

# L'ATELIER SUR LES SYMBIOSES ACACIAS

**O**rganisé conjointement par le laboratoire des Biotechnologies des Symbioses Forestières Tropicales – CIRAD-Forêt/ORSTOM – et le laboratoire de Microbiologie des sols de l'ORSTOM à Dakar, cette réunion a eu lieu les 24 et 25 juin 1993 au CIRAD-Forêt à Nogent-sur-Marne.

L'Atelier sur les Symbioses Acacias a regroupé une quarantaine de chercheurs sénégalais, burkinabés et français, en poste au Sénégal ou en France, avec pour objectif d'établir le bilan scientifique de deux projets de recherche « Rôle de deux acacias dans le maintien et la fertilité des sols » et « Projet de recherche sur *Acacia albida* », financés respectivement par le Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche et le Ministère de la Coopération et du Développement. La réunion avait été élargie à quelques collègues non concernés par ces projets, ce qui a permis à l'ensemble de l'assistance de prendre connaissance des résultats de nouveaux thèmes importants (écophysiologie de la résistance à la sécheresse, diversité génétique des plantes-hôtes).

Les sujets abordés au cours de ces deux journées ont couvert très largement les divers aspects de ces systèmes symbiotiques (plante-hôte, microsymbiotes, installation, fonctionnement et écophysiologie de la symbiose) avec pour thèmes principaux :

- Plante-hôte (étude de la variabilité génétique, multiplication végétative et micropropagation, influence du stress hydrique, biologie de la reproduction).
- Micro-organismes (caractérisation des rhizobiums et des bradyrhizobiums d'acacias sahéliens, écologie des mycorhizes).
- Installation de la symbiose (processus d'infection) et fonctionnement (nodulation, fixation biologique).
- Ecophysiologie de la nutrition minérale des symbioses.

## POURQUOI LES SYMBIOSES ACACIA-RHIZOBIUM ?

Comme tous les arbres fixateurs d'azote, ces symbioses contribuent au maintien et à la restauration des sols tropicaux en apportant la matière organique et en redistribuant des nutriments dans les différents horizons du sol. La production de fourrage riche en protéines de ces espèces intervient largement dans l'alimentation du bétail y compris, parfois, pendant la saison sèche.

Dans le groupe des Légumineuses (17 000 espèces), les acacias représentent le groupe certainement le plus

diversifié par le nombre des espèces d'abord (plus de 1 200), également par les exigences écologiques variées de ces représentants et, enfin, par les utilisations nombreuses de ces arbres, en agroforesterie ou en plantations industrielles.

En choisissant une espèce de zone tropicale humide (*Acacia mangium*) et plusieurs espèces de zones sèches soudano-sahéliennes (*Acacia albida*, *raddiana*, *senegal*), les intervenants se sont donc intéressés à des espèces ayant des comportements variés dans leur biologie et leur adaptation à la symbiose.

Si l'intérêt porté à ces espèces est reconnu depuis longtemps, d'énormes lacunes existent encore dans les connaissances de base des acacias. Il est frappant, en particulier, de constater la faiblesse de nos connaissances sur l'évaluation précise de la fixation biologique de l'azote, les processus d'installation de la symbiose, la biologie de la reproduction sexuée et la régénération de ces espèces, etc.

Tous ces domaines de recherche ont bien sûr des répercussions potentielles sur la pratique des reboisements et la gestion des plantations.

Les deux programmes de recherche sur les symbioses Acacia-Rhizobium ont permis d'obtenir des avancées significatives dans certaines des thématiques présentées (cf. conclusion Y. DOMMERGUES, p. 32). Ils ont eu aussi pour résultat de susciter, de la part des chercheurs concernés, un intérêt renforcé des actions entreprises et de mobiliser de manière concertée une dynamique scientifique, ce qui représente un résultat également très encourageant.

C'est pourquoi nous avons voulu publier, à l'intention des lecteurs de BOIS ET FORETS DES TROPIQUES, un résumé en français et en anglais des communications qui ont été présentées au cours de cet Atelier, sachant très bien que des progrès et des actions nouvelles sont nécessaires.

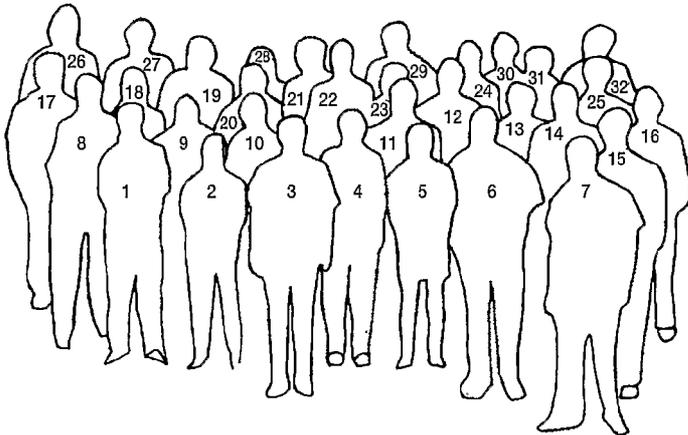
Que nos deux instituts de tutelle, le CIRAD et l'ORSTOM et leurs responsables soient remerciés de nous avoir aidé à organiser ces deux journées.

Emile DUHOUX  
Professeur Université Paris VII et Directeur du B.S.F.T.  
(CIRAD-Forêt/ORSTOM)



Moments de détente pour les participants à l'Atelier sur les « Symbioses Acacias »,  
devant le pagodon du jardin tropical, au CIRAD-Forêt à Nogent-sur-Marne.

*A few moments' relaxation for the members of the Acacia Symbiosis workshop standing  
in the tropical gardens of CIRAD-Forêt, Nogent-sur-Marne.*



1. Pascal Danthu. 2. Catherine Cardoso. 3. Yves Prin.
4. Hélène Joly. 5. Christine Le Roux.
6. Bassirou Sougoufara. 7. Marc Ducouso.
8. Bernard Dreyfus. 9. Yaye Kène Gassama-Dia.
10. Jean-Paul Colonna. 11. Emile Duhoux.
12. François Brunck. 13. Claudine Franche.
14. Yvon Dommergues. 15. Marc Neyra.
16. G. Hoang Diem. 17. Jérôme Ribet.
18. Antoine Galiana. 19. Jean-Marc Leblanc.
20. Mahamadi Dianda. 21. Alain Borgel.
22. Ibrahima Ndoeye. 23. Michel Jacquot.
24. Christian Fournier. 25. 26. Philippe Vigneron.
27. Didier Lesueur. 28. Marie-Hélène Chevallier.
29. A. Berger. 30. Mohamed Snoussi.
31. Antoine Cornet. 32. Najib Bendaou.

## RÉSUMÉS

### Effet de l'origine génétique sur l'aptitude au clonage *in vitro* d'*Acacia raddiana*

A. BORGEL, M. DIOUF, Y. KPARE

*Acacia raddiana* est une espèce légumineuse arborescente très importante en zone sahélienne pour l'installation de systèmes agro-sylvo-pastoraux. Ses principales qualités sont :

- Une grande adaptation aux conditions climatiques arides et une croissance assez rapide.
- Une bonne aptitude à la symbiose avec des micro-organismes fixateurs de l'azote atmosphérique.
- Une grande diversité d'utilisation : elle sert notamment à l'alimentation du bétail et comme bois de feu.

L'évaluation de la diversité génétique de cette espèce allogame passe par la création de clones, seul matériel homogène pour l'étude de la valeur génétique des individus et des interactions génotype/milieu et génotype/symbiote.

La multiplication végétative n'étant pas naturelle chez cette espèce, les meilleures conditions de clonage *in vitro* par microboutures de semenceaux sont recherchées en étudiant l'effet de huit milieux de culture sur les caractères de croissance *in vitro*.

Dans une première approche, avant que les effectifs par génotype soient importants, il est intéressant de tester l'aptitude familiale au clonage *in vitro* : dix familles issues du Ferlo et de la région du fleuve Sénégal ont été testées.

Les résultats montrent toujours un effet famille significatif pour les caractères quantitatifs analysés (allongement de la tige, nombre et longueur de racine).

En revanche les différents milieux utilisés, malgré des différences importantes de composition hormonale, n'ont pas provoqué de différence de comportement significative parmi les microboutures.

Dans une expérience suivante, nous avons affiné notre étude du comportement des vitroplants en repérant l'origine de l'explant sur le vitroplant de départ (apex, nœud cotylédonaire, nœud intermédiaire). Du côté facteur génétique, nous avons introduit dans le dispositif expérimental deux espèces d'*Acacia* voisines : *A. nilotica* et *A. sieberiana*. Et nous avons testé quelques nouveaux milieux.

Les résultats confirment les précédents en ce qui concerne la prééminence du facteur génétique sur le facteur composition du milieu de culture. Les différents types d'explants de départ montrent des comportements significativement différents.

A. BORGEL, M. DIOUF, Y. KPARE : ORSTOM Génétique - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

### L'*Acacia raddiana* électrophorèse d'enzymes sur gel d'amidon et conséquences de la tétraploïdie

C. CARDOSO, J.-M. LEBLANC, M.-H. CHEVALLIER

*Acacia raddiana* est parmi les acacias africains celui dont l'aire de répartition remonte le plus au nord. Il se rencontre au Sahel, dans le Sahara et en Afrique du Nord.

Dans le contexte du reboisement des régions sahéliennes, l'espèce n'est donc pas sans intérêt. Aussi une étude concernant sa variabilité génétique a-t-elle été entreprise sur la base de l'électrophorèse d'enzymes sur gel d'amidon.

Malheureusement, le rassemblement des graines et la mise au point du protocole d'extraction a connu quelques difficultés. Par ailleurs, les zymogrammes présentent un nombre de bandes bien supérieur à celui obtenu chez *A. albida* et *senegal*. L'*A. raddiana* serait tétraploïde. De ce fait, l'interprétation des zymogrammes est ardue et parfois aléatoire (plusieurs génotypes étant possibles pour un profil donné).

