sélection est la croissance du plant due à l'inoculation. Le poids sec du plant ou l'azote total est déterminé si possible.
- \* Quelques études de base sur la compétitivité de deux souches de *Rhizobium phaseoli* ont été faites en utilisant la technique sérologique "ELISA". Dans les essais sur le terrain, la nodulation due à l'inoculation est généralement en dessous de 20%.

c) Amélioration du potentiel de fixation de l'azote par la plante en présence d'une souche d'inoculum

- \* Combien d'azote le haricot fixe-t-il? Dans plusieurs études utilisant le  $N^{15}$ , la fixation par le haricot nain en culture pure était de l'ordre de 20-50 kg d'azote/ha. Des différences significatives entre génotypes furent observées et ceci à travers les saisons et sites.
- \* Dans les études utilisant le  $N^{15}$ , on a pu différencier les meilleurs génotypes fixateurs suivant des caractères de fixation. Quelques uns formaient beaucoup de nodules, quelques autres avaient une activité de nodulation élevée et spécifique et encore d'autres formaient des nodules particulièrement tôt.
- \* Une vaste gamme de germoplasme est actuellement testée pour identifier des génotypes excellents dans un ou plusieurs caractères et des croisements sont en cours afin de combiner ces composantes de la fixation biologique d'azote. La précocité de la nodulation, la masse maximum de nodules, le vieillissement tardif, la durée de vie totale des nodules, l'insensibilité à l'azote minéral, l'activité spécifique des nodules, l'efficacité de l'utilisation des carbohydrates et l'index de récolte d'azote sont évalués actuellement dans différents essais.

### PHASE III Contrôle des facteurs agronomiques et environnementaux

Des souches améliorées de rhizobium et/ou des génotypes de haricots identifiés sous conditions optimales en Phase II sont testés au champ dans la Phase III. Le degré de participation des agriculteurs dans ces essais peut varier. Donnons quelques exemples.

- \* Des essais en milieu paysan conduits par un agronome au Salvador en 1986-1987 ont montré des augmentations de rendements frappantes de variétés locales et améliorées du haricot inoculées avec des souches sélectionnées
- \* Au Costa Rica, la vigueur du plant s'améliore en générale par l'inoculation, mais l'augmentation du rendement n'a pas toujours été significative au seuil de 5%. Dans quelques traitements avec fertilisation azotée, les rendements ont été faibles par rapport aux parcelles inoculées, ceci étant dû à l'augmentation de la compétition des mauvaises herbes
- \* Dans le Sud de la Colombie, un certain nombre d'essais d'inoculation ont été conduits dans des systèmes d'association maïs/haricot. Fréquemment, la réponse à l'inoculation du haricot est plus importante en association avec le maïs, probablement à cause de la diminution de la compétition pour l'azote du sol quand la symbiose du haricot est améliorée

#### Phase IV Production d'inoculum/Méthodes d'inoculation

- \* Au CIAT on applique des granulées de tourbe avec l'inoculum directement au sol car cette méthode évite les problèmes de compatibilité avec les pesticides et les produits utilisés pour l'enrobage des semences. Il est également possible d'appliquer de grandes quantités et l'utilisation est facile pour un petit fermier qui ne dispose pas de machines
- \* Une recherche est en cours au CIAT sur les inoculums lyophilisés pour l'utilisation dans des pays où l'infrastructure de production de vaccins est disponible. On espère que ce type d'inoculum aura une durée de vie plus longue que les inoculums conventionnels attachés à la tourbe

#### 4 Visites du laboratoire de l'ISAR et des essais en milieu paysan

L'unité de production d'inoculum à Rubona produit une grande quantité d'inoculum dont 90% sont utilisés pour le soja. De la tourbe de bonne qualité est fournie par le Ministère de l'Énergie. On mélange la tourbe avec la chaux à 3% et la conditionne dans des sachets en polyéthylène très dense (fabriqué au Rwanda) de 40 g chacun. La tourbe est mise en autoclave deux fois pendant 40 minutes chaque fois. Un fermenteur de 30 litres est utilisé pour la culture des bactéries. Le sachet est vendu à 20 FRw<sup>5</sup> ce qui couvre les frais de production.

Nous avons visité les cinq essais installés à Rubona qui constituent une partie du projet régional de FBA. Malheureusement il y avait une faible germination et des attaques de la bactériose à halo *Pseudomonas syringii* dans les expériences avec le N<sup>15</sup> qui compliqueront l'interprétation des résultats. Le volume des nodules (en utilisant des cylindres gradués de 5ml) est utilisé pour quantifier

<sup>5</sup> 1 US\$ = 80 FRw (Rwandan francs)

la nodulation des entrées du PRELAAC<sup>6</sup>. Des évaluations sont faites sur le terrain et la méthode offre beaucoup d'avantages par rapport à la mesure du poids des nodules. Par contre elle prend beaucoup de temps surtout parce qu'il faut enlever tous les nodules. Nous avons évalué une répétition d'un essai de haricots nain et des différences de nodulation entre génotypes furent observées. Nous avons passé un grand temps à discuter l'architecture racinaire car des génotypes représentant les deux groupes principaux se retrouvent dans les essais de l'ISAR: 1) Pivot fort, 2) Pivot non-défini et 4-5 racines latérales fortes.

Les participants de la Tanzanie et du Malawi considéraient que le premier type est typique pour les variétés locales dans leur pays respective, alors que ceux du Rwanda et du CIAT Colombie sentaient que le second type était beaucoup plus commun. Il est possible que la sélection pratiquée au CIAT sur sol peu profond (taux d'Al élevé, pH bas au dessous de 30 cm) et la fréquence des maladies racinaires dans les sites de sélection aient contribué à une sélection indirecte pour le deuxième type au CIAT.

