

## Estimation des nitrates dans les feuilles d'agrumes: Une méthode d'évaluation des besoins en engrais azotés des agrumes

A. BAR AKIVA\*

ESTIMATION DES NITRATES DANS LES FEUILLES D'AGRUMES :  
UNE METHODE D'EVALUATION DES BESOINS EN ENGRAIS AZOTES  
DES AGRUMES

A. BAR- AKIVA

*Fruits*, Fev. 1975, vol. 30, n°2, p. 119-123.

RESUME - Les nitrates se trouvent en faible quantité dans les feuilles d'agrumes. Dans la détermination de l'azote total basée sur la méthode de Kjeldahl plus ou moins modifiée, la fraction des nitrates est négligée. Cette fraction représente 0,25 p. cent ou moins de l'azote total des feuilles. Quantitativement, elle peut être comparée aux oligo-éléments tels que le fer ou le zinc. Comme pour d'autres espèces végétales, la concentration en nitrates est plus élevée dans les pétioles que dans les limbes des feuilles.

La teneur en nitrate des feuilles est liée à la quantité d'azote apportée aux arbres et il y a aussi une relation positive avec la récolte. Ces relations

constituent la base physiologique pour l'usage de l'analyse foliaire comme guide pratique de fertilisation et, à cet égard, les nitrates s'avèrent être un indicateur sensible.

Dans plusieurs expérimentations au champ, avec différentes variétés d'agrumes et des essais variés de fertilisation, la possibilité d'établir des «valeurs standard» des nitrates foliaires a été examinée. Les résultats révèlent des différences dans les teneurs en nitrates liées aux différentes variétés et à l'âge des feuilles. Une teneur basse en P dans les feuilles résulte d'un accroissement des nitrates.

Les nitrates sont dosés dans des extraits aqueux de poudre de feuille sèche. Le même extrait peut être utilisé pour déterminer la fraction soluble dans l'eau d'autres éléments majeurs tels que P et K. L'extraction aqueuse de K représente environ 85 p. cent du K total déterminé dans le matériel foliaire testé. Le phosphore de l'extrait aqueux représente environ 60 p. cent du total, correspondant probablement à la fraction inorganique de P dans les feuilles.

### INTRODUCTION

Pour beaucoup de cultures annuelles (5, 16, 18) aussi bien que pour quelques cultures pérennes telles que la vigne (8), les nitrates sont considérés comme un guide des besoins en azote des plantes. On a pensé que dans les cultures arbustives l'azote des nitrates ne se rencontre pas habituellement dans les feuilles (10). Cependant HAAS (9) démontrait en 1936 la présence de nitrates dans des boutures de citron gardées sur solution. SHAKED et al. (12) établirent l'existence de nitrates dans des feuilles d'agrumes prélevées dans des vergers. Par ailleurs, SHAKED et al. (13) et BAR- AKIVA (2) ont montré que le contenu en nitrates des feuilles est lié aux quantités d'azote apportées. Le contenu en nitrates serait aussi affecté par les apports de P et K.

Dans ce travail, on étudie en détail les relations entre la quantité d'azote apportée, les teneurs foliaires en nitrates et les rendements dans des vergers d'agrumes à fertilisations différentes. L'emploi possible du dosage du nitrate foliaire comme guide de l'évaluation pratique des besoins en fertilisation azotée des agrumes a été examiné.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des feuilles de quatre à dix mois sont prélevées dans plusieurs vergers où des essais de fertilisation sont conduits. Les vergers sont localisés en différents points du pays avec des variations importantes de sol et de conditions climatiques.