Néanmoins, nous avons pu donner une interprétation logique pour un certain nombre d'enzymes.

N'ayant pas encore pu analyser la variabilité génétique de cette espèce en tenant compte de ces résultats récents, nous présenterons quelques résultats prometteurs obtenus en tenant compte des profils enzymatiques et non des génotypes (CARDOSO et LEBLANC dans « *Population genetics and gene conservation* », éd. SPB Academic Publishing, sous presse).

C. CARDOSO, J.-M. LEBLANC : Laboratoire de Génétique et d'Amélioration des Plantes, ORSTOM - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

M.-H. CHEVALLIER : CIRAD-Forêt/ISRA-D.R.P.F. - B.P. 2312 - DAKAR (Sénégal).

### Variabilité génétique de l'*Acacia senegal* Étude de deux phénotypes « gris clair et gris foncé »

J.-M. LEBLANC, J.-P. BRIZARD

En 1988, une prospection a été réalisée sur cinq sites différents dans la région de Mbidi (au nord du Sénégal), où se trouvaient des peuplements naturels d'*Acacia senegal*, composés des formes « gris clair » et « clair foncé », et identifiés par les techniciens de l'ISRA/D.R.P.F. Il s'agit des peuplements de Mbidi, Thiatal-Gotal, Namarel, Lagbar et Fétéolé. Ces deux phénotypes sont reconnus par les personnes qui pratiquent les saignées dans l'écorce pour permettre l'exsudation de la gomme arabique. Le phénotype « gris foncé » est celui qui est le plus recherché car il produirait plus de gomme.

Les critères qui permettent de le reconnaître semblent nombreux et complexes. On peut citer en particulier la couleur des graines, la dureté du bois, la forme des épines, l'écorce, la vigueur et enfin la qualité de la gomme.

Des études réalisées par le Professeur NIONGONIERMA ont également mis en évidence un comportement différent des graines à la scarification et, enfin, une relation avec l'inoculation des jeunes plantules a pu être observée. De telles différences ne peuvent être mises sur le compte d'un seul gène et pour les expliquer il faudrait revenir à la notion de linkat ou à l'existence d'une barrière génétique conduisant à la coexistence de ces deux types sans hybridation.

Au cours de nos missions dans le Ferlo, nous avons néanmoins observé qu'il existait une certaine différence de terrain entre les deux phénotypes en ce qui concerne les aires de répartition et il nous semblait plausible d'associer ces différences à un effet du sol, les variations observées au stade jeune étant à mettre au compte d'un possible effet maternel.

Pour tenter de mettre un terme à cette question, nous avons mis en place un essai comparant deux fois huit descendances des deux types que nous avons suivis mensuellement pendant trois années, tant sur le plan de la croissance que par analyse électrophorétique.

La différence à la scarification a bien été confirmée par le prétraitement à l'acide, ainsi que la plus grande vigueur précoce des descendances « foncées ». Néanmoins, cette différence s'estompe après six mois et l'étude de la croissance après trois ans montre même que les descendances « claires » sont au final significativement plus vigoureuses.

De même il a été mis en évidence une différence de phénologie tant au niveau de la floraison que de la feuillaison. Tous ces caractères vont bien dans le sens d'une différence significative entre les deux types.

L'électrophorèse d'enzymes nous apporte des informations complémentaires : la variabilité génétique de l'*A. senegal* est faible et le nombre de locus polymorphes réduit. L'étude des endopeptidases, enzymes monomériques, indique que l'espèce est allogame, certaines descendances étant en accord parfait avec les lois de HARDY WEIBERG, et qu'il existe une différence nette entre les descendances des arbres « gris clair » et « gris foncé ». Il faut donc bien croire à l'existence d'une barrière génétique entre les deux formes : plusieurs hypothèses seront évoquées.

J.-M. LEBLANC, J.-P. BRIZARD : Laboratoire de Génétique et d'Amélioration des Plantes, ORSTOM - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

## Variabilité génétique des parcs à *Acacia albida* (*Faidherbia albida*) au Sénégal

M.-H. CHEVALLIER

L'estimation de la diversité génétique des parcs à *Acacia albida* a été effectuée depuis 1990 à partir de trois types de critères : les caractères agrosylvicoles étudiés grâce aux essais sur le terrain, les marqueurs génétiques révélés par électrophorèse d'enzymes (isoenzymes) et des caractères morphologiques. Sont présentés ici l'état d'avancement des travaux ainsi que les principaux résultats.

### ● Caractères agrosylvicoles

Un essai de provenances/descendances a été mis en place pendant l'hivernage 1991 afin de comparer six provenances sénégalaises aux deux meilleures provenances testées au Burkina Faso à raison de neuf descendances par provenance. Les taux de survie moyens par provenance sont supérieurs à 80 % à l'exception d'une provenance originaire du Burkina Faso. La provenance la mieux adaptée semble être celle du Ferlo. Pour les paramètres de croissance, les provenances casamançaises sont les plus vigoureuses malgré une variabilité intraprovenance importante.

### ● Isoenzymes

Des prospections réalisées de 1989 à 1992 ont permis de sélectionner une douzaine de provenances réparties sur toute l'aire de dispersion de l'espèce au Sénégal. Des gousses ont été récoltées par descendance séparée, sur 20 à 30 arbres par provenance. Une graine par descendance a été analysée par électrophorèse. Les treize enzymes révélées représentent 18 gènes potentiels et 54 allèles. Les populations sénégalaises se caractérisent par un taux de polymorphisme moyen de 50 %, un nombre moyen d'allèles par locus de 3,3 et une hétérozygotie moyenne de 0,21. La différenciation entre provenances ne se

fait pas par l'allèle majoritaire qui reste le même quelle que soit la provenance considérée, mais par la présence d'allèles rares, qui ne permettent pas de structurer l'ensemble.

Un parc particulièrement dense a été choisi afin de déterminer, grâce aux isoenzymes, son mode de régénération. Se fait-il préférentiellement par drageons ou par semis ? La cartographie des 159 arbres du parc a été réalisée. Des boutures de chaque arbre en début de période de refeuillaison ont été effectuées. Malgré toutes les précautions prises dans la récolte et le transport des boutures, le taux de débournement est resté très faible. Une nouvelle méthodologie a donc été recherchée ; elle est en cours de mise au point (conservation de l'écorce des arbres par lyophilisation le jour même de la récolte).

### ● Caractères morphologiques

L'étude de la variabilité génétique sur les caractères morphologiques a été effectuée sur les fruits de plusieurs provenances sénégalaises à raison de 20 à 30 arbres par provenance et 20 gousses par arbre. Selon les analyses de variance hiérarchisées, la variance intraprovenance est supérieure à la variance interprovenance.

La forte variabilité intraprovenance mise en évidence chez *A. albida*, quel que soit le critère utilisé, est discutée.

M.-H. CHEVALLIER : CIRAD-Forêt/ISRA-D.R.P.F. - B.P. 2312 - DAKAR (Sénégal).

## Clonage rapide de *Faidherbia albida* adulte

P. DANTHU

Une méthode rapide de mobilisation, de rajeunissement et de clonage de *Faidherbia albida* est en cours de mise au point, inspirée des travaux antérieurs de GASSAMA et DUHOUX (1986-1987), AHMED (1987), DANTHU (1992) et OUEÛRAOGO (1993).

Des fragments de racine sont prélevés au champ sur les sujets sélectionnés et des boutures horticoles de racine sont réalisées sous châssis. En conditions favorables (boutures de 15 cm en position verticale), des rameaux (drageons) se développent. Ils peuvent être prélevés à un stade juvénile, désinfectés et introduits *in vitro*. De 40 à 50 % des explants monodaux s'enracinent sur un milieu sans régulateur de croissance ou contenant AIB 1 mg/l alors qu'une multiplication caulinaire est obtenue lorsque le milieu contient BAP 1 mg/l.

Cette méthode permet dans un court délai (quelques mois) de produire *in vitro* des copies végétatives de sujets adultes repérés *in situ* et dépourvus de drageons au moment de la prospection.

P. DANTHU : ISRA-D.R.P.F./CIRAD-Forêt - B.P. 2312 - DAKAR (Sénégal).

## L'inhibition tégumentaire des graines de *Faidherbia albida* et d'*Acacia raddiana* Aspect anatomique et application pratique

P. DANTHU

Les graines de *Faidherbia albida* et d'*Acacia raddiana* présentent une importante inhibition tégumentaire qui ne peut être levée que par un trempage dans l'acide sulfurique concentré (95 %) ou par scarification manuelle.

La profondeur de la dormance ne paraît pas être directement liée à la structure du tégument et, en particulier, à l'épaisseur de la couche des cellules de Malpighi.

L'utilisation d'acide sulfurique dilué pour lever la dormance des deux espèces n'est efficace que si la concentration de la liqueur est supérieure ou égale à 63 %. En particulier, la solution commerciale d'acide pour batterie (33 %) est totalement inefficace.

Les graines d'*A. raddiana* scarifiées à l'acide sulfurique ne conservent leur variabilité que si elles sont stockées en chambre froide (+ 5 °C). A température ambiante, leur capacité germinative reste optimale pendant trois mois, puis chute progressivement pour être nulle après 18 mois.

Pour *F. albida*, seules les graines intactes stockées au froid conservent une viabilité supérieure à 90 %. Les graines scarifiées ont une germination nulle après sept mois de conservation à température ambiante. Les deux autres catégories de semences (intactes, stockées à température ambiante et scarifiées, stockées en chambre froide) ont après 18 mois une capacité germinative d'environ 60 à 70 %.

Il est donc possible de conserver sans perte de viabilité les graines prétraitées d'*A. raddiana* à la condition de les stocker à température basse (+ 5 °C), ce qui ne semble pas réalisable pour *F. albida*.