Un essai diagnostique sur les facteurs du sol limitant la production est en cours: en pots en serre. Dans le dispositif substractif l'éleusine et le haricot sont utilisés comme plantes de référence. Deux types de sols, l'un du système rotation sorgho-haricot et l'autre du système haricot sous bananneraie étaient comparés. Bien que les plantes étaient encore jeunes l'effet de l'azote était très frappant. L'essai a donné lieu à des discussions sur des serres appropriées (pas trop chaud ou trop sombre) mais aucune recommandation précise n'a été faite.

Nous avons visité plusieurs micro-parcelles dans des champs de paysans en commune Rusatira<sup>7</sup>. Quelques fermiers testaient pour la seconde fois l'inoculum parce qu'ils avaient observé des effets positifs la saison précédente. La variabilité entre et à l'intérieur des champs était grande et aucun effet visible n'a été observé. Toutefois un fermier disait qu'on ne devait pas s'attendre à des réponses si la sécheresse se prolongeait.

Plusieurs expériences avec le haricot ont été installées à l'école agricole et vétérinaire de Kabutare. Dans un des essais, les variétés Tostado (connue comme bonne nodulatrice) et Rubona 5 (connue comme mauvaise nodulatrice) étaient semées pour voir leur réponse à la fertilisation avec 80 kg d'azote par ha, à l'inoculation avec CIAT 899, 632, RW 113 et un mélange des souches de rhizobium. Tostado avait plus de nodules que Rubona 5 et la nodulation était augmentée par l'inoculation. Les plantes des parcelles fertilisées avec azote étaient cependant plus vigoureuses que celles des parcelles témoins. Quelques réponses moins évidentes à l'inoculation furent observées également. Les symptômes de déficience du magnésium étaient notés, particulièrement sur Tostado. Dans un essai de fertilisation avec du phosphore sur les deux génotypes et 6 traitements (inoculation + 0, 25, 50 et 75 kg de TSP, pas d'inoculation plus 50 P, pas d'inoculation pas de P), on n'a pas observé de différences sensibles au niveau de la vigueur des plantes.

---

<sup>6</sup> La Pépinière Régionale de Lignées Avancées de l'Afrique Centrale (PRELAAC) est la pépinière utilisée dans le Programme Régional Haricot des Grands Lacs pour l'évaluation des caractères.

<sup>7</sup> Rusatira est localisé près de Rubona au centre-sud du Rwanda en Préfecture de Butare.

## 5 Projets d'essais ultérieurs

Les différents essais proposés pour la recherche sur la fixation biologique de l'azote dans l'avenir peuvent être classés suivant le cadre méthodologique proposé par le CIAT

- PHASE I<sub>L</sub> - Avec ou sans fertilisation azotée avec un grand nombre de géotypes  
- Enquêtes sur la nodulation spontanée
- PHASE I<sub>R</sub> - Isolation de souches locales  
- Préparation d'inoculum pour les essais
- PHASE II a) Tester une souche recommandée ailleurs dans des essais incluant les traitements suivants Avec fertilisation azotée, sans fertilisation azotée, inoculation avec la souche à tester en utilisant une variété locale et un sol représentatif
- b) Triage des souches avec les traitements comme sous IIa, utilisant un grand nombre de souches et une variété connue comme bonne fixatrice
- c) Evaluations de géotypes avec inoculation pour la nodulation et le rendement dans des sols pauvres en azote (dilution du N<sup>15</sup>)
- PHASE III - Test d'inoculation en milieu paysan (3 traitements optimal)  
- Test d'une variété meilleure fixatrice en milieu paysan  
- Effets d'autres éléments nutritifs sur l'expression de l'amélioration de la symbiose  
- Effet des méthodes d'inoculation sur la réponse
- PHASE IV - Production et commercialisation d'inoculum

### RWANDA

- IIb C'est le Burundi qui va mettre l'accent sur le triage des souches pour la région des Grands Lacs Ainsi un seul essai de triage de souche est proposé Vingt souches (10 du Projet d'Anne Martis (FAO) et 10 du CIAT) seront testées en une seule rangée, 3 m pour chaque parcelle avec deux allées entre chaque parcelle Le géotype PVA 1438 sera utilisé et 20 plantes récoltés pour le poids sec à la dernière phase de la floraison Quatre ou cinq répétitions seront installées, du phosphore et du magnésium seront appliqués On espère que des souches performantes pour des essais d'inoculation en milieu rural peuvent être identifiées
- IIc Un accent important sera mis sur l'évaluation de la capacité de nodulation des géotypes du PRELAAC comme service à la région entière L'inoculation avec un mélange des trois meilleures souches sera faite et le volume des nodules sera déterminé en prenant des échantillons 5 fois comme c'est fait actuellement
- III Des étudiants pourront mener des essais en serres pour étudier les facteurs du sol qui ont un effet sur la symbiose

## BURUNDI

- I<sub>R</sub> Une collection de *Rhizobium phaseoli* sera établie. Des souches locales seront isolées, des souches du CIAT, du Rwanda, du Zimbabwe, du Malawi et de la Tanzanie sont sollicitées.
- IIa Un essai d'inoculation utilisant CIAT 899 est en cours.
- IIb Des essais de sélection de souches seront conduits dans chaque région productrice de haricot en utilisant le génotype recommandé pour la région.

