

Diversité de la capacité fixatrice d'azote de *Faidherbia albida* au Sénégal

D. Diouf¹⁻³

C. Campa¹⁻²

M. Noirot²

Introduction

Faidherbia albida, également appelé *Acacia albida*, est couramment intégré dans les systèmes agroforestiers des zones arides et semi-arides du Sénégal, constituant ainsi, dans le centre-ouest du pays, la zone de parcs à *Faidherbia*. Cet arbre, de la famille des légumineuses Mimosoïdées, présente un intérêt non seulement pour sa production de bois et de fourrage, mais aussi pour son effet bénéfique sur les cultures associées (Charreau et Vidal, 1965 ; Louppe, 1990 ; Oliver *et al.*, 1996). Cet effet peut être attribué à trois caractéristiques de l'arbre. Ainsi, *F. albida* présente une phénologie inversée qui lui permet de fournir un ombrage en pleine saison sèche. De plus, sa structure racinaire, en forme de pivot qui peut descendre à

¹ Laboratoire de Microbiologie des sols, IRD Bel-Air, BP 1386, Dakar, Sénégal.

² Laboratoire GeneTrop, IRD Montpellier, BP 5045, 34032 Montpellier cedex 1, France.

³ Département de Biologie végétale, université Cheikh Anta Diop, BP 5005, Dakar, Sénégal.

plus de 30 m de profondeur, ainsi que sa capacité à établir des symbioses avec des bactéries fixatrices d'azote (Duhoux et Dommergues, 1986 ; Giller et Wilson, 1991 ; Dupuy et Dreyfus, 1992) lui permettent de participer à la restauration de la fertilité du sol sans entrer en concurrence avec les cultures intercalaires. Chez *F. albida*, la symbiose fixatrice d'azote est établie essentiellement avec des *Bradyrhizobium* (Assefa et Kleiner, 1998). Elle se traduit par la formation, au niveau des racines, de nodosités dans lesquelles les bactéries transforment l'azote atmosphérique en ammonium grâce à l'activité de la nitrogénase bactérienne (fig. 1). L'ammonium ainsi formé est alors intégré dans les molécules organiques grâce à la glutamine synthétase des cellules de la racine. Le transport de l'azote fixé est alors réalisé principalement sous forme d'amides, asparagine et glutamine (Campa *et al.*, 2000). Cependant, cette association fournit à *F. albida* une capacité fixatrice faible, surtout dans les zones sahéliennes (Dommergues, 1995) et très variable (Sanginga *et al.*, 1990 ; Ndoye *et al.*, 1995), même entre populations issues du Sénégal (Gueye *et al.*, 1997). Cette variabilité est généralement attribuée à l'origine géographique des graines et à leur diversité génétique, sans que des études précises aient été entreprises dans ce sens. Il est cependant bien établi que, de par leur fort taux d'allogamie, les populations de *F. albida* d'Afrique de l'Ouest présentent un taux de polymorphisme et une diversité génétique très élevés (Joly *et al.*, 1992). Aussi, nous nous sommes intéressés à étudier l'impact du facteur géographique et de la diversité génétique sur la diversité de l'appétitude à fixer l'azote dans des populations sénégalaises de *F. albida*. Cette étude doit cependant être réalisée en conditions contrôlées afin de maîtriser le processus de colonisation de la plante par la bactérie, conditions qui imposent la récolte des plantes à un stade jeune pour lequel le pool d'azote fixé est faible. Aussi, l'évaluation plante à plante de la capacité fixatrice, indispensable pour l'analyse, ne peut être faite à l'aide des techniques classiques : marquage isotopique (^{15}N) ou évaluation de l'activité nitrogénase des nodosités par la mesure de son activité réductrice d'acétylène (ARA). Dans les nodosités de soja, il a été montré qu'une corrélation existe entre les activités de la nitrogénase et de la glutamine synthétase (Kohl *et al.*, 1990). Nous avons donc, dans un premier temps, recherché si cette corrélation existait chez *F. albida*, afin d'utiliser l'activité GS nodulaire, d'une évaluation relativement aisée, comme marqueur de la fixation.