Les feuilles ont été lavées, séchées puis broyées, et la poudre sèche analysée. Pour le dosage de l'azote total, 200 mg de poudre séchée ont été minéralisés avec 4 ml d'acide sulfurique concentré en présence de Se comme catalyseur. Après dilution du minéralisat, le dosage de l'azote total avec un auto-analyseur (Technicon) a été réalisé par la méthode hypochloritephénol alcalin (7). Les nitrates ont été estimés dans un extrait aqueux. Cinquante mg de poudre sèche sont agités 30 minutes dans 10 ml d'eau, puis filtrés. Une aliquote de l'extrait a été analysée par la méthode de KAMM et al. (11) adaptée à l'auto-analyseur. P a été de même dosé avec l'auto-analyseur et K par photométrie de flamme, à la fois dans la minéralisation acide et dans l'extrait aqueux.

### RESULTATS

La teneur en nitrates a été déterminée dans les feuilles de quelques variétés d'agrumes provenant de plusieurs plantations expérimentales dans lesquelles les effets de différents niveaux en azote et autres engrais, principalement P, et de l'époque

\* - The Volcani Center - Agricultural Research Organization, Division of Citriculture, Bet Dagan (Israël).

Communisation présentée au Premier Congrès international d'Agrumiculture Murcie (Espagne), avril 1973.

d'application de N, étaient étudiés.

#### Effets d'apports croissants de fumiers et engrais azotés.

La teneur en nitrates a été mesurée en comparaison avec l'azote total (Kjeldahl) de trois variétés d'agrumes. Les résultats et ceux des rendements correspondants apparaissent dans le tableau 1.

Il y a un bon accord entre les résultats de l'azote total et de l'azote des nitrates, pour autant que la réponse à la quantité d'engrais azoté appliquée soit concernée. Dans certains cas, il y a même une relation plus étroite entre l'azote des nitrates et le programme de fertilisation. Les deux paramètres ne montraient pas de corrélations significatives positives avec le rendement. Cependant, dans le cas de l'essai sur Shamouti, où une réponse significative du rendement a été obtenue, tous deux montraient des différences significatives similaires.

Les différences dans la concentration en azote des nitrates entre la clémentine et les deux autres variétés indiquent probablement un effet variétal.

#### Analyses des pétioles et limbes foliaires.

Chez plusieurs plantes, des différences remarquables ont été trouvées entre les teneurs en azote des nitrates des pétioles et des limbes. Les limbes de vigne et de betterave sucrière contiennent peu souvent des nitrates, alors que les concentrations en nitrates dans les pétioles varient fortement en accord avec l'état nutritionnel en azote des deux plantes (17). Aussi, il était intéressant d'examiner la teneur en nitrates de ces deux parties de feuille chez les agrumes. Dans ce but, des échantillonnages foliaires ont été pratiqués dans des vergers de Shamouti où l'époque de l'apport de l'azote était étudiée (tableau 2).

Comme prévu, la concentration en azote des nitrates était plus élevée dans les pétioles que dans les limbes. Dans les deux parties de la feuille l'azote des nitrates montrait aussi une relation plus étroite avec le programme de fertilisation que l'azote total. La concentration, relativement plus élevée dans les limbes, peut être due, d'une part, à la saison d'échantillonnage et, d'autre part, au fait que les feuilles provenaient de rameaux non fructifères terminaux.