## ZIMBABWE

Le haricot est une culture avec peu d'importance au Zimbabwe et le laboratoire de recherche sur la productivité des sols (rhizobiologie, usine de production d'inoculums) est quelque peu isolé du programme de sélection des légumineuses. Néanmoins, un effort sera fourni pour coordonner les activités. Des essais possibles sont :

- IIb Essai de triage de souches de la terre (tous les essais de triage antérieurs ont été faits dans des bocal Leonard)
- IIc Le sélectionneur du haricot (Olivia Venge) devrait être capable d'évaluer l'AFBYAN<sup>a</sup> pour les caractères de nodulation.
- III Une comparaison des différentes méthodes d'inoculation sera faite.

## TANZANIE

- IIb Le personnel de l'Unité de production d'inoculum fera le triage de souches.
- III Les effets des autres éléments nutritifs sur la symbiose seront étudiés dans un essai substratif en pots en utilisant le plan d'Anderson avec et sans inoculation. Dix variétés seront évaluées en 2 répétitions.

## MALAWI

- IIb Le triage des souches est sous la responsabilité de Mr Konge, la souche recommandée est actuellement MQ 3556 mais des souches de la Tanzanie, de la Zambie et du CIAT sont sollicitées.
- IIc H Mloza Banda évalue actuellement du germoplasme des programmes tolérance à la sécheresse et du programme de pathologie du CRSP pour la capacité de nodulation en serre. Les meilleurs matériaux seront davantage évalués sur le terrain la saison prochaine.
- III Des essais de fertilisation seront conduits avec ou sans inoculation à travers toutes les zones de culture du haricot. Un accent particulier sera

<sup>a</sup> African Bean Yield Nursery la pépinière pour l'évaluation des rendements composée des entrées fournies par les pays membres des programmes régionaux du haricot en Afrique

mis sur les sources de roches phosphates. Une étude du bilan d'azote à long terme sera conduite à Bunda dans une rotation maïs/légumineuses. Les légumineuses proposées sont le haricot, la noix de bambara et l'arachide.

## UGANDA

- I<sub>L</sub> Des enquêtes sur la nodulation seront conduites dans des essais et dans des champs des paysans dans les zones du Kabale et Kampala ou d'autres recherches sur le haricot seront effectuées. Si des essais supplémentaires de fertilisation azotée seront jugés nécessaires, ils seront faits en liaison avec d'autres essais sur haricot.
- IIb Plusieurs essais de triage de souches en champs seront conduits à Kabayolo, Kawanda ou Namlorye dans des sols où l'antécédent culturel est le maïs. Dix-huit souches du CIAT seront comparées en utilisant l'inoculation des semences. Les essais seront installés en août en utilisant un génotype connu comme bon nodulateur identifié dans les essais type IIc décrits ci-dessous.
- IIc Cinq à dix génotypes de haricot prometteurs (obtenus du programme Légumineuses) seront évalués pour leur potentiel de nodulation. Nombre, masse et volume de nodules seront déterminés à 2, 4, 6 et 8 semaines après le semis. Un mélange de souches d'inoculum sera utilisé. Le rendement sera aussi déterminé.

## ETHIOPIE

- I<sub>L</sub> Des enquêtes sur la nodulation seront faites sur 20-30 fermes dans trois régions. Des évaluations seront faites à la phase de préfloraison et les informations sur la variété et les pratiques de fertilisation recueillies. Si possible, on évaluera la nodulation dans un des essais de sélection variétale (30-40 génotypes) utilisant des souches autochtones.
- IIb Un essai de triage de souche sera conduit en serre en janvier/février 1989 en utilisant des pots de 4 kg de sol provenant d'un terrain où la déficience en azote a été constatée. Un inoculum à base de tourbe sera appliqué en raison de 0,5 g/pot. Dix-huit souches plus deux témoins seront comparés dans un dispositif de blocs randomisés avec 5 répétitions. Le génotype du plant n'a pas encore été défini. Le poids à la floraison sera aussi déterminé.

## 6 Sujets de discussion

Ci-dessous nous présentons quelques-uns des sujets que nous avons discuté pendant les jours que nous avons passé ensemble. Dans beaucoup de cas il n'était pas possible de trouver des solutions ou faire des recommandations précises. Ainsi les points suivants ne veulent que guider des discussions et réflexions ultérieures.

Sur le sujet des études de compétitivité. Est-ce que nous pouvons être satisfaits de voir la réponse du plant à une inoculation suffisante ou avons-nous besoin de

quantifier l'infection et la survivance des souches d'inoculum afin de mieux connaître nos souches?

Souvent les résultats des essais ne sont pas concluants à cause des inoculums de mauvaise qualité. Nous devons absolument nous assurer que nos inoculums sont de bonne qualité!

Comment est-ce que le critère fixation biologique d'azote peut-il être intégré dans les programmes de sélection? Qui devrait évaluer les pépinières comme PRELAAC et AFBYAN pour la FBA? La coordination avec les sélectionneurs est de rigueur, ainsi il sera possible d'utiliser les mêmes essais pour plusieurs fins

Pouvons-nous identifier une souche commune pouvant être utilisée dans toutes les régions? Est-ce que la CIAT 899 serait-elle une possibilité?

Ne pourrait-on pas définir des variétés témoins à utiliser à travers les régions? Est-ce qu'il existe des bonnes nodulatrices avec une plasticité appropriée?

Une approche "systèmes de culture" est nécessaire. Il ne faut pas oublier de tenir compte des effets sur des cultures associées et subséquentes comme résultat de la symbiose haricot/rhizobium. Une dépression des rendements du maïs par une vigueur beaucoup plus importante du haricot ou la stimulation du maïs à cause de l'azote apportée au système ne sont que deux effets possibles qui sont à considérer.

Il existe un grand besoin de géotypes non-nodulateurs (bien adaptés), surtout pour les expériences avec  $N^{15}$  qui coûtent excessivement cher.