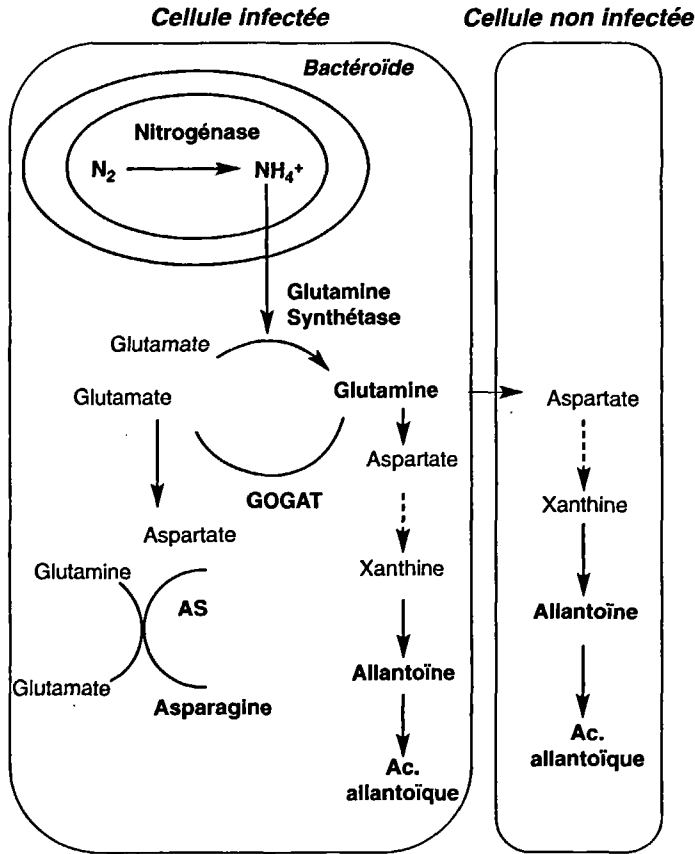


Figure 1
Métabolisme de l'azote fixé dans des cellules de racines de *Faidherbia albida* colonisées par des souches de *Bradyrhizobium* fixatrices d'azote.

Matériel et méthodes

Le matériel végétal

Les graines de *Faidherbia albida* (Del.) A Chev. (syn. *Acacia albida* Del.) ont été récoltées dans quatre zones du Sénégal différant par

leurs conditions climatiques et la densité des populations d'arbres. La première partie du travail a été réalisée sur le mélange des graines de chacune des trois zones analysées (deux appartenant à la zone des parcs, une venant de la zone Sud du Sénégal). Pour la deuxième partie, les récoltes ont été faites en tenant compte du pied d'origine des graines pour les trois lots considérés (un venant de la zone des parcs, une de la zone Ouest et une de la zone Nord du Sénégal).

Les conditions de culture et d'inoculation

Les graines de *F. albida* sont prétraitées par trempage de 30 mn dans H_2SO_4 , rincées à l'eau distillée stérile puis mises à germer pendant 48 h en boîte de Petri (obscurité, 37 °C). Les germinations sont alors mises en culture soit *in vitro*, en tubes (Gibson, 1963), dans une chambre éclairée (16 h jour/8 h nuit) et thermostatée (30 °C), soit en serre, dans du sol stérilisé (gainés contenant un mélange sol/vermiculite : 2/1). La souche de *Bradyrhizobium* ORS 188 utilisée pour l'inoculation a été isolée de nodules de *F. albida*. Conservée en collection au laboratoire, elle a été sélectionnée pour sa grande effectivité sur cet arbre. Les inoculations sont réalisées à l'aide d'une culture liquide en milieu YM (Vincent, 1970) contenant 10^8 bactéries.ml⁻¹, une semaine après la mise en culture pour les tubes Gibson et au moment de la plantation pour les expérimentations en serre.

Évaluation de la croissance et de la fixation d'azote

À chaque prélèvement, la taille et la masse fraîche des différents organes sont évaluées pour chaque individu. Pour les cultures en gaine, un seul prélèvement est réalisé après 45 jours de culture en présence de la souche bactérienne.

L'activité glutamine synthétase (AGS) est évaluée dans les nodosités, racines et feuilles. Les échantillons congelés (-80 °C) sont broyés à 4 °C dans un mortier en présence de PVP 10 et de sable de Fontainebleau dans le tampon Tris-HCl 50 mM à pH 8,4 contenant

1 μM Na_2MoO_4 , 10 μM FAD, 1 mM Na_2 EDTA, 5 mM cystéine, 1 μM leupeptine, 11 mM mercaptoethanol et 1 mM DTT. Les extraits sont obtenus dans le surnageant après centrifugation (15 000 rpm, 20 mn, 4 °C) et dosés selon la technique de O'Neal et Joy (1973). L'activité est exprimée en μmoles de γ -glutaraldéhyde formées par heure et par plante ou par gramme de matière fraîche.

L'activité nitrogénase des nodosités est évaluée par la mesure de l'activité réductrice d'acétylène (ARA) selon la technique de Hardy *et al.* (1973). Elle est réalisée sur des échantillons constitués de une à trois plantes et exprimée en μmoles d'éthylène formées par heure et par gramme de matière fraîche de nodosités.