P. DANTHU : ISRA-D.R.P.F./CIRAD-Forêt - B.P. 2312 - DAKAR (Sénégal).

## Les racines excisées comme source d'explants pour la micropropagation de *Faidherbia = Acacia albida* (Del.) A. Chev.

J. AHÉE, E. DUHOUX

La culture de racines d'*Acacia albida* peut être maintenue pendant plusieurs mois par subcultures successives de racines isolées dans la solution minérale modifiée de BONNER et DEVIRIAN, qui s'est révélée être la meilleure des quatre compositions minérales étudiées. L'addition d'auxines n'entraîne aucun effet sur les caractéristiques de la croissance. Le méso-inositol à la concentration de 10 mg l<sup>-1</sup> augmente sensiblement le taux d'élongation et le saccharose à 0,059 M améliore considérablement l'élongation racinaire. L'effet du saccharose ne peut être remplacé par le glucose. La croissance des racines est affectée défavorablement par le nombre de subcultures.

Des tiges ont pu être régénérées *in vitro* à partir d'explants racinaires de première subculture.

La grande variabilité observée dans le taux d'élongation des racines suggère que cette technique peut fournir un nouveau moyen pour sélectionner des clones possédant un potentiel de croissance racinaire élevé, critère extrêmement important pour des phréatophytes comme l'*Acacia albida*.

J. AHÉE : Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales (ORSTOM/CIRAD-Forêt) - 45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle - 94736 NOGENT-SUR-MARNE CEDEX (France).

E. DUHOUX : Université Paris VII et Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales (ORSTOM/CIRAD-Forêt) - 45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle 94736 NOGENT-SUR-MARNE CEDEX (France).

## Effets du stress hydrique chez les végétaux Application à trois espèces du genre *Acacia*

J.-P. COLONNA, E. BRAUDEAU, P. DANTHU et I. KANE

Grâce aux symbioses multiples (COLONNA *et al.*, 1990, 1991 a ; DUCOUSSO *et al.*, 1991) formées avec rhizobiums et mycorhizes, les acacias adaptés à la sécheresse retiennent l'attention des agroforestiers pour le reboisement du Sahel. L'optimisation du fonctionnement de ces systèmes a été étudiée (BADJI *et al.*, 1988 ; COLONNA, 1991 b) et la transposition des résultats aux champs entreprise (COLONNA *et al.*, 1991 c ; SALL, 1992). Lorsqu'au milieu de la saison des pluies, le jeune arbre est planté, la reprise s'effectue parfaitement (98 %) ; si la seconde partie de cette saison est normale, il va grandir durant quelques semaines et confirmer son implantation ; si, au contraire, elle est déficitaire, la croissance nécessaire n'aura pas lieu et la pérennisation de la plantation sera aléatoire : ce déficit hydrique devient le facteur limitant principal. C'est surtout la croissance des racines en profondeur qui importe car les zones plus profondes du sol, humides plus longtemps, ne seront pas atteintes ; durant la longue saison sèche qui va suivre, le jeune plant en souffrira et pourra dépérir. Il nous faut donc sélectionner les espèces ou clones les plus aptes à la croissance rapide des racines en profondeur et surtout étudier les effets du stress hydrique sur le développement et le métabolisme du jeune plant.

Dans cette dernière optique, un outil expérimental a été testé ; il s'agit de buses en PVC (diamètre = 16 cm, hauteur = 150 cm) ; chaque buse reçoit une gaine de polyéthylène noir avec cinq petits trous à la base. Chaque gaine reçoit un poids identique de sol amené au préalable et uniformément à une teneur en eau donnée et un jeune plant de quatre semaines en bon état ; un disque de polyéthylène noir et 2 cm de sable réduisent les échanges hydriques entre surface du sol et atmosphère. L'originalité de la méthode réside dans les critères de choix des teneurs en eau constituant les traitements ; ce choix s'appuie sur des caractéristiques physiques du sol. Nous parlons de la courbe de rétractométrie (BRAUDEAU, 1988 a, b) d'un sol Dek-Dior de Bambey. De la saturation au point E (11,7 % d'eau, # capacité au champ), où commence le retrait de la phase argileuse, l'air remplace l'eau et la phase argileuse est à son volume maximal et constant ; C (5,5 %) correspond au point sec de la macroporosité, il y a ensuite réarrangement des particules d'argile ; à partir de B (3,3 %, # point de flétrissement), il n'y a plus d'eau disponible pour la plante ; de E à B on assiste au retrait de la phase argileuse à l'état saturé. Les traitements ont été choisis au-delà de ces points caractéristiques (13 %, 8 %, 5,8 %) et appliqués selon deux modalités : 1 : on reconstruit la perte en eau du système tous les quatre jours, ce qui correspond à une pluviométrie normale en 2<sup>e</sup> moitié d'hivernage ; 2 : la réserve d'eau n'est pas reconstruite, c'est le cas d'une fin d'hivernage sans pluies.

Sur ces principes, un essai factoriel (5 rép.) a été réalisé. Les traitements hydriques, au nombre de 5 (13 % reconstruits, 5,8 % R, 13 %, 8 %, 5,8 %) constituent le premier facteur contrôlé, le second est l'espèce avec trois niveaux : *Acacia tortilis s. sp. raddiana*, *A. senegal*, *A. dudgeoni*. La plantation et le début des traitements interviennent à 4, la récolte à 12 semaines de végétation. Quels résultats et conclusions cet outil expérimental peut-il apporter ? L'évolution de la croissance montre qu'en bonnes conditions hydriques, *A. raddiana* croît deux fois plus vite, donne cinq fois plus de feuilles et a des besoins en eau plus élevés que les deux autres espèces ; pour lui, le Tr13R fournit des résultats significativement supérieurs aux autres traitements ; ce n'est pas le cas pour les autres

espèces ; le Tr5.8, le plus pauvre en eau, donne toujours les résultats les plus faibles. A la récolte, en cas de modalité 2, par exemple, la hauteur, le diamètre au collet, le nombre de nœuds ou la longueur des ramifications donnent des résultats du même ordre pour les Tr13 et 8 et inférieurs pour Tr5.8 ; c'est l'inverse pour la longueur du pivot racinaire qui, devant un déficit hydrique, s'allonge et va chercher l'eau en profondeur ; pour ce paramètre et le diamètre au collet, la différence entre espèces n'est pas significative à ce stade ; en déterminant les teneurs finales en eau par tranches de 10 cm de sol, on connaît la consommation d'eau globale par buse : on a des différences entre traitements et espèces ; pour les traitements R, on additionne les pertes en eau, compensées tous les quatre jours. La masse de matière sèche et la longueur du système racinaire sont déterminées dans trois zones de sol : 0 à 50, 50 à 100, 100 à 150 cm, les correspondances avec la consommation d'eau par zones peuvent être établies ; les coefficients de corrélation entre ces valeurs peuvent être calculés (en cours). Le système doit toutefois rester plus étanche qu'ici.

En conclusion, l'outil expérimental et la méthode testés permettent déjà l'étude des effets de différents degrés de stress hydrique chez les végétaux mais peuvent subir quelques améliorations.

J.-P. COLONNA, E. BRAUDEAU, I. KANE : ORSTOM - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

P. DANTHU : ISRA-D.R.P.F./CIRAD-Forêt - B.P. 2312 - DAKAR (Sénégal).

## Deux ans de suivi *in situ* de la contrainte hydrique sur *Acacia raddiana* et *Acacia senegal*

A. BERGER, Ch. FOURNIER, G. NIZINSKI, M. GROUZIS

Les données écophysiological sur la réponse à la sécheresse des ligneux sahéliens sont rares. Pourtant la composante stress hydrique, bien que considérée comme secondaire par rapport aux perturbations humaines, reste un élément favorisant dans la régression de certaines espèces ligneuses du Sahel.

Une étude a été entreprise dans le cadre du programme HERBE-ARBRE, du laboratoire d'Ecologie végétale de l'ORSTOM/Dakar, pour préciser le régime hydrique de six espèces ligneuses dont deux acacias (*A. tortilis* ssp. *raddiana* et *A. senegal*) coexistant dans le Ferlo (Nord-Sénégal).

Les phénomènes hydriques marquants semblent liés à la phénologie de ces deux espèces à feuillage caduque. On observe notamment, en pleine saison sèche, des phénomènes hydriques particuliers (diminution brutale de la tension de sève, accompagnée probablement par une augmentation de la pression osmotique de la sève brute). On peut penser que ces phénomènes préparent le débourrement précoce des bourgeons (précession de la feuillaison) et qu'ils sont vraisemblablement de même nature que ceux observés, en fin d'hiver, sur certains arbres à feuillage caduque des zones tempérées.

L'étude de la conductance stomatique montre que *A. senegal* se caractérise par une conductance stomatique maximale ( $0,44 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) plus élevée que celle de *A. raddiana* ( $0,32 \text{ mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ). Sur les deux espèces, la régulation de la transpiration s'effectue beaucoup plus par l'effet du déficit de saturation hydrique de l'air qui, au-delà d'un certain seuil, provoque une fermeture des stomates, que par l'état hydrique interne des feuilles.

Chez *A. raddiana*, des données globales sont apportées sur l'extension verticale et horizontale des profils d'extraction racinaire. Cependant, une tentative de relier l'état hydrique du

végétal à celui du sol amène à envisager l'existence d'une dynamique spatiale et temporelle des racines actives, dont la liaison avec la phénologie aérienne reste à mettre en évidence.

A. BERGER, Ch. FOURNIER : C.E.F.E./C.N.R.S. - B.P. 5051 - 34033 MONTPELLIER CEDEX (France).

Ch. FOURNIER, G. NIZINSKI, M. GROUZIS : Laboratoire d'Ecologie végétale, ORSTOM, Centre de Hann - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

## Biologie de la reproduction chez *Acacia albida*

Y. K. GASSAMA-DIA

Cette communication présente les premiers résultats concernant l'étude de la biologie de la reproduction chez *Acacia albida*.