Est-ce que la distribution des nodules sur le système racinaire des haricots est importante? Y-a-t-il des différences d'efficacité suivant la localisation des nodules ou bien est-ce que c'est simplement une question du moment d'évaluation, c'est à dire initialement tous les nodules se trouvent concentrés autour du pivot, plus tard les nodules actifs sont sur les racines latérales?

En ce qui concerne les interactions géotype du plant x souche x sol. Quel est l'équilibre le plus efficace entre les études de sélection du haricot et ceux de *R phaseoli*?

Comment peut-on subdiviser le travail d'une meilleure façon entre les différents programmes? Exemple. Une équipe se concentre sur le germoplasme du haricot, une autre sur la sélection des souches de *R phaseoli*.

Y-a-t-il des avantages significatifs de l'isolation des souches locales et leur testage en comparaison avec le test des souches sélectionnées et évalués ailleurs? Probablement pas, mais l'adaptation aux pH et températures extrêmes sont vraisemblablement importantes.

Comment peut-on résoudre le problème de faibles réponses à l'inoculation en sols très pauvres alors que c'est là où la FBA est la plus nécessaire? Peut-on résoudre ce problème avec une dose d'azote minéral dite "starter" ou une combinaison des haricots nodulants tôt (Carolina) et des souches précoces (CIAT 899)?

Concernant la discussion sur la promiscuité face à la spécificité. Devrons-nous essayer l'approche contraire de celui des chercheurs du soja et chercher des géotypes du haricot plus spécifiques?

## English Version

### 1 Introduction

Common bean *Phaseolus vulgaris* L. is the most important grain legume worldwide, grown mainly by small farmers in the Third World, and often under conditions of low availability of nitrogen in the soil. The enhancement of the capacity of beans for biological nitrogen fixation (BNF) through symbiosis with the bacterium *Rhizobium phaseoli* is therefore an important option to improve the productivity of the crop under farmers' conditions. This is especially true in Africa, where farmers will have limited access to fertilizers for many more years to come. Improvement of bean BNF requires a multidisciplinary approach: plant breeding to increase the hosts capacity to fix nitrogen as bean is considered to be a poor fixing legume, and selection of effective *R. phaseoli* strains that can compete for nodulation against the native populations of these bacteria present in most soils. This makes it much more difficult to improve BNF of beans than of soybeans in Africa for example. CIAT, as the CGIAR research center with the worldwide mandate for beans, has decided to face the challenge using a network approach involving many scientists from national research programs in a common effort to improve BNF of the common bean. This workshop brought together in an informal meeting, researchers involved in BNF research throughout Africa. The aim was to establish contacts among scientists, review some of the work already done and outline future collaborative efforts. The meeting was hosted by ISAR (Institut des Sciences Agronomiques du Rwanda) at its main station Rubona. The Director of the Institut, Mr Leopold Gahamanyi welcomed the participants to Rwanda. In his opening speech he emphasized the importance of beans in Rwanda and the significance of soil constraints for bean production. He was followed by the head of the food crop department of ISAR, Dr Pierre Nyabyenda, who initiated the working sessions. Much emphasis was placed on keeping the meeting as informal as possible. Therefore the participants were not requested to prepare formal presentations. The following notes are no more than a short report of the work presented. The objective of this document is to give an overview of some of the BNF research on beans in Africa and to communicate some key ideas of researchers involved in this research.

### 2 Research on Biological Nitrogen Fixation on beans in Africa

**RWANDA**, Presented by A. Hakizimana and J. A. Scaglia, ISAR/FAO<sup>9</sup>

The inoculant production unit installed at ISAR is producing inoculants for soybeans, *Leucaena* and peas, and there have been dramatic responses of these legumes to inoculation. Results with beans have been much more variable due to an infective native soil rhizobium population and soil/variety interactions. Several trials were conducted in 1987 to evaluate responses of Rubona 5 (a poor nodulator) and Tostado (a good nodulator) to inoculation with three rhizobium strains, CIAT 899, 57 and 632. In a site with poor soil Rubona 5 did not respond

---

<sup>9</sup> Food and Agriculture Organization of the United Nations Organization

but yield of Tostado was increased significantly ( $P=0.05$ ) by inoculation with CIAT 57 and nodulation was increased by CIAT 899. In a site with "good" soil, nodulation overall was much better and yields of Rubona 5 were better than those of Tostado. Rubona 5 did not respond to inoculation whereas nodulation and yield of Tostado were significantly increased by inoculation. CIAT 57 was again the best of the 3 strains. More trials of this type are being conducted this year. There appears to be a seasonal effect with greater responses after the long dry season, possibly due to a reduction in the native population during this time.

Microplot trials were conducted last season on 57 farms in three communities close to Rubona. Each farmer was given a 40 g packet of mixed strain (899, 632 and RW 113) inoculant and asked to inoculate a small plot in the middle of one of her fields. There was a significant increase in nodulation due to inoculation but yield increases were not significant ( $P=0.05$ ). If however, the farms were divided into high and low fertility (650 kg/ha cut off) the response to inoculation was significant in the more fertile soils. These trials are being repeated this season.

#### **RWANDA, REGIONAL BNF PROJECT, Presented by A. Hakizimana, ISAR**

Four trials are being conducted presently at Rubona.

- 1) Twenty bush and sixteen climbing bean varieties from the PRELAAC<sup>10</sup> are being evaluated for nodulation potential,
- 2) Materials from CIAT's early nodulation back-crossing program are being compared,
- 3) Nitrogen fixation by a range of genotypes is being quantified using  $N^{15}$  isotope dilution,
- 4) The effect of inoculation of Tostado and Rubona 5 is being quantified using  $N^{15}$ .