#### Détermination de K et P dans l'extrait aqueux.

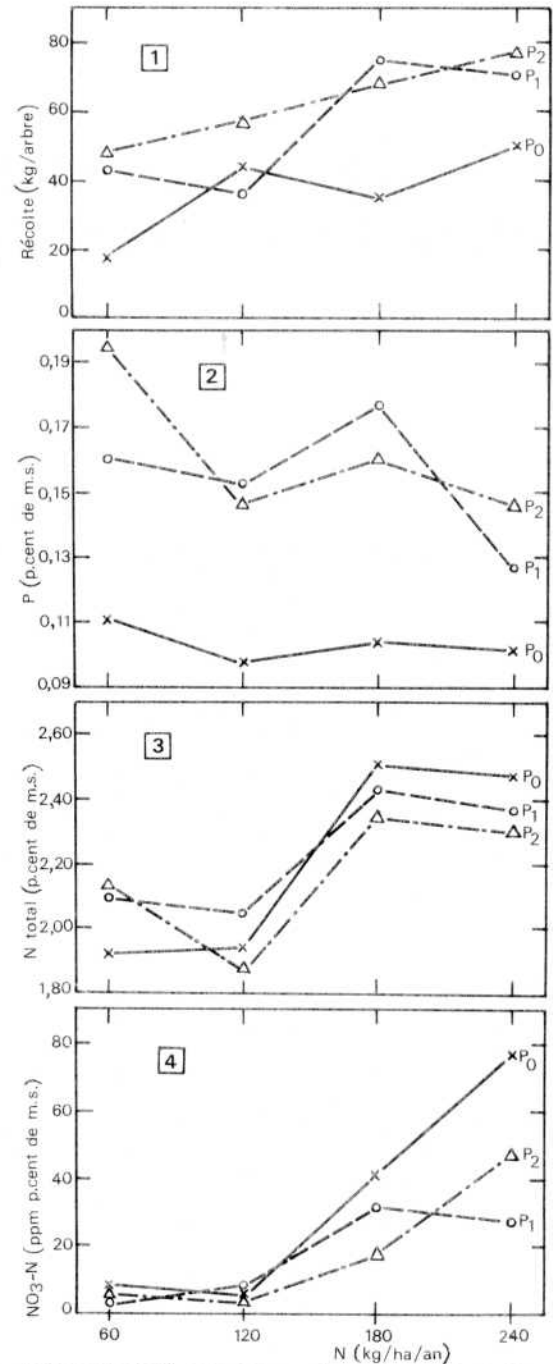
Les extraits foliaires issus des deux vergers de Shamouti ont été aussi utilisés pour le dosage de K et P (tableau 3).

Dans l'extrait aqueux, on a retrouvé 85 p. cent du K total mesuré dans les mêmes feuilles. Des résultats non publiés ont indiqué que ce résultat pouvait être amélioré. Le phosphore de l'extrait aqueux représente environ 60 p. cent du total, ce qui correspond probablement à la partie inorganique du P dans les feuilles. Des corrélations hautement significatives ont été cependant trouvées entre le dosage total et l'extrait aqueux pour les trois éléments, mais spécialement pour K et P (tableau 4).

#### Interaction P - NO<sub>3</sub>.

Dans les essais préliminaires (2) le contenu en N des nitrates était fortement affecté par les apports de P. Cette interaction apparente a été étudiée en détail dans un essai factoriel au champ où de jeunes Shamouti, plantés dans un sol sableux profond, ont reçu une fertilisation à quatre niveaux de N et trois niveaux de P. La réponse du rendement et quelques données sur les analyses foliaires sont présentées dans les figures 1 à 4.

Dans cette expérience, chacun des deux éléments, spécialement leur application combinée, provoque une augmentation significa-



Effets de différents niveaux d'engrais azotés et phosphorés : 1 sur la récolte de jeunes Shamouti; 2 sur la teneur foliaire en P; 3 sur la teneur foliaire en N total; 4 sur la teneur foliaire en NO<sub>3</sub>-N.

tive des rendements. Les doses les plus élevées de chacun d'eux provoquent l'élévation de la concentration de l'élément dans les feuilles. Cependant, avec le niveau bas en azote (N<sub>1</sub>), la concentration en P tend à être plus élevée qu'avec les niveaux les plus élevés en N. D'autre part, au bas niveau en P (P<sub>0</sub>), la teneur en nitrate foliaire était beaucoup plus élevée que dans les arbres

**TABLEAU 1 - Effet des fumures azotées sur le rendement, l'azote total et l'azote des nitrates de feuilles d'agrumes (feuilles de 8-9 mois, de rameaux fructifères terminaux).**