La pollinisation a été étudiée sur trois populations d'arbres évoluant au Sénégal dans une zone tropicale semi-aride.

Le taux de fécondation est beaucoup plus élevé sur les fleurs apicales protogynes (67 %) que sur les fleurs basales protandres (11 %). Le pollen observé est constitué d'un ensemble de monades agrégées en polyade ; leur nombre varie de 24 à 32 par polyade. Le nombre d'ovules par carpelle varie de 20 à 25. Le rapport nombre de monades/nombre d'ovules fournit une bonne indication sur la nature du système de reproduction chez la plupart des Angiospermes. Chez *Acacia albida*, ce rapport est en moyenne de 1,5 et le pourcentage du remplissage du carpelle est de 75 % avec un rapport pollen/graine voisin de 1,8. Ces différents paramètres sont caractéristiques d'une pollinisation croisée, entomophile, comme c'est le cas chez la plupart des Mimosacées.

Le test de germination *in vitro*, couplé avec le test histochimique FCR, donne une bonne indication de la qualité du pollen émis et de la durée de viabilité des monades.

En testant la qualité du pollen émis par *Acacia albida*, il a été constaté que 15 % environ des monades, au moment où ils sont libérés, sont non viables ; 85 % des monades sont viables dont 55 % d'entre eux présentent une intense fluorescence ; le test de germination *in vitro* a montré que, dans nos conditions optimales de culture, 52 % à 66 % présentent de réelles capacités germinatives.

Y. K. GASSAMA-DIA : Dépt. de Biologie Végétale, Faculté des Sciences - UCAD - DAKAR (Sénégal).

## Polyades de quelques acacias (*Leguminosae*) : aspects stéréo-structuraux, détection des éléments inorganiques, tests de germination

A. CAUNEAU-PIGOT, A.-M. VERHILLE,  
M.-Th. CERCEAU-LARRIVAL

Notre étude porte sur sept espèces d'acacias avec une origine géographique différente.

Après quelques rappels sur la formation du gamétophyte mâle (pollen), nous nous intéressons à l'aspect structural de ces pollens particuliers, libérés de l'anthere sous forme de polyades, composées d'un certain nombre de grains de pollen simples appelés monades. Ce travail nous permet d'établir une relation entre la stéréostructure, la composition minérale de la paroi externe des monades et la biogéographie de ces espèces.

Au niveau de la stéréostructure de l'exine, nous constatons, chez certaines espèces, la présence de microperforations en relation avec des microcanaux. Ce type de structure nous rappelle celle observée chez les pollens allergisants, où nous avons pu établir un lien entre la présence de ces microcanaux et l'allergénicité de ce type de pollen.

Par ailleurs, une analyse en spectrométrie X par énergie dispersive couplée à la microscopie électronique à balayage, permettant la détection des éléments inorganiques, montre, pour les espèces possédant ces microcanaux comme pour les pollens allergisants, une dominance des ions  $K^+$ . Cette dominance n'apparaît pas chez les pollens des autres espèces dépourvues de microcanaux. Y aurait-il des acacias à pollen allergisant ?

Une dernière recherche, portant sur les tests de germination *in vitro* des pollens frais et des pollens conservés, complète ce travail. En effet, il est important de vérifier la qualité biologique du pollen au niveau d'un individu, mais aussi au niveau d'une population et même d'une espèce, afin d'établir un rapport fertilité/stérilité en vue de créer une Banque de Pollens utilisée pour des pollinisations contrôlées ou différées.

Cette dernière partie nous permet aussi de mettre en corrélation l'aspect structural du pollen et son degré de fertilité.

A. CAUNEAU-PIGOT, A.-M. VERHILLE, M.-Th. CERCEAU-LARRIVAL : Laboratoire de Palynologie, Muséum National d'Histoire Naturelle - 61, rue Buffon - 75005 PARIS (France).

## Caractérisation des rhizobiums d'acacias sahéliens

M. NEYRA, P. DE LAJUDIE, A. WILLEMS, C. BOIVIN,  
M. GILLIS, B. DREYFUS

La position taxonomique et la diversité des rhizobiums d'acacias sont encore très mal connues. Afin de mieux caractériser les rhizobiums à croissance rapide associés à différents acacias sahéliens, nous avons mené une étude polyphasique sur une soixantaine d'isolats, obtenus à partir de nodules d'*Acacia senegal* et *A. raddiana* principalement.

L'analyse numérique des profils électrophorétiques des protéines totales et celle de la capacité à assimiler 147 substrats carbonés différents montrent qu'une grande partie de ces isolats se retrouvent dans deux groupes distincts. L'un de ces groupes (groupe A) ne comprend que des souches isolées d'*Acacia spp.* ; l'autre (groupe SA) comprend des souches isolées d'*Acacia spp.* et de *Sesbania rostrata*.

Le spectre d'hôte des souches du groupe A est plus ou moins restreint à *Acacia spp.*, tandis que les souches du groupe SA présentent une spécificité d'hôte moins grande et nodulent des *Acacia sp.* et des *Sesbania sp.*

Les souches du groupe A montrent une croissance jusqu'à une température de 42 °C ; la plupart des souches du groupe SA se développent jusqu'à 44 °C.

Toutes les souches du groupe SA portent au moins un mégaplasmide ( $\geq 1\ 500$  kb) et un ou plusieurs plasmides additionnels de tailles variées (70 kb à > 600 kb). En revanche, aucun plasmide n'a été mis en évidence dans les souches du groupe A.

Des hybridations croisées ADN : ARNr ainsi que le séquençage de l'ARN 16S de représentants des deux groupes ont permis de préciser leur appartenance au genre *Rhizobium* ; de plus, ces expériences ont montré la parenté des souches du groupe A avec *Rhizobium loti* et celle du groupe SA avec *R. meliloti*.

Enfin des hybridations ADN : ADN permettent d'affirmer que ces deux groupes sont génomiquement distincts des espèces de *Rhizobium* déjà connues et constituent donc deux nouvelles espèces de *Rhizobium*.

M. NEYRA, P. DE LAJUDIE, C. BOIVIN, B. DREYFUS : Laboratoire de Microbiologie, ORSTOM - DAKAR (Sénégal).

A. WILLEMS, M. GILLIS : Laboratorium voor Microbiologie, Faculteit Wetenschappen - GAND (Belgique).

## Diversité et caractérisation des populations de *Bradyrhizobium nodulans* *Acacia albida*

N. DUPUY, M. GILLIS, M. NEYRA, B. DREYFUS

Un grand nombre de souches nodulantes *Acacia albida* a été isolé à partir de sols de surface et de profondeur à la fois dans la zone écoclimatique sahélienne et dans la zone soudano-guinéenne. Ces souches ont été testées pour leur capacité à noduler *Acacia albida* et à fixer l'azote. Dans la région sahélienne, les souches sont, dans leur grande majorité, inefficaces. En zone soudano-guinéenne, toutes les souches isolées sont efficaces. Dans les sols de profondeur, la présence des populations de *Bradyrhizobium* est étroitement liée à la présence de racines d'*Acacia albida*. Ces observations permettent d'envisager une amélioration de la fixation d'azote par inoculation en pépinières de souches performantes, notamment en région sahélienne.

La position taxonomique des souches a été déterminée en fonction du site et de la profondeur d'isolement. La majorité d'entre elles appartient au genre *Bradyrhizobium* et constitue huit groupes électrophorétiques contenant des souches de référence de *Bradyrhizobium japonicum* et *Bradyrhizobium sp.* Ainsi, les souches isolées de nodules d'une même légumineuse présentent-elles une grande diversité. Trois groupes renferment exclusivement des souches nodulantes *Acacia albida* et constituent sans doute de nouvelles espèces de *Bradyrhizobium*. Les souches isolées par forage d'un même site sont électrophorétiquement homogènes alors qu'une grande hétérogénéité est observée pour les souches isolées dans des sites variés au nord et au sud du Sénégal. Dans un même site de forage, les souches isolées en profondeur, au niveau de la nappe phréatique, ne sont pas taxonomiquement différentes des souches isolées en surface.

N. DUPUY, M. NEYRA, B. DREYFUS : Laboratoire de Microbiologie, ORSTOM - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

M. GILLIS : Laboratorium voor Microbiologie, Universiteit Gent, K.L. Ledeganckstraat 35 - B-9000 GAND (Belgique).

## Observations préliminaires des spores de *Glomales* dans deux parcs à *Faidherbia albida* A. Chev. au Sénégal

M. DUCOUSSO, A. T. DIALLO, I. SAMB, M. BATCHO

Pour sa valeur agronomique, les paysans de certaines régions du Sénégal préservent traditionnellement les *Faidherbia albida*

présents dans leurs champs. Des travaux préliminaires menés au Sénégal ont permis de mettre en évidence, notamment pour le mil, des rendements maximaux à la limite de la frondaison de cette espèce. Le rôle des endomycorhizes dans ce système de culture n'étant pas encore connu, nous avons choisi, dans un premier temps, d'observer les populations de spores de champignons endomycorhiziens (*Glomales*) qui constituent, avec le mycélium et les fragments de racines infectées, un élément du potentiel endomycorhizien du sol. A proximité de la localité de Touba Toul, deux parcs à *F. albida* qui diffèrent principalement par l'âge des individus qui les composent (un parc composé exclusivement d'individus âgés et un parc en régénération où toutes les classes d'âge sont représentées) ont été retenus pour cette étude. Dans chacun de ces parcs, huit prélèvements de sol ont été effectués entre 10 et 30 cm de profondeur, à la limite de la frondaison des *F. albida*, et huit prélèvements en plein champ, à une distance égale ou supérieure à cinq fois la distance tronç-limite de la frondaison des arbres environnants. Le sol prélevé, environ 30 litres, est tamisé sur place avec un tamis à mailles carrées de 2 mm et homogénéisé. Après extraction selon la méthode du tamisage humide, les spores ont été observées à la loupe binoculaire sur trois échantillons de 100 g de sol pour chaque prélèvement. Les trois mesures réalisées sur chaque échantillon nous ont permis de vérifier l'homogénéité de nos prélèvements avec un coefficient de variation inférieur à 5 %. Des différences sont constatées sur la présence des spores rares (de 0 à 4 spores par 100 g). Sur l'ensemble de nos observations, les genres *Glomus* et *Gigaspora* représentent respectivement 53 et 35 % de l'effectif total des spores observées ; ces proportions varient peu d'un prélèvement à l'autre. Dans le parc en régénération, on n'observe pas de modification significative dans la composition des populations de spores en fonction de la situation du prélèvement par rapport à l'arbre. Pour 95 % de ces observations, le nombre de spores pour 100 g de sol est compris entre 68 et 130 réparti entre 8 à 10 types différents. Dans 95 % des cas, on observe dans le parc âgé :

- la limite de la frondaison des arbres, entre 52 et 96 spores par 100 g de sol réparti entre 5 à 7 types différents.
- En plein champ, entre 111 et 177 spores par 100 g de sol réparti entre 8 et 12 types différents.