Analyse RAPD

L'extraction d'ADN est réalisée sur des feuilles conservées à -80 °C. Après broyage (80 μg) à 4 °C dans 500 μl de tampon d'extraction (200 mM Tris-HCl, pH 8,0 contenant 0,5 % SDS (w/v), 25 mM EDTA et 250 mM NaCl), les extraits sont mis à incuber 1 h à 60 °C, puis centrifugés (5 mn, 4 000 x g). Le surnageant est alors extrait par 500 μl de phénol. Après une nouvelle centrifugation (2 mn, 10 000 x g), la phase supérieure est lavée par un mélange phénol/chloroforme (250/250 μl) puis phénol/chloroforme/alcool isoamylique (250/240/10 μl). Ensuite, l'ADN est précipité par 70 μl d'acétate d'ammonium (7,5 mM) dans 600 μl d'éthanol 95 %, puis culotté par centrifugation (5 mn, 10 000 x g) et lavé à l'éthanol 70 %. Le culot est alors séché puis remis en suspension dans 100 μl de tampon TE (10 mM Tris-HCl (pH 8,0), 1 mM EDTA).

Les amplifications d'ADN sont réalisées dans un volume final de 25 μl contenant du Tris-HCl pH 9,0 (10 mM), du $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ (2,5 mM), du Tween 20 à 0,001 % (w/v), du MgCl_2 (1,5 mM), 50 μM de chaque dNTP (Bohringer Mannheim), 1 μM d'oligonucléotides, 50 ng d'ADN et 0,25 unité de DNA polymérase Goldstar (Eurogentec). Les amplifications sont réalisées dans un thermocycleur (Perkin Elmer) programmé pour une phase de dénaturation à 94 °C pendant 3 mn, suivie par un cycle à 35 °C pendant 4 mn, 72 °C pendant 2 mn, puis 45 cycles à 94 °C pendant 1 mn, 35 °C pendant 1 mn et 72 °C pendant 2 mn. Les réactions se terminent par

une phase d'extension de 10 mn à 72 °C. Les produits d'amplification sont séparés par électrophorèse sur gel d'agarose (1,2 %) dans le tampon TBE. Les produits d'amplification (Random amplified polymerase DNA reaction : RAPD) sont visualisés sous lumière UV après marquage au bromure d'éthidium (15 mn, solution à 10 µg/ml). Sur les 12 amorces testées, 8 ont été retenues (tabl. 1) pour discriminer les individus (44 feuilles issues de cinq arbres de trois zones géographiques). Pour l'analyse, les bandes RAPD sont enregistrées comme présentes (1) ou absentes (0).

Tableau 1
Séquence nucléotidique (Eurogentec)
des amorces ayant généré
des produits d'amplification
chez *Faidherbia albida*.

Code	Séquence (5'– 3')
1	AGCCAGCGAA
2	GGCTCGTACC
3	GTTAGCGGCG
4	CGGAGAGTAC
5	CGAGGCGCAA
6	CGGGAGACCC
10	GGTGGGTGCT
11	GTGGCTCTGA

Analyse statistique

Les variables brutes sont relevées sur 160 plantes et consistent en deux descripteurs géographiques (site et arbre de collecte), trois paramètres de croissance (hauteur de tige, masse fraîche des feuilles et des racines), deux paramètres biochimiques d'évaluation du métabolisme azoté (AGS dans les feuilles et dans les racines) et deux estimateurs de la symbiose et de la fixation d'azote (masse et AGS des nodosités). Les activités enzymatiques sont exprimées en µmoles par heure et par plante ou par gramme de matière fraîche. Des variables relatives, représentant la proportion de biomasse de chaque partie de la plante par rapport à la biomasse totale (% de masse racinaire, de masse foliaire et de masse de nodosités), ont également été prises en compte dans l'analyse. Les effets du site et de l'arbre à l'intérieur des sites sont étudiés en utilisant l'Anova,

l'Ancova et l'analyse en composantes principales développées par le logiciel Statistica.

Résultats

Activités nitrogénase et glutamine synthétase des nodosités

Les activités de la nitrogénase, évaluée par la mesure de son activité réductrice d'acétylène (ARA), et de la glutamine synthétase (AGS) des nodosités ont été mesurées au cours de la croissance de plants cultivés en tube Gibson et inoculés après une semaine de culture. Leur comparaison met en évidence une évolution similaire de ces deux activités pendant les 28 jours qui suivent l'inoculation (fig. 2).