Variété/Porte-greffe (mois d'échantillonnage)	Traitement kg/an/ha	Récolte kg/arbre (1)	N total p. cent M.S. (1)	N des nitrates ppm M.S. (1)
Shamouti sur lime douce (novembre)	60 N	37 b	2,06 b	7,2 c
	120 N	47 b	1,97 b	7,8 c
	180 N	61 a	2,37 a	20,1 b
	240 N	66 a	2,41 a	52,0 a
Valeur de F SE		7,7 ** 4,7	12,7 ** 0,06	16,2 ** 5,2
	Clémentine sur lime douce (octobre)	80 N	64	2,60 b
160 N		63	2,78 ab	700 ab
240 N		39	2,95 ab	850 ab
160 N		60	2,97 a	950 a
Valeur de F SE	120 m <sup>3</sup> fumier de vache	2,15 NS 6,0	6,06 ** 0,08	3,74 ** 71
	Pomelo sur bigaradier (septembre)	0 N	197	1,60 b
160 N		205	1,78 a	64,5 b
160 N		208	1,64 b	49,5 b
7,5 m <sup>3</sup> fumier de poulailler				
Valeur de F SE	160 N 20 m <sup>3</sup> fumier de vache	216	1,89 a	115,5 a
		1,84 NS 4,5	2,91 * 0,05	2,85 * 28

(1) les moyennes suivies par différentes lettres sont statistiquement différentes aux niveaux 1 p. cent et 5 p. cent.  
\* - significatif au niveau 5 p. cent      \*\* - significatif au niveau 1 p. cent      NS - non significatif

**TABLEAU 2 - Effet de la date d'application de la fertilisation azotée sur la récolte, l'azote total et l'azote des nitrates de feuilles de Shamouti (sur bigaradier). Feuilles de quatre mois de rameaux non fructifères terminaux.**

Traitement 160 kg N/an/ha	Récolte kg/arbre	N total p. cent M.S.	N des nitrates ppm M.S.	
			limbes	pétioles
1/3 février	146	2,73	388 b	568 b
1/3 avril				
1/3 juin				
1/1 février	142	2,58	253 b	408 b
1/1 avril	140	2,58	148 a	260 a
1/1 avril				
+ urée foliaire	146	2,67	265 b	392 b
témoin	120	2,58	125 a	256 a
valeur de F (1)	3,08 *	0,73	4,75**	5,03**
SE	6,2	0,03	48	57

(1) voir les remarques du tableau 1.

recevant une fertilisation normale en P ; par exemple dans des arbres déficients en P la teneur foliaire en N des nitrates était beaucoup plus affectée par un apport de P que par le niveau de fertilisation azotée.

L'utilisation du rapport P/NO<sub>3</sub>, plutôt que la valeur absolue

de N des nitrates, n'éliminait pas les effets de cette interaction. Cependant, le fait que P peut aussi être estimé dans le même extrait aqueux que les nitrates doit être utile dans l'évaluation du degré d'une telle interaction. Sur la base des données expérimentales présentées ici ou antérieures (3), un niveau de l'azote des

**TABLEAU 3 - Composition en K et P de feuilles de Shamouti : comparaison de la minéralisation de Kjeldahl et de l'extraction aqueuses (en p. cent de matière sèche).**

Traitement kg/ân/ha	Minéralisation de Kjeldahl		Extrait aqueux	
	K	P	K	P
60 N	1,83 a	0,156	1,60	0,051
120 N	1,76 a	0,132	1,42	0,077
180 N	1,17 b	0,148	0,95	0,074
240 N	1,14 b	0,126	0,95	0,067
valeur de F (1)	14,2**	2,36NS	17,7**	2,23 NS
SE	0,10	0,009	0,07	0,01

(1) voir les remarques du tableau 1.