Le dispositif adopté nous a permis de mettre en évidence :

- la grande homogénéité des résultats dans un même prélèvement, sauf pour les spores rares ;
- une proportion *Glomus/Gigaspora* bien conservée sur l'ensemble des observations ;
- une différence significative du nombre et de la diversité des spores entre les sites de prélèvement dans le parc âgé.

L'importante variabilité observée dans les traitements a limité notre dispositif à la mise en évidence de variations très importantes entre les traitements. Ces limites sont, sans doute, à l'origine du fait qu'on n'observe pas de différences significatives entre les sites de prélèvements dans le parc en régénération. A ce titre, il serait important de préciser les observations réalisées dans ce parc en faisant plus de répétitions.

Par ailleurs, il apparaît indispensable de mettre en relation ces résultats avec des observations sur le rendement des cultures, leur taux d'endomycorhization et les dynamiques des racines fines et du mycélium en précisant leurs rôles comme source d'inoculum endomycorhizien.

M. DUCOUSSO : CIRAD-Forêt/ISRA-D.R.P.F. - B.P. 2312 - DAKAR (Sénégal).

A. T. DIALLO, I. SAMB, M. BATCHO : Département de Biologie Végétale, UCAD - B.P. 5005 - DAKAR (Sénégal).

## Les endomycorhizes d'*Acacia albida* Ecologie et méthodes axéniques de culture

T. A. DIOP, C. PLENCHETTE, D. G. STRULLU

Différentes espèces de champignons mycorhiziens à vésicules et arbuscules vivent étroitement en association avec les racines d'*Acacia* dans les sites traditionnels de l'arbre. Des prospections de sols effectuées dans deux localités de la zone sahélienne (DIOKOUL et LOUGA) et dans deux autres de la zone soudano-guinéenne (KABROUSSE et DJINAKI) ont montré une intense vie symbiotique depuis les horizons supérieurs jusqu'aux nappes phréatiques. L'âge des arbres, les saisons et les caractéristiques physico-chimiques des sols ont une influence sur la répartition, la viabilité et l'infectivité des champignons MVA indigènes.

Pour une caractérisation des souches de surface et de profondeur, des cultures monosporales sont effectuées en serre et en conditions axéniques. Nous avons mis au point des méthodes aseptiques facilement reproductibles de production de mycorhizes VA. Les expériences *in vitro* à partir des fragments de racines de poireau colonisées par *Glomus intraradices* et *Glomus versiforme*, en association avec des racines isolées de tomate, ont donné d'importantes propagules néoformées. La réassociation de l'inoculum produit avec des semis d'*A. albida* a révélé des taux satisfaisants de colonisation racinaire. Par ces méthodes axéniques de culture, nous avons mis en évidence pour la première fois une réelle capacité de fragments de racines mycorhiziens (0,5 cm) à produire des hyphes mycéliens aptes à croître de façon indépendante et à sporuler sans association avec un autre partenaire végétal.

En résumé, ces méthodes microbiologiques sont appropriées pour les souches MVA de la rhizosphère d'*Acacia albida* en vue :

- d'une caractérisation morphologique et génétique par les outils de la biologie moléculaire,
- d'une constitution d'une banque de champignons mycorhiziens au Sénégal.

T. A. DIOP : Laboratoire de Microbiologie des Sols, ORSTOM - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

C. PLENCHETTE : INRA, Station d'Agronomie, B.V. 1540 - 21034 DIJON (France).

D. G. STRULLU : Université d'Angers, 2, Bd. Lavoisier - 49045 ANGERS (France).

## Etude histologique et ultrastructurale de l'infection et du développement des nodules chez *Acacia albida*

N. DUPUY, F. DE BILLY, B. DREYFUS, G. TRUCHET

L'étude de l'infection et de l'ontogénèse des nodules d'*Acacia albida* a été réalisée. Notre travail a montré plusieurs caractères intéressants. L'inoculation par la souche de *Bradyrhizobium sp.* (ORS 188) a pour effet l'individualisation de zones racinaires qui se caractérisent par l'induction de poils absorbants, d'origine épidermique et corticale, et par l'induction de nombreuses modifications cytologiques, comme les divisions au niveau des cellules du cortex et la formation de ponts cytoplasmiques. La préparation des cellules végétales à l'infection aboutit à la formation d'un renflement racinaire « pilié » impliquant probablement l'existence de facteurs bactériens diffu-

sibles. Le mode d'infection, intercellulaire, conduit à la formation de cordons infectieux dans une lignée cellulaire de surface autre que l'épiderme et plus exactement à l'extrémité digitée de cellules corticales externes. Simultanément, un méristème est induit au niveau de cellules corticales internes. L'invasion des cellules méristématiques par les bradyrhizobiums et le gradient de différenciation disto-proximale des cellules envahies observés sur les nodules en développement sont caractéristiques des nodules de type indéterminé. Les cellules méristématiques sont envahies par les bactéries par un mécanisme rappelant l'endocytose. L'augmentation progressive du nombre de symbiosomes renfermant un nombre toujours croissant de bactéroïdes accompagne la différenciation du tissu fixateur. A maturation, les nodules d'*Acacia albida* sont de type déterminé et caractérisés par un tissu central unique entouré de tissus périphériques dans lesquels cheminent les vaisseaux conducteurs.

N. DUPUY, B. DREYFUS : Laboratoire de Microbiologie, ORSTOM - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

F. DE BILLY, G. TRUCHET : Laboratoire des Relations Plantes-Micro-organismes, INRA-C.N.R.S. - B.P. 27 - 31326 CASTANET-TOLOSAN (France).

### Les stades précoces de la nodulation chez *Acacia mangium*

Y. PRIN, P. REDDELL

Le processus d'infection d'*Acacia mangium* par la souche de *Bradyrhizobium sp.* Aust 13c a été étudié en conditions monoxéniques. Le système de culture utilisé consistait en une bande de papier de « Growth Pouch » placée dans un tube à essai 25 × 250 mm avec un milieu de Broughton and Dillworth sans azote.

L'observation des contrôles non inoculés révèle que le système racinaire d'*A. mangium* est extrêmement pauvre en poils absorbants, ceux-ci se présentant sous la forme d'excroissances très courtes, souvent situées sur les racines latérales, au niveau du point d'émergence de ces racines.

La première manifestation visible du processus d'infection consiste en une prolifération des rhizobiums au niveau de la couche mucilagineuse recouvrant la racine. Le pré-nodule se présente sous la forme d'un renflement faisant éclater les tissus superficiels de la racine, visible cinq jours après inoculation. Les nodules se développent la plupart du temps sur les racines latérales, au niveau du point d'émergence.

L'examen de coupes histologiques de jeunes nodules révèle la présence de cordons d'infection situés dans les poils absorbants, cette présence étant corrélée de manière précoce avec l'apparition de composés de type tannins au niveau des cellules sous-jacentes du cortex racinaire. Lors des stades ultérieurs de développement du nodule, la zone des cellules infectées apparaît délimitée par une ceinture continue et très dense de cellules à tannins qui pourrait jouer, entre autres, un rôle de protection contre d'éventuelles surinfections.

Y. PRIN : Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales (ORSTOM/CIRAD-Forêt) - 45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle - 94736 NOGENT-SUR-MARNE CEDEX (France).

P. REDDELL : CSIRO, Division of Soils, Private Mail Bag - P.O. Aitkenvale - QLD 4814 (Australie).

### La symbiose *Acacia mangium-Bradyrhizobium* Interactions entre les provenances et la fertilisation phosphatée à différentes concentrations

V. VADEZ, G. LIM, P. DURAND, H. G. DIEM

Cette étude a été entreprise pour évaluer la croissance, la nodulation et la fixation d'azote ainsi que les teneurs en P dans les plantes et les nodules de quatre provenances d'*Acacia mangium* en réponse à la fertilisation phosphatée.

Les résultats montrent que cette légumineuse ligneuse ne semble pas présenter des exigences très élevées en P. D'après les estimations de la croissance, la nodulation et la fixation d'azote, les réponses des provenances d'*A. mangium* sont significativement différentes suivant que ces provenances sont cultivées en présence de fortes ou de faibles concentrations en P.

L'analyse statistique montre que l'effet du facteur « apport de P » est significatif seulement pour les apports inférieurs à 250 µM de P. Au-dessus de cette concentration, seul l'effet du facteur « provenance » est significatif sur la nodulation et la fixation d'azote. Ces résultats montrent que, pour *A. mangium*, l'étude des provenances de la plante-hôte est une priorité dans la recherche des symbioses efficaces.

Ce travail souligne l'intérêt de combiner l'étude des provenances et de la fertilisation phosphatée à forte et à faible concentrations comme recherche préalable pour sélectionner des provenances performantes et pour identifier les provenances les plus propices à la mycorhization.

V. VADEZ, G. LIM : Dépt. de Botanique, Université nationale de Singapour.  
P. DURAND : CIRAD-Forêt, Selegie Complex 14-275, 257 Selegie Road SINGAPORE 0718.