The best bush varieties for nodulation at 20 days were PVA 1438, Tostado, RWR 221 and PVA 781, at 32 days ZAA 99 and PVA 15 were also good. Among the climbing varieties 9042-61 (B) G was the best for early nodulation, AND 10, G 2333 and Urunyumba 3 were other good nodulators. Advantages and disadvantages of the following evaluation methods were presented and discussed: total nodule number, red nodule number, nodule dry weight, nodule volume, plant vigor, acetylene reduction, total plant N and  $N^{15}$  quantification.

#### **BURUNDI, Presented by S. Ntihakose, A. Moudiongui ISABU<sup>11</sup>/FAO**

FAO installed a microbiology/inoculant production lab at ISABU in 1985 but work has been delayed until the beginning of this year. A range of grain and forage legumes will be studied in close collaboration with the legume program of ISABU.

---

<sup>10</sup> Pépinière Régionale des Légumes Avancées de l'Afrique Centrale

<sup>11</sup> Institut des Sciences Agronomiques du Burundi

**ZIMBABWE**, Presented by P Davis, Soil Productivity Research Laboratory

Work in Zimbabwe was initiated in the 1950s and presently the rhizobium collection has 530 strains over 100,000 fifty gram packets of inoculant are prepared each year. Most of the inoculants are for soybean (USDA 110). The carrier used is sterile bagasilla and minimum counts are  $2 \times 10^8$ /pk. Unfortunately *R phaseoli* strains die rapidly in this carrier so an alkaline strain (N<sup>o</sup> 1487) is presently being tested in inoculation trials. Experiments conducted in the 1960s showed positive responses of beans to inoculation, with strain 650A being the most consistent. Recent results with strain 1487 have also been very promising, in one trial this year yields of beans were doubled. To date all strain selection has been done in Leonard jars and most of the promiscuous legumes (groundnuts, cowpeas and bambara nuts) do not respond. Several inoculation methods have been tested and application of a slurry in the furrow is more effective than seed pelleting. Several long term N balance/rotation trials are being conducted. Bambara nut has been shown to maintain higher maize yields than several other legumes including beans.

**TANZANIA**, Presented by M P Salema, Sokoine University

Systematic research on bean BNF was initiated in 1985/86, when a FAO funded inoculant production unit was installed. Spontaneous nodulation was found to be extremely variable. Some strain-selection work was done and inoculants are prepared using sterile filter mud as the carrier. CIAT 899 has proved to be an effective strain, and yield responses of Canadian Wonder and snap beans have been in the range of 40-70% if P fertilizer is applied. A detailed genotype evaluation trial was conducted last year. Differences between the 10 genotypes in nodule number, mass, acetylene reduction activity, yield and nitrogen harvest index were observed.

In general, nodule number and acetylene reduction were highest at the 4 week harvest, but nodule mass reached maximum levels at 5 weeks. The best nodulating genotype was not the best for grain yield and nitrogen harvest index.

**MALAWI**, Presented by S Mughogho, Bunda College

BNF work in Malawi was initiated many years ago but there has been no sustained effort. Promising results for beans were reported in 1977-78, inoculation with strain MG 300 increased nodulation, but yields were low due to severe disease pressure. Varietal comparisons were conducted by T Edje, and 1308 was shown to be a better nodulator than Nasaka and Seperekendwe. Beans in the inoculated and inoculated plus N treatments were more vigorous and green than those in the minus N treatment. Strain MG3356 is presently being tested in inoculation trials.

**UGANDA**, Presented by M Silver, Makerere University

Inoculation trials with beans and pasture legumes were conducted in the 60's, but no responses were observed. During the past two years USAID/MFAD has sponsored trials with beans. In one experiment an inoculant from MIRCEN, Nairobi was tested with the bean variety K20. There was no response to inoculation, but response to N fertilization was significant. The varieties K20, Kanyebara and White Haricot were evaluated in a second trial using a NIFTAL inoculant. There were differences

between genotypes in nodulation, but no yield responses to inoculation were observed

#### ETHIOPIA, Presented by M Haile, Alemaya University

There has been very little work done on bean BNF in Ethiopia other than the thesis study of Amare Abebe. No facilities are available for inoculant production. The University hopes to support the Ministry of Agriculture research programs in the future.

### 3 The Methodological Framework for BNF-Research of CIAT<sup>12</sup>

Nitrogen deficiency limits production in many bean growing areas and different cropping systems. Research in CIAT directed toward overcoming this constraint, by increasing nitrogen fixation, emphasizes improving both the plant genotype and rhizobium strain components of the symbiosis. The effects of agronomic management and environmental factors on expression of an improved symbiosis are evaluated in on-farm trials. A general strategy to improve BNF can be divided into four stages. Examples of the types of experiments carried out in each stage as well as some more basic research results were presented.

#### STAGE I<sub>R</sub> Rhizobium strain isolation, characterization

- \* Rhizobia that nodulate beans are very diverse, that is, bean is a promiscuous legume and will form nodules when grown in almost any soil. This makes improvement of the strain component of the symbiosis much more difficult. *Leucaena* strains and even some *Bradyrhizobium* strains form nodules on beans, often these nodules are ineffective. It is obviously important that strains chosen for inoculation of *Leucaena* do not form ineffective nodules on beans.
- \* Results from a population diversity study on native *R. phaseoli* in eight Colombian soils indicated that neither cropping history (whether beans had previously been cultivated in the soil) nor the bean genotype were important determinants of diversity. Soil and climatic factors accounted for 24 % of the diversity. The practical importance of these results is that, when screening strains against a native soil population, it is better to test several soils and only a few, or one, genotype, than to test many genotypes in only a few soils.
- \* A simple characterization system for *R. phaseoli* has been developed to permit identification of diversity and to ensure purity and maintenance of tested strains. Colony morphology characters include growth rate, gum and acid production, appearance and texture. Some physiological parameters such as low pH tolerance and growth at extremes of temperature can also be measured.