**TABLEAU 4 - Coefficients de relation entre les valeurs de NPK total (minéralisation de Kjeldahl) et l'extraction aqueuse de N des nitrates, de P, K de feuilles de Shamouti.**

Fonctions		Shamouti/bigaradier	Shamouti/lime douce
Extrait aqueux - minéralisation de Kjeldahl			
r NO <sub>3</sub> -N	- N	0,62 **	0,52 **
r P	- P	0,99 **	0,50 **
r K	- K	0,78 **	0,92 **

\*\* - significatif à 1 p. cent.

nitrates compris entre 20 ppm et 20 et 30 ppm peut être considéré comme satisfaisant dans des feuilles de 7-8 mois d'oranger prélevées sur des rameaux fructifères terminaux.

## DISCUSSION

Il est généralement admis que l'azote foliaire total est un indicateur moins précis que souhaité à la réponse aux apports de N (14). On a prétendu que la raison principale de ce manque de précision tenait au fait qu'une partie seulement de l'élément total présent est active dans le métabolisme cellulaire. Pour perfectionner la méthode d'analyse foliaire, il a été suggéré, qu'à la place de l'azote total, des mesures de métabolisme ou de fractions pourraient être employées et fourniraient des informations sur la partie active de l'élément. Des systèmes enzymatiques variés ont été suggérés, l'un d'eux étant la nitrate réductase (1). Les problèmes de l'utilisation de la nitrate réductase ont été présentés (13). Une des difficultés avec les enzymes est la limite de conservation des feuilles, car les essais doivent être réalisés avec du matériel frais.

Les nitrates sont le substrat de cet enzyme et peuvent être aisément déterminés dans la matière sèche. C'est pourquoi il était raisonnable de s'attendre à ce que la détermination des nitrates reflète l'état de l'azote actif métaboliquement dans les feuilles. En effet, l'azote des nitrates s'est montré étroitement associé à l'activité de la nitrate réductase dans les feuilles (12, 13). Apparemment, la détermination de l'azote des nitrates, dans les plantes telles que les agrumes qui normalement n'accumulent pas les nitrates, peut être plus significative que dans quelques cultures annuelles telles que le fourrage qui l'accumulent (4). L'accu-

mulation de nitrates conduit à la perte de sensibilité et, par conséquent, à l'inefficacité apparente de la concentration en nitrates en tant qu'indicateur.

La grande sensibilité de l'azote des nitrates dans les feuilles d'agrumes n'a pas été due seulement à des changements dans les apports d'azote, mais aussi à d'autres conditions de croissance (12) et, dans ces études, aux apports de P comme cela a été clairement démontré.

Apparemment, P qui est considéré comme un faible antagoniste de N total (14), a un effet très marqué sur la fraction des nitrates. En conséquence, l'usage du «concept de l'équilibre» peut être utile dans l'utilisation pratique pour l'estimation des nitrates comme guide de la fertilisation des agrumes. Le même extrait aqueux peut être utilisé pour P et K et peut-être aussi bien pour d'autres déterminations. Au moins pour Ca, l'emploi de l'extrait aqueux peut améliorer l'interprétation des résultats (6).