H. G. DIEM : Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales (ORSTOM/CIRAD-Forêt) - 45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle - 94736 NOGENT-SUR-MARNE CEDEX (France).

### Détermination des besoins en oligoéléments des légumineuses forestières tropicales Rôle du fer sur la nodulation et la fixation d'azote chez *Acacia mangium* et *Faidherbia albida* (syn. *Acacia albida*)

D. LESUEUR, M. DIANDA, O. LAURENCE, C. LE ROUX,  
H. G. DIEM

Dans le cadre d'une étude générale sur les relations écophysiologiques entre les symbioses forestières fixatrices d'azote et leur environnement tropical, nous avons identifié les éléments minéraux, et plus particulièrement les oligoéléments, qui sont exigés par la symbiose *Acacia mangium-Bradyrhizobium* pour se former et fonctionner de manière optimale. Nous avons ainsi montré que, parmi les six oligoéléments testés (fer, cuivre, cobalt, bore et molybdène), le fer était celui qui semblait être le plus indispensable pour l'établissement et/ou le fonctionnement de cette symbiose. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à l'étude sur les besoins en fer des plantes inoculées et non inoculées d'*Acacia mangium*, et, à titre de comparaison, de *Faidherbia albida*. Nous avons ainsi montré que les apports croissants de citrate de fer dans le milieu de culture augmentaient significativement la croissance et la nodulation des plantes inoculées. En revanche, la croissance des plantes non inoculées mais bénéficiant d'un apport d'azote combiné (KNO<sub>3</sub>) n'a été que très faiblement stimulée par des apports croissants de fer dans le milieu de culture. Il est probable qu'il

y ait, chez ces plantes, une interaction négative entre les nutriments azotés et ferriques.

Au cours de cette étude, la nodulation est apparue comme étant particulièrement sensible à la teneur en citrate de fer dans le milieu de culture puisque aux faibles concentrations (0 et 0,5  $\mu\text{M}$  de citrate de fer), les plantes d'*Acacia mangium* étaient peu ou pas nodulées par *Bradyrhizobium*. Les premiers résultats que nous avons obtenus suggèrent même que le fer serait indispensable dès les premiers stades de l'infection et de l'initiation des nodules. Concernant la nodulation des plantes de *Faidherbia albida*, elle a semblé être moins sensible aux conditions de carence en fer que celles des plantes d'*Acacia mangium*. Cependant, bien que ces deux espèces d'acacia aient des exigences en fer sensiblement différentes, nous avons montré que, comme chez le lupin, une trop faible teneur en fer dans le milieu de culture était surtout préjudiciable pour la nodulation des plantes d'*Acacia mangium* et de *Faidherbia albida*.

L'ensemble de nos résultats démontre bien que l'établissement et le fonctionnement d'une symbiose forestière fixatrice d'azote est étroitement dépendante des facteurs nutritionnels dans le sol. Au vu de nos résultats, la symbiose *Acacia mangium-Bradyrhizobium* est un excellent modèle pour étudier le rôle du fer dans le processus de la fixation symbiotique de l'azote et la physiologie de la croissance de la plante-hôte.

D. LESUEUR, M. DIANDA, O. LAURENCE, C. LE ROUX, H. G. DIEM : Laboratoire de Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales (CIRAD-Forêt/ORSTOM) - 45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle - 94736 NOGENT-SUR-MARNE CEDEX.

M. DIANDA : IRBET/C.N.R.S.T. - OUAGADOUGOU (Burkina Faso).

### Estimation de l'azote atmosphérique fixé par *Acacia mangium* en plantation à l'âge de deux ans par la méthode de l'abondance isotopique naturelle en $^{15}\text{N}$

A. GALIANA, B. MALLET, P. BALLÉ,  
A. N'GUESSAN KANGA, A.-M. DOMENACH

Une expérimentation au champ a été réalisée à Port-Bouët sur des sols sableux quaternaires littoraux de Côte-d'Ivoire. Cet essai avait pour but de déterminer le pourcentage d'azote atmosphérique fixé au niveau des feuilles d'*Acacia mangium* au sein d'une plantation d'un hectare environ, âgée de deux ans. Deux facteurs ont été testés : le facteur « Souche de rhizobium » et le facteur « Bloc ». Le facteur « Souche de rhizobium » comprend trois traitements différents : un traitement témoin correspondant à des arbres non inoculés ; un traitement avec des arbres inoculés avec la souche de *Bradyrhizobium sp.* CB 756 peu effective vis-à-vis d'*A. mangium* et un traitement avec des arbres inoculés avec la souche de *Bradyrhizobium sp.* Aust13c d'effectivité élevée. Ces trois traitements « Souche de rhizobium » sont représentés dans chacun des trois blocs qui constituent l'essai. Le bloc I était recouvert avant plantation par une friche dense de *Pueraria phaseoloides*, Légumineuse herbacée vivace, tandis que les blocs II et III sur des sols moins fertiles étaient recouverts par la graminée *Imperata cylindrica*. Dans cet essai, toutes les parcelles unitaires d'*A. mangium* (30 arbres par placeau) sont séparées les unes des autres par quatre rangées d'*Eucalyptus urophylla* utilisées comme plantes de référence non fixatrices.

Après 21 mois de croissance, on observe un effet positif significatif de l'inoculation des plants avec la souche Aust13c sur leur croissance avec un gain en hauteur de 13 % et en surface

terrière de 20 % par rapport aux plants témoins non inoculés. Les arbres inoculés avec la souche CB756 ont une hauteur et une surface terrière moyennes non significativement différentes de celles des arbres témoins non inoculés. Les arbres des blocs I et II ont une croissance significativement supérieure à celle des arbres du bloc III, respectivement de 8 % et 18 % en hauteur et de 34 % et 18 % en surface terrière, tous traitements « Souches de rhizobium » confondus.

L'abondance isotopique naturelle en  $^{15}\text{N}$  a été mesurée dans les feuilles à partir d'échantillons représentatifs prélevés sur 8 *A. mangium* et 8 *E. urophylla* adjacents par parcelle unitaire, soit 72 *A. mangium* et 72 *E. urophylla* au total répartis sur l'ensemble de la parcelle. Avec un coefficient d'enrichissement isotopique  $\epsilon_{\text{fix}}$  moyen égal à  $-0,4$ , qui a été mesuré à partir d'*A. mangium* inoculés avec la souche Aust13c et cultivés sur un milieu minéral sans azote, le pourcentage d'azote fixé contenu dans les feuilles des *A. mangium*, âgés de 21 mois, varie de 19,1 à 87,9 % selon les blocs et le traitement « Souche de rhizobium » considérés. Les feuilles des *A. mangium* inoculés avec la souche Aust13c ont une teneur en azote significativement plus élevée (60,2 %) que les feuilles des arbres inoculés avec la souche CB 756 (53,5 %) ou celles des arbres témoins non inoculés (40,4 %), tous traitements « Blocs » confondus. La quantité d'azote fixé par les arbres est fortement accrue sur les blocs reposant sur des sols pauvres en azote. En effet, les feuilles des *A. mangium* des blocs II et III, où le sol était recouvert d'*Imperata* à l'origine, ont une teneur en azote fixé 2,4 fois plus élevée que celle des arbres du bloc I, au sol plus fertile et recouvert initialement de *Pueraria*, tous traitements « Souches de rhizobium » confondus (63 % et 64 % contre 26,7 % respectivement).

A. GALIANA : Laboratoire de Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales - CIRAD-Forêt/ORSTOM - 45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle-94736 NOGENT-SUR-MARNE CEDEX (France).

B. MALLET : CEE, DG XI-B 1/71, 174, Bd. du Triomphe - B 1019, BRUXELLES (Belgique).

P. BALLÉ, A. N'GUESSAN KANGA : IDEFOR/Département de la Foresterie - 08BP33 - ABIDJAN 08 (Côte-d'Ivoire).

A.-M. DOMENACH : Université de Lyon I, 43, Bd. du 11 novembre 1918 - Bât. 741 - 69622 VILLEURBANNE CEDEX (France).

### Comparaison de la fixation d'azote chez plusieurs provenances d'*Acacia albida*

M. DIANDA, A. BÂ, N. DUPUY, B. DREYFUS

Les Légumineuses et leurs partenaires bactériens présentent une variabilité naturelle qui peut être exploitée pour améliorer l'efficacité de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique. Un dispositif hydroponique sans azote a été utilisé pour analyser de façon précoce l'influence de deux facteurs (provenances des semences et isolats bactériens) sur la fixation d'azote et la croissance de l'*Acacia albida*. L'analyse statistique des paramètres de croissance (longueur et poids sec des parties aériennes et racinaires) et de la fixation d'azote (nombre et poids sec des nodules, quantité d'azote dans les plants) montre un effet hautement significatif des isolats bactériens et de l'origine géographique des semences. L'interaction provenances d'*Acacia albida* et isolats de *Bradyrhizobium* est significative pour le poids sec des tiges et des nodules, et hautement significative pour la quantité d'azote. Ce résultat préliminaire suggère que les provenances d'*Acacia albida* et les isolats de *Bradyrhizobium* doivent être sélectionnés simultanément. L'intérêt du test précoce de la variabilité de la fixation d'azote *in vitro* est discuté à la lumière des résultats obtenus

chez *Acacia albida* et chez d'autres espèces élevées en pots ou au champ.