---

<sup>12</sup> Presented by J. Kipe-Nelt, responsible for BNF research on beans at CIAT

## STAGE I<sub>L</sub> Effectiveness of the symbiosis with native strains

- \* How well do different bean lines nodulate and fix nitrogen with the native strains? Results from a trial in Zambia were presented. Differences between genotypes in the 1986 National Yield Trial were observed, with BAT 85, Carioca, and A 442 being the best nodulators
- \* Does nitrogen deficiency limit production? High and zero mineral N treatments are used to determine if nitrogen is an important constraint

## STAGE II Improvement of the symbiosis through inoculation and plant breeding

- a) Experiments to determine if strain selection is needed have three treatments plus N-fertilizer, no N-fertilizer, inoculated with a recommended strain from some other laboratory. If the strain proves to be effective with the local bean variety, stage III trials should be initiated
- b) Strain selection for effective and competitive rhizobia
  - \* It is important that a lot of germplasm be evaluated, recommended strains from several institutions as well as local isolates
  - \* Because of the need for strains to be able to survive and compete against native rhizobium populations, strain selection cannot be done effectively in sterile Leonard jar type systems. Strains must be evaluated in local soils, taking care to control mineral N availability
  - \* The selection criterion is the plant growth response due to inoculation. Plant dry weight, or total N if possible, is determined
  - \* Some basic studies on competitiveness of two *R. phaseoli* strains have been done using the serological technique ELISA. In field studies nodule occupancy of inoculant strains is generally less than 20 %
- c) Improvement of plant potential to fix nitrogen in the presence of inoculant strains
  - \* How much N do beans fix? In several N<sup>15</sup> isotope dilution studies fixation by mono-cropped bush beans was in the range of 20-50 kg N/ha. Differences between genotypes were significant and consistent across seasons and locations
  - \* In the N<sup>15</sup> studies it was noted that the best fixing genotypes varied with respect to fixation associated characters, some formed many nodules, some initiated nodulation very early and others had high specific nodule activity
  - \* A large amount of germplasm is presently being tested to identify genotypes excellent in one or more character, and crosses are being made to try and combine these BNF components. Early nodulation, maximum nodule mass, late nodule senescence, total nodule duration, insensitivity to mineral nitrogen, specific nodule activity, efficiency of carbohydrate use and nitrogen harvest index are being evaluated

### STAGE III Agronomic management/environmental factors

Improved rhizobium strains and/or bean genotypes identified under "optimum" conditions in Stage II are tested on-farm in Stage III. These trials may be with varying degrees of farmer participation. Some examples:

- \* Agronomist-managed on-farm trials in El Salvador in 1986 and 1987 showed striking yield responses of local and improved bean varieties to selected inoculant strains.
- \* In Costa Rica responses in plant vigor to inoculation are generally observed, but grain yield increases have not always been significant at the 5% level. In some trials yields of N-fertilized checks have been lower than inoculated plots as a result of increased weed competition.
- \* In southern Colombia a number of inoculation trials have been conducted in maize/bean intercropped systems. Frequently the response to inoculation is more notable in the associated maize than in the bean crop, presumably due to a decrease in competition for soil N when the bean symbiosis is improved.

### STAGE IV Inoculant production/inoculation methods

- \* At CIAT granular peat inoculants are applied directly to the soil as this method avoids problems of compatibility with pesticide seed treatments, larger amounts can be applied, and it is easy for a small (non mechanized) farmer to use.
- \* Some research is being done in CIAT on freeze-dried inoculants for use in countries where the infrastructure for vaccine production is already available. It is hoped that this type of inoculant will have a longer shelf life than conventional peat inoculants.

## 4 Visit to the ISAR laboratory and on-farm research sites

The inoculant production unit at Rubona produces a large amount of inoculant, 90% of which is for soybean. A good local peat is provided by the Ministry of Energy, it is ground, mixed with 3% lime and packed in high density polyethylene bags (made in Rwanda), 40g each. The peat is autoclaved twice, 40 minutes each time. A 30 liter fermentor is used for culturing the bacteria. The packets are sold for Frw 20 which covers production costs.

Five trials planted at Rubona station as part of the regional BNF project were visited. Unfortunately there was poor germination and severe halo blight in the N<sup>15</sup> experiments which will complicate interpretation of the results. Nodule volume (using cut 5ml pipets) is being used to quantify nodulation of the PRELAAC genotypes. Evaluations are done in the field and the method offers many advantages over nodule dry weight measures. It is however time consuming as all nodules have to be removed. We evaluated one repetition of the bush variety trial, and differences in nodulation between genotypes were observed.

A considerable amount of time was spent discussing root architecture as genotypes of both general groups 1 strong tap root, 2 no defined tap root but 4-5 strong laterals were observed. Participants from Tanzania and Malawi considered the first type to be "typical" of beans in their areas while Rwanda and CIAT-Colombia felt the second type was much more common. Possible indirect selection resulting from moisture stress, shallow soil (high Al, low pH below about 30 cm), and root rot diseases maybe the reason for these differences among bean types grown in the various countries.

A minus one fertilizer trial was being conducted in the screen house using finger millet and beans as indicator plants. Two soils, one from a bean/banana system and the other from a bean/sorghum system, were being compared. Although the plants were still young the effect of N was very striking.

Appropriate designs for greenhouses (that are not either too hot or too dark) were discussed, but nobody could confidently make a recommendation.