Les preuves présentées dans cette étude conduisent à conclure que les nitrates peuvent être un indicateur de l'état nutritionnel en azote des agrumes. Comparée à l'estimation de l'azote total, la mesure des nitrates a l'avantage d'être rapide, il est donc facile de prélever plus d'échantillons par unité de surface et la confiance dans le diagnostic est accrue (15). Les différences variétales et saisonnières, les effets du milieu externe et des facteurs de croissance, autres que la nutrition azotée, sur l'accumulation des nitrates dans les feuilles d'agrumes, doivent être connus pour pousser plus avant. De plus, on ne sait pas encore quelle partie des feuilles, pétioles ou limbes, convient le mieux aux besoins du diagnostic.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BAR-AKIVA (A.). 1969.  
The use of activity of metallo enzyme systems for the appraisal of nutritional requirements of Citrus trees.  
*Proc. 1st Inter. Citrus Symp., H.D. CHAPMAN (Ed.) University of California, Riverside, p. 1551-1557.*
2. BAR-AKIVA (A.). 1972.  
Nitrate contents of leaves of differentially fertilized Citrus trees.  
*Comm. Soil Sci. and Pl. Analysis, 3, 65-69.*
3. BAR-AKIVA (A.) and GOTTFRIED (A.). 1971.  
Effect of nitrogen and potassium nutrition on fruit yield and quality and leaf mineral composition of Valencia orange trees.  
*Agrochimica, 15, 127-135.*
4. BAR-AKIBA (A.), SAGIV (J.) and LESHEM (J.). 1970.  
Nitrate reductase activity as an indicator for assessing the nitrogen requirement of grass crops.  
*J. Sci. Fd. Agric., 21, 405-407.*
5. BURG (P.P.J.) van. 1966.  
Nitrate as an indicator of the nitrogen status of grass.  
in : *Proc. Xth Int. Grassland Congress, Helsinki, p. 267-272.*
6. CARPENA (O.), LEON (A.) and de la PERRA (F.). 1972.  
Relations entre les fractions de calcium et la carence en fer du citronnier.  
*Proc. 3e Colloque européen et méditerranéen sur le Contrôle de l'Alimentation des Plantes cultivées (in press).*
7. CLARE (N.T.) AND STEVENSON (A.E.). 1964.  
Measurements of feed nitrogen by grazing cattle and sheep. I. Determination of nitrogen in feces and feeds using an autoanalyzer.  
*N.Z.J. Agric. Res., 7, 198-204.*
8. COOK (J.A.). 1966.  
Grape nutrition.  
in : *Fruit nutrition. N.F. CHILDERS (Ed.) Hort Publications Rutgers State University N.J., p. 777-812.*
9. HAAS (A.R.C.). 1936.  
Phosphorus relations of lemon cuttings grown in solution cultures.  
*Bot. Gazette, 97, 694-807.*
10. JONES (W.W.). 1966.  
Nitrogen.  
in : *Diagnostic criteria for plants and soils. H.D. CHAPMAN (Ed.) Division of Agr. Sciences, University of California, Riverside, p. 310-323.*
11. KAMM (L.), McKEOWN (G.C.) and MORISON SMITH (D.). 1965.  
A new colorimetric method for the determination of the nitrate and nitrite content of baby foods.  
*J. Ass. Off. Agric. Chem., 48, 892-897.*
12. SHAKED (A.), BAR-AKIVA (A.) and MENDEL (K.). 1972.  
Effect of water stress and high temperature on nitrate reduction in Citrus leaves.  
*J. Hort. Sci., 47, 183-190.*
13. SHAKED (A.), BAR-AKIVA (A.) and MENDEL (K.). 1973.  
Nitrate reductase activity as an indication of the nitrogen status and requirements of Citrus trees under orchard conditions.  
in : *Proc. international Citriculture Congress, Murcia.*
14. SMITH (P.F.). 1966.  
Leaf analysis of Citrus.  
in : *Fruit Nutrition, N.F. CHILDERS (Ed.) Somerset Press, Somerville N.J., chapter 8.*
15. STEYN (W.J.A.). 1961.  
The errors involved in the sampling of Citrus and pineapple plants for leaf analysis purposes.  
in : *Plant Analysis and Fertilizer Problems, W. REUTHER (Ed.) Amer. Inst. Biol. Sciences, Washington D.C., p. 409-430.*
16. TYLER (K.B.) and LORENZ (O.A.) 1962.  
Diagnosing nutrient needs in vegetables.  
*Better Crops, 46, 6-13.*
17. ULRICH (A.). 1948.  
Plant analysis methods and interpretation of results.  
in : *Diagnostic techniques for soils and crops. H.B. KITCHEN (Ed.) Amer Potash Institute, Washington 6 D.C., p. 157-189.*
18. ULRICH (A.). 1961.  
Plant analysis in sugar beet nutrition.  
in : *Plant Analysis and Fertilizer Problems. W. REUTHER (Ed.) Amer. Inst. Biological Sciences, Washington DC, p. 190-211.*