M. DIANDA, A. BÂ : Laboratoire de Microbiologie Forestière, IRBET/C.N.R.S.T. - B.P. 7047 - OUAGADOUGOU (Burkina Faso).

N. DUPUY, B. DREYFUS : Laboratoire de Microbiologie, ORSTOM, B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

## Les symbioses *Acacia-Rhizobium* Comparaison de la fixation biologique de l'azote chez quatre acacias sahéliens

I. NDOYE, M. GUEYE

La nodulation et le potentiel fixateur d'azote de *Acacia raddiana*, *Acacia senegal*, *Acacia seyal* et *Faidherbia albida* ont été mesurés après cinq mois de culture dans des pots contenant 20 kg de sol. Il est apparu que *A. seyal* peut être classé parmi les arbres à haut potentiel fixateur d'azote à cause de sa nodulation profuse (6,58 g de nodules secs par plante) et de sa quantité d'azote fixé relativement élevée (1,62 g N par plante). En revanche, *A. raddiana*, *A. senegal* et *Faidherbia albida* devraient être classés parmi les arbres à faible potentiel fixateur d'azote car ayant produit respectivement 0,22, 0,01 et 0,82 g de nodules secs par plante pour une quantité d'azote fixé de 0,52, 0,35 et 0,40 g N par plante.

Néanmoins, la contribution de *F. albida* à l'amélioration de la fertilité des sols par le biais de la fixation de l'azote a été plus importante que celle des autres acacias : 81 % de l'azote fixé par *F. albida* se trouvent dans les parties qui retournent au sol (feuilles et racines) contre une moyenne de 67 % pour les autres acacias. Ceci confère à *F. albida* un intérêt agronomique plus important que celui des autres acacias. Cependant, à cause de son faible potentiel fixateur et de sa croissance lente, il est envisagé de le greffer sur *A. seyal*. Cette approche est probablement plus fructueuse et plus prometteuse pour améliorer la croissance et l'aptitude de *F. albida* à fixer l'azote.

I. NDOYE : Université C.A.DIOP, Département de Biologie Végétale - B.P. 5005, DAKAR (Sénégal).

M. GUEYE : MIRCEN/Centre, ISRA-ORSTOM - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

## La réponse de *Faidherbia albida* A. Chev. et *Acacia mangium* Willd. à l'inoculation au champ avec des souches de *Bradyrhizobium* sp.

B. SOUGOUFARA, M. DUCOUSSO, B. DREYFUS

Deux expérimentations au champ ont été menées en Casamance, au Sénégal. Dans les deux cas, des plants de *Faidherbia albida* et *Acacia mangium* ont été produits dans des pépinières villageoises. Au semis, *F. albida* et *A. mangium* ont été inoculées ou non, respectivement par *Bradyrhizobium* sp. ORS 128 et ORS 800. Deux mois après, les jeunes plants ont été transplantés au champ à Sédhiou (pluviométrie d'environ 1 000 mm . an<sup>-1</sup>) et à Oukout (pluviométrie d'environ 1 300 mm . an<sup>-1</sup>).

Huit mois après la transplantation, des données portant sur la hauteur, le pourcentage d'azote dans les feuilles mesuré par la méthode Kjeldhal et le taux de survie des plants ont été recueillies. Leur analyse a montré : une réponse positive significative d'*A. mangium* à l'inoculation à Sédhiou et à Oukout ; une réponse négative significative ou l'absence d'effet significatif de l'inoculation de *F. albida* dans les essais conduits respectivement à Sédhiou et à Oukout.

Les premiers résultats de ces essais au champ ont montré, en ce qui concerne *A. mangium*, un important gain de croissance et de résistance des plants aux conditions environnementales locales, gain que l'on peut attribuer à l'inoculation par la souche ORS 800. En ce qui concerne *F. albida*, les effets observés : réponse négative significative ou absence d'effet significatif de l'inoculation, ont probablement, en partie, leur origine dans la grande compétitivité et la faible effectivité de la souche ORS 128 par rapport aux souches natives.

B. SOUGOUFARA : MEPN/ORSTOM - B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

M. DUCOUSSO : CIRAD-Forêt/ISRA-D.R.P.F. - B.P. 2312 - DAKAR (Sénégal).

B. DREYFUS : Laboratoire de Microbiologie des Sols, ORSTOM, B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal).

## EN CONCLUSION A CES JOURNÉES

Bien souvent on attribue aux seules causes socio-économiques la faillite des tentatives d'aménagement du terroir, notamment celles qui impliquent le développement de plantations forestières, agroforestières, ou sylvopastorales, quel qu'en soit le financement. Mais il ne faut pas oublier que les échecs rencontrés sont souvent d'origine technique, le matériel végétal utilisé étant inadapté au milieu ou insuffisamment productif et les méthodes de plantation trop sommaires. C'est pourquoi l'Atelier qui s'est déroulé à Nogent-sur-Marne les 24 et 25 juin derniers vient à point nommé pour diffuser les résultats les plus récents des travaux effectués en Afrique sur les Symbioses *Acacia-Rhizobium*, les nouvelles connaissances acquises contribuant à l'essor d'une sylviculture et d'une agroforesterie durables.

Les communications présentées ont porté sur un nombre limité d'espèces d'*Acacia*, la plupart natives d'Afrique, choisies parmi les plus prometteuses. Les exposés ont couvert un large spectre de problèmes allant de la biologie de chacun des partenaires des symbioses *Acacia-Rhizobium* à l'établissement et l'amélioration du fonctionnement de ces symbioses.

La diversité étonnante des rhizobiums impliqués, qui a été décelée par l'école dakaraise en utilisant les méthodes les plus récentes de biologie moléculaire, est telle que les données actuelles de la taxonomie de ces bactéries symbiotiques ont été remises en question. Les symbioses fixatrices d'azote chez les Légumineuses forestières tropicales n'impliqueraient pas seulement les trois espèces de rhizobium désormais classiques (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium* et *Azorhizobium*) mais aussi un nombre plus grand d'espèces, qui se rattacheraient elles-mêmes à des groupes bactériens relativement éloignés les uns des autres. Outre les retombées fondamentales évidentes, ces résultats ne manqueront pas de contribuer à l'amélioration du matériel bactérien qui sera bientôt mis à notre disposition pour les inoculations en pépinière ou au champ.

Deux études sur la symbiose endomycorhizienne chez *Faidherbia albida* ont été présentées. Un des résultats les plus originaux concerne le fait que les champignons endomycorhiziens colonisent le système racinaire profond d'*Acacia albida* (35 m de profondeur). En revanche, l'obtention en boîte de Petri de croissances hyphales de *Glomus spp.* n'est pas une nouveauté et l'on est, hélas, encore très loin de la maîtrise de la culture *in vitro* des champignons endomycorhiziens vésiculo-arbusculaires.

En faisant appel à l'étude des zymogrammes et à des approches plus traditionnelles (morphologie notamment), plusieurs chercheurs ont mis en évidence une forte ou très forte variabilité inter- et intraprovenance, notamment chez *A. raddiana*, *Faidherbia albida*. Dans le cas d'*A. senegal* on a confirmé l'existence des deux

phénotypes « gris clair » et « gris foncé ». Pratiquement c'est la variabilité inter- et intraprovenance que l'on exploite en multipliant végétativement les clones d'élite grâce à différents procédés adaptés à chacune des espèces considérées. Dans le cas particulier de *Faidherbia albida*, on a proposé deux méthodes entièrement nouvelles de propagation : il s'agit du bouturage des racines et de la culture *in vitro* de racines excisées. Ces deux méthodes pourraient être probablement appliquées dans un proche avenir à la plupart des espèces drageonnantes. En outre, on a découvert que l'aptitude au clonage *in vitro* d'*A. raddiana*, *A. nilotica* et *A. sieberiana* varie très significativement en fonction de l'origine des explants (famille, génotype).

Nos connaissances sur la biologie florale des arbres sont encore limitées. C'est pourquoi les deux communications présentées à l'Atelier ont été les bienvenues. Elles concernent la pollinisation chez *Faidherbia albida* et les structures comparées des pollens de sept espèces d'*Acacia* originaires d'Afrique, Amérique et Australie en relation avec leur degré de fertilité. L'impact de telles recherches, d'une part sur la compréhension du processus d'incompatibilité et, d'autre part, sur la production de graines (à la fois pour la propagation des espèces et pour la nutrition humaine et animale) est évident. L'optimisation de la germination de *Faidherbia albida* et *Acacia raddiana* semble désormais acquise.

Comme on le verra au paragraphe suivant, nous sommes encore loin de maîtriser parfaitement les techniques d'inoculation, d'où l'importance des recherches sur les processus précédant la nodulation proprement dite. Deux communications de très haut niveau, fondées sur des études ultrastructurales très fines, nous ont révélé pour la première fois les modalités très particulières de l'infection et de l'ontogénèse du nodule chez *Faidherbia albida* et *Acacia mangium*.

Les expériences d'inoculation au champ ont confirmé le fait que les espèces spécifiques sur le plan de leurs exigences symbiotiques, telles qu'*Acacia mangium*, répondaient mieux à l'inoculation que les espèces non spécifiques (*promiscuous*), telles que *Faidherbia albida*. En ce qui concerne plus particulièrement les espèces non spécifiques, nous ne disposons pas encore de souches de rhizobium possédant les qualités requises pour obtenir une réponse positive à l'inoculation. L'effet des inoculations en pépinière, même lorsqu'elles sont réussies, a souvent tendance à s'estomper lorsque les plantations vieillissent. Ce dernier problème est loin d'être résolu et demandera des investigations approfondies.

Le bon fonctionnement des symbioses est souvent handicapé par l'intervention de contraintes, au premier rang desquels figurent la contrainte hydrique, les carences minérales et l'excès d'azote combiné.

Une remarquable étude de terrain portant sur la

réponse à la sécheresse d'*A. raddiana* et *A. senegal* conduite depuis deux ans au Ferlo (Sénégal) a permis de mettre en évidence l'existence de processus complexes (débourrement précoce des bourgeons ou régulation de la phénologie des racines) et de préciser les différences de comportement entre les deux espèces (conductance stomatique par exemple). Ce type d'investigation sur le terrain nous semble plus prometteur que les recherches effectuées en conditions artificielles sur des arbres très jeunes. Quoi qu'il en soit, il ne faut pas se dissimuler que les recherches sur la tolérance à la sécheresse sont difficiles car elles impliquent de nombreux mécanismes ; elles n'en sont pas moins indispensables.