Several of the microplot on-farm demonstration trials in Rusatira<sup>13</sup> were visited. Some of the farmers were testing inoculant a second time because they had observed responses the previous season. Variability within the fields was great and no obvious responses could be seen, however one farmer said that no response would be expected if the drought continued.

Several bean experiments were planted at the Ecole Agricole et Vétérinaire de Kabutare. In one trial the varieties Tostado (known to be a good nodulator) and Rubona 5 (known to be a bad nodulator) were being evaluated for responses to N fertilizer (80 kg/ha) and inoculation with CIAT 899, 632, RW 113 and a mixture. Tostado had more nodules than Rubona 5 and nodulation was increased by inoculation. The N fertilized plots were obviously more vigorous than the controls and some (but less striking) responses to inoculation were observed. Mg deficiency symptoms were noted, particularly in Tostado. In a P fertilizer trial with the same two genotypes and 6 treatments (inoculated + 0, 25, 50 and 75 kg TSP, no inoculation, + 50 P, no inoculation and no P) no differences in vigor were obvious.

## 5 Plans for future trials

The different trials proposed for future BNF research in beans can be classified into the CIAT methodological framework.

STAGE I<sub>L</sub> - With (+N) and without (-N) N-fertilizer with a range of genotypes  
- Nodulation surveys

STAGE I<sub>R</sub> - Local strain isolation  
- Preparation of inoculants for trials

STAGE II a) Test recommended strain from elsewhere  
+N, -N and inoculated treatments. Use an important local bean variety and representative soil  
b) Strain screening, +N, -N, many strains, in representative soil

---

<sup>13</sup>Rusatira is located close to Rubona in the Butare district of South-Central Rwanda

- c) Genotype evaluations with inoculation for nodulation + yield in low N soils ( $N^{15}$  dilution)

STAGE III- On-farm testing of inoculation (3 treatments optimal)

- On-farm testing of better fixing variety
- Other nutrient effects on expression of improved symbiosis
- Effect of inoculation method on response

STAGE IV - Inoculant production, commercialization

#### RWANDA

- IIb As Burundi is going to emphasize strain screening for the region, only one field strain screening trial is proposed. 20 strains (10 from the Anne Martis project, 10 from CIAT) will be tested in single row, 3m plots with two rows of border between each plot. The genotype PVA 1438 will probably be used and 20 plants harvested for total dry weight at the late flowering stage. 4 or 5 repetitions will be planted and P and Mg will be applied. It is hoped that better strains for on-farm inoculation trials can be identified.
- IIc Major emphasis will be placed on evaluating the nodulation capacity of PRELAAC genotypes as a service to the entire region. Inoculation with mixture of the 3 best strains will be used and nodule volume will be determined at 5 sampling times, as is being done presently.
- III Students will be carrying out greenhouse trials to study soil factors affecting the symbiosis.

#### BURUNDI

- I<sub>R</sub> A *R phaseoli* collection will be established. Local strains will be isolated, strains from CIAT, Rwanda, Zimbabwe, Malawi and Tanzania are requested.
- IIa An inoculation trial using CIAT 899 is in progress.
- IIb Strain selection trials will be conducted in each important bean production region, using the recommended genotype for that region.

#### ZIMBABWE

Beans are a low priority crop in Zimbabwe and the Soil Productivity Research Lab (rhizobiology and inoculant production facilities) is somewhat isolated from the legume selection program. However an effort will be made to coordinate activities. Possible trials are:

- IIb A strain screening trial in soil (all previous screening has been done in Leonard jar type systems)

IIC The bean breeder may be able to evaluate the AFBYAN<sup>14</sup> for nodulation characters

III A comparison of different bean inoculation methods will be made

#### TANZANIA

IIB Strain screening will be done by personnel of the inoculant production unit

III The effects of other nutrients on the symbiosis will be studied in a minus one fertilizer trial using Anderson's plan, with and without inoculation 10 varieties will be evaluated with 2 repetitions

#### MALAWI

IIB Strain screening is the responsibility of a researcher not present in the workshop, the recommended strain at present is MG 3556 but strains from Tanzania, Zambia and CIAT are requested

IIC Germplasm from the drought and pathology programs of CRSP are being evaluated for nodulation capacity-in the greenhouse The best materials will be further evaluated in the field next season

III Fertilizer trials will be conducted, with and without inoculation, throughout bean growing areas Some emphasis will be put on rock phosphate sources

\* A long term N balance study will be conducted at Bunda using a maize/legume rotation The proposed legumes are beans, bambara nuts, and groundnuts

#### UGANDA

I<sub>L</sub> Nodulation surveys will be conducted in trials and farmers' fields in Kabale and Kampala areas where other studies have been done on beans If additional N-fertilizer trials are considered necessary they will be done within or beside other bean trials

IIB<sup>-</sup> Several field strain screening trials will be conducted at Kabayolo, Kawanda or Namlorye in maize pre-cropped soils Eighteen strains (from CIAT) will be compared using seed inoculation The trials will be planted in August using a well nodulating genotype identified in the IIC-type trials described below

IIC 5-10 promising bean genotypes (obtained from the legume program) will be evaluated for nodulation potential Number, weight and volume will be determined 2, 4, 6 and 8 weeks after planting A mixed strain inoculant will be used Yield will also be determined

---

<sup>14</sup>African Bean Yield Nursery

## ETHIOPIA

- I<sub>L</sub> Nodulation surveys will be done on 20-30 farms in 3 regions. Evaluations will be done at the pre-flowering stage and information on variety and fertilizer practices requested. If possible one of the breeders variety trials (30-40 genotypes) will be evaluated for nodulation with native strains.
- IIb A strain screening trial will be conducted in the greenhouse in January and February 1989 using 4kg pots of soil from an area that has already been shown to be deficient in N. Peat inoculant will be applied at 0.5 g/pot. 18 strains plus 2 controls will be compared in a random block design with 5 repetitions. The plant genotype has not yet been defined. Shoot weight at flowering will be determined.