Il est bien établi que certains éléments, comme le phosphore, jouent un rôle majeur dans la nutrition des arbres et dans le fonctionnement de la symbiose fixatrice d'azote. Mais jusqu'à présent on n'avait pas analysé la variabilité interprovenance d'une espèce donnée (*Acacia mangium* dans le cas de l'étude présentée) en ce qui concerne la réponse de son activité fixatrice d'azote à l'application de doses croissantes de phosphore. Il est apparu que certaines provenances dépendent plus nettement de l'apport de phosphore (et probablement de la mycorhization) que d'autres. On a proposé un test original permettant de cribler rapidement les provenances (mesure de la réduction de l'acétylène spécifique) en fonction de leurs exigences en phosphore ; ce test pourrait se révéler très précieux dans le cadre des travaux de sélection des clones.

Comme le phosphore, le fer est indispensable à l'infection et à la nodulation : il a été montré qu'à ce point de vue *Acacia mangium* semble plus exigeant que *Faidherbia albida*.

Malheureusement (et c'est peut-être l'une des rares lacunes majeures de l'Atelier), aucun intervenant n'a traité du problème de l'inhibition de la fixation de l'azote par l'azote combiné. Pourtant, il s'agit là probablement d'une des causes du ralentissement de la fixation de l'azote dans les plantations vieillissantes.

Une évaluation correcte de quantité d'azote fixé *in situ* est une condition *sine qua non* de la bonne gestion de tout écosystème. Les chercheurs travaillant en

Afrique commencent à prendre conscience de l'importance de ce problème, puisque deux communications, fondées sur des méthodes modernes, ont été présentées, l'une portant sur la fixation d'azote potentielle comparée chez trois espèces, l'autre sur la fixation réelle *in situ* par *A. mangium*. Le potentiel fixateur d'azote de *F. albida* est, comme celui d'*A. raddiana* et *A. senegal*, nettement inférieur à celui d'*A. seyal*. On peut donc penser qu'en améliorant ce potentiel chez *F. albida*, par sélection clonale ou, peut-être par greffage sur *A. seyal*, l'effet bénéfique de *Faidherbia albida* sur les sols pourrait encore être renforcé. Grâce à la méthode d'évaluation de l'abondance naturelle de <sup>15</sup>N, il a été montré qu'*A. mangium* était un bon fixateur d'azote au champ, mais que cette activité était sensible à certaines contraintes du milieu (en particulier azote combiné du sol).

La question a été posée de savoir quel allait être le rôle de la biologie moléculaire dans les recherches futures sur les symbioses forestières et notamment la symbiose *Acacia-Rhizobium*. Il a été unanimement reconnu que cette discipline procurait déjà aux chercheurs des outils d'investigation incomparables dans le domaine de la taxonomie et de la physiologie des deux partenaires impliqués, ainsi que dans celui de l'établissement et du fonctionnement des symbioses.

Quant aux transformations génétiques, aucune n'a encore été réalisée dans le cas des Légumineuses pérennes tropicales ; mais il importe de se préparer dès maintenant à développer les recherches dans ce domaine, le premier objectif visé étant de conférer aux espèces déjà utilisées pour leurs caractéristiques remarquables des qualités complémentaires, telle qu'une nodulation profuse (*Faidherbia albida*), une excellente résistance aux nématodes (*Acacia holosericea*), un système racinaire pivotant de type phréatophytique (*Acacia seyal*), une tolérance accrue à la sécheresse (toutes les espèces). ■

Yvon DOMMARGUES,  
Directeur de Recherche au C.N.R.S.  
11, rue Macarani, 06000 NICE

## WORKSHOP ON ACACIA SYMBIOSES

**T**his workshop, jointly organized by the laboratory of Biotechnologies of Tropical Forest Symbioses (CIRAD-Forêt/ORSTOM), Nogent-sur-Marne, and the laboratory of Soil Microbiology of ORSTOM, Dakar, was held at CIRAD-Forêt headquarters, Nogent-sur-Marne, on 24th and 25th June 1993.

The failure of forestry, agroforestry or agro-sylvo-forestry projects has often been attributed to socio-economic factors. However, in many cases, technical mistakes should be held responsible for this situation, such as choice of inadapted plant material or inappropriate methods of plantation. The objective of the Acacia workshop was to present the results of investigations carried out in Africa on the *Acacia-Rhizobium* symbioses for the last five years, hopefully contributing to the development of sustainable silviculture and agroforestry methods.

The reports presented have dealt with a limited number of African Acacia species which had been identified as the most promising ones. The workshop covered a broad spectrum of topics ranging from the biology of each of the symbiotic partners to the establishment and functioning of the symbiosis itself.

The rhizobia involved are presently explored by the Dakar school, using the most recent techniques of molecular biology. These rhizobia exhibit such a large diversity that their current taxonomy will probably have to be thoroughly remodelled in the near future. In addition to the three classical species of rhizobium (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, and *Azorhizobium*), a large number of new species may live in symbiosis with tropical nitrogen-fixing trees.

Two studies on *Faidherbia albida* endomycorrhizae were presented. Endomycorrhizal fungi were reported to colonize the deep roots of the tree (more than 35 m belowground). Hyphal growth of *Glomus mosseae* was obtained *in vitro* but this result cannot be considered as the starting point of a new approach to grow this fungus *in vitro*.

Using enzyme electrophoresis or more conventional approaches (such as morphology), several researchers have shown extensive inter- and intraprovenance variability in *A. raddiana* and *Faidherbia albida*. The existence of two subspecies of *A. senegal*, light grey and dark grey, was confirmed. The exploitation of the inter- or intra-provenance variability with the objective of obtaining elite clones is based on vegetative propagation methods that may differ with tree species. In the case of *Faidherbia albida* two entirely new methods were proposed: root cuttings and *in vitro* culture of excised roots. Both methods could probably be applied to most suckering species in the near future. The response of *A. raddiana*, *A. nilotica* and *A. sieberana* to *in vitro* cloning varies with the origin of the explants (family, genotype).

Two communications were devoted to the pollinisation of *Faidherbia albida* and the pollen structure of seven Acacia species native to Africa; the results of such investigations would possibly throw light on the mechanisms of incompatibility and seed production in a number of Acacia species.

The germination of *Faidherbia albida* and *Acacia mangium* appears to be presently mastered.

Inoculation techniques are still imperfect, which requires further investigations of the nodulation process. For the first time two ultra-structural studies of high caliber have clearly shown the peculiar steps of infection and nodule ontogenesis in *Faidherbia albida* and *Acacia mangium*.

Field experiments have confirmed the fact that specific species (such as *Acacia mangium*) respond more readily to inoculation than promiscuous ones (such as *Faidherbia albida*). Even when inoculation appears to be successful soon after transplantation to the field, its effect tends to decrease with time.

The functioning of symbioses is often impeded by environmental constraints, especially water stress, mineral deficiencies and excess of combined nitrogen. A well documented field experiment on the response of *A. raddiana* and *A. senegal* to drought carried out in Ferlo (Senegal) has revealed the cause of complex processes such as bud break prior to the onset of the rainy season and disclosed differences in the stomate functioning of the species. In addition a model describing the relationship between the interval water status of *A. raddiana* and the soil water potential in the rhizosphere was proposed.

The fact that those elements, such as phosphorus, play a major role in plant nutrition is well established. However, the variability of the nitrogen-fixing ability exhibited by tree provenances in response to increasing amounts of a given element had not yet been fully explored. A study of the response of *A. mangium* to various levels of phosphorus clearly showed that this response varies greatly with the provenances. Determining the specific acetylene reduction activity was proposed as a test to screen the provenances according to their phosphorus requirements: this test would probably be useful to select elite clones.

Iron requirements are also assumed to vary widely with the host plant. This assumption was verified when comparing *Acacia mangium* and *Faidherbia albida*:

nodulation of the former species appeared to be more sensitive to iron deficiency than the latter.

Assessing correctly the amount of nitrogen fixed in the field is essential to the proper management of any ecosystem. Researchers working in Africa are progressively more and more aware of the importance of this type of investigation. Two communications based on the use of modern methods for assessing nitrogen fixation were presented. In the first the nitrogen-fixing potentials of *Faidherbia albida*, *Acacia raddiana* and *A. senegal* were reported to be significantly lower than that of *A. seyal*. Consequently it was proposed that the beneficial effect of *Faidherbia albida* on soil fertility be improved through clonal selection or grafting on *A. seyal*. In the second communication *A. mangium* was shown to be a good nitrogen fixer, despite its poor tolerance of soil nitrogen.

None of the participants in the workshop (except incidentally in the study of nitrogen fixation by *A. mangium* just mentioned above) tackled the problem of the inhibition of nitrogen fixation following the accumulation of nitrogen in the soil. This gap is unfortunate since the decrease of nitrogen fixation in aging plantations could probably be alleviated by controlling this harmful inhibition process.

The question was raised of the implication of molecular biology in future investigations on tree symbioses and specifically on *Acacia-Rhizobium* symbioses. It was unanimously agreed that this discipline already provided scientists with outstanding tools of investigation to study the taxonomy and physiology of rhizobia and host plants. It may also facilitate the exploration of processes involved in the establishment and functioning of the symbioses.

To date only few nitrogen-fixing trees (e.g. *Allocasuarina verticillata*, *Robinia pseudoacacia*) have been genetically transformed; but this technique of plant improvement will probably be more extensively utilized in the future. Therefore it is necessary to consider this possibility now with the objective of introducing one or several traits that would allow the host plant to nodulate more profusely (e.g. *Faidherbia albida*), to resist nematode attacks (e.g. *Acacia holosericea*), to develop a deep root system of phreatophytic type (e.g. *A. seyal*), or to tolerate drought (all species).

Yvon DOMMERGUES  
Directeur de Recherche au CNRS  
11, rue Macarani 06000 NICE (France)