## 6 Discussion topics

The following are some of the topics discussed during the meeting. Obviously it was impossible to find solutions or make recommendations in all cases. The following list may serve however as a guideline for further reflections.

Competition studies. Can we be satisfied when we observe a plant response to inoculation or do we need to quantify infection and survival of inoculant strains in order to know more about our strains?

Often results are not conclusive because of low quality inoculant. We must make sure that we have good quality inoculants!

How can BNF best be included as a selection criterion in the legume breeding programs? Who should evaluate regional nurseries like the PRELAAC and the AFBYAN? There is a need for coordination with breeders. It may often be possible to use the same trial (if we do not dig up too many plants).

Is it possible to identify a common check strain to be used across the regions? Could CIAT 899 be a possibility?

Couldn't we define common check varieties? Are there good nodulators with broad enough adaptation?

A cropping systems approach is needed. One should not forget that effects on associated and subsequent crops are important results of improved BNF of beans. Depression of maize growth by more vigorous beans or stimulation of maize growth due to more N input are just two of many possible effects.

The need for non-nodulating genotypes with appropriate background (local adaptation) is great, especially in the expensive N<sup>15</sup> experiments.

Is nodule distribution in beans important? Are there differences in efficiency or are distribution differences just dependent on time of evaluation, i.e.

initially all nodules are in the crown region, later active nodules are on the lateral roots

Plant genotype/strain/soil interactions What is the most efficient balance in rhizobium and bean selection studies?

How best can the work be divided up between the different programs? E g one team concentrates on bean germplasm another on rhizobium germplasm selection

Are there significant advantages in isolating local strains and testing them, as compared to evaluating strains selected elsewhere? Probably not, but adaptation to extremes of pH or temperature is likely to be important

What can be done about the problem that responses to inoculant are seldom seen on very poor soils where they are most needed? Is a "starter" dose of mineral N necessary or can a combination of early nodulating beans (Carolina) and early nodulating strains (CIAT 899) solve the problem?

Promiscuity versus specificity Should we try an approach different to the one chosen by the soybean researchers and look for more specific bean genotypes?

**Noms et adresses des participants  
Names and addresses of participants**

<u>Nom/name</u>	<u>Adresse/address</u>
L Gahamanyi	Directeur de l'ISAR BP 138, Butare/Rwanda
P Nybyenda	Chef de Departement, ISAR Rubona BP 138, Butare/Rwanda
A Hakizimanar	ISAR Rubona BP 138, Butare/Rwanda
J A Scaglia	FAO/ISAR Rubona BP 138, Butare/Rwanda
J P Vincent	EAVK BP 119, Butare/Rwanda
W Graf	CIAT Great Lakes Programme 259, Butare/Rwanda
J Davis	CIAT Great Lakes Programme BP 259, Butare/Rwanda
S Ntihakose	ISABU BP 795, Bujumbura/Burundi
A Moudiongui	Projet FAO UPIL ISABU BP 795, Bujumbura/Burundi
P E Davis	Soil Productivity Research Laboratory P/BAG 3757, Marondera/Zimbabwe
S K Mughogho	Crop Production Department Bunda College of Agriculture P O Box 219, Lilongwe/Malawi
M P Salema	Dept of Soil Science Sokoine University of Agriculture P O Box 3008 CHUO KIKUU, Morogoro/Tanzania
O T Edje	CIAT Eastern Africa Bean Programme P O Box 2704, Arusha/Tanzania
M C Silver	Dept of Soil Science Faculty of Agriculture and Forestry P O Box 7062, Kampala/Uganda
M Haile	Soil Science Section Alemaya University of Agriculture P O Box 138, Dire Dawa/Ethiopia
J Kipe-Nolt	CIAT A.A 6713, Cali/Colombia

**Noms et adresses des participants  
Names and addresses of participants**

<u>Nom/name</u>	<u>Adresse/address</u>
L Gahamanyi	Directeur de l'ISAR BP 138, Butare/Rwanda
P Nybyenda	Chef de Departement, ISAR Rubona BP 138, Butare/Rwanda
A Hakizimana	ISAR Rubona BP 138, Butare/Rwanda
J A Scaglia	FAO/ISAR Rubona BP 138, Butare/Rwanda
J P Vincent	EAVK BP 119, Butare/Rwanda
W Graf	CIAT Great Lakes Programme 259, Butare/Rwanda
J Davis	CIAT Great Lakes Programme BP 259, Butare/Rwanda
S Ntihakose	ISABU BP 795, Bujumbura/Burundi
A Moudifongui	Projet FAO UPIL ISABU BP 795, Bujumbura/Burundi
P E Davis	Soil Productivity Research Laboratory P/BAG 3757, Marondera/Zimbabwe
S K Mughogho	Crop Production Department Bunda College of Agriculture P O Box 219, Lilongwe/Malawi
M P Salema	Dept of Soil Science Sokoine University of Agriculture P O. Box 3008 CHUO KIKUU, Morogoro/Tanzania
O T Edje	CIAT Eastern Africa Bean Programme P O Box 2704, Arusha/Tanzania
M C Silver	Dept of Soil Science Faculty of Agriculture and Forestry P O Box 7062, Kampala/Uganda
M Haile	Soil Science Section Alemaya University of Agriculture P O Box 138, Dire Dawa/Ethiopia
J Kipe-Nolt	CIAT A A 6713, Cali/Colombia