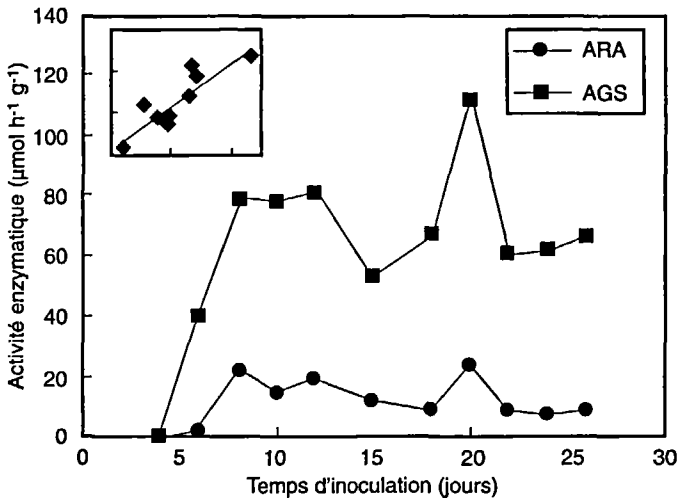


Figure 2

Évolution des activités nitrogénase, estimée par la technique ARA, et glutamine synthétase (AGS) dans des nodosités de *F. albida* au cours de la croissance en tube Gibson. Chaque point représente la moyenne de 5 plantes pour AGS et de trois lots de 3 plantes pour ARA. La droite de régression est donnée en haut à gauche de la courbe ($y = 0,3126x - 9,3199$; $R^2 = 0,755$).

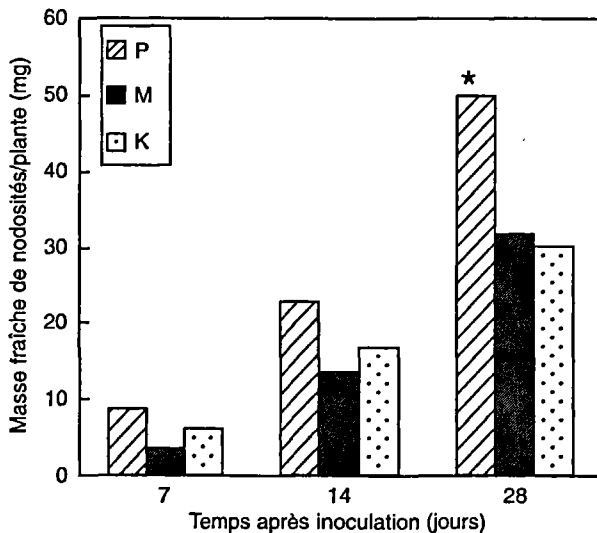
Une analyse de covariance montre qu'une relation existe entre ARA et AGS ($F_{1,9} = 6,88$; $P = 0,028$). Le diagramme de régression ainsi obtenu est une droite ($ARA = 0,232 AGS - 3,308$), montrant clairement que la AGS peut être considérée comme un estimateur de l'activité fixatrice, au même titre que l'ARA.

Origine géographique des graines et capacité fixatrice

Parmi les paramètres permettant d'évaluer la capacité fixatrice, l'aptitude à former des nodosités et l'aptitude à fixer sont les deux principalement retenus.

L'aptitude de *F. albidus* à former des nodosités a été comparée en culture en tube Gibson pour trois populations de graines issues de deux sites appartenant à la même zone géographique (Pire et Merina, zone des parcs) et d'un site de la zone Sud (Kagnabon). Comme le montre la figure 3, la masse de nodosités varie peu selon le site de prélèvement, excepté après 28 jours d'inoculation. À cette date, les plantes issues du site Pire présentent une masse de nodosités plus importante, statistiquement différente de celle des plantes de Kagnabon, mais également de Merina, pourtant originaires de la même zone géographique.

Figure 3
Développement
des nodosités
dans trois populations
de *F. albidus* inoculées
en tube Gibson avec
la même souche
bactérienne.
Chaque mesure
représente la moyenne
de 24 plantes, et les résultats
statistiquement différents
($p < 0,001$)
sont surmontés
d'une astérisque.
P : Pire ; M : Mérina ;
K : Kagnabon



L'aptitude à fixer a été évaluée sur trois autres populations de graines issues de la zone des parcs, de la zone Ouest ou de la zone Nord du Sénégal. Une analyse de variance, réalisée sur 50 graines de chaque origine à l'aide de tous les paramètres de croissance et de fixation, montre que seules la masse et l'AGS des racines permettent d'établir des différences entre zones (tabl. 2). Il faut cependant noter que leur contribution à la variance est faible (< 18 %).

Variables	F _{2,12}	R ²
<i>Paramètres de croissance</i>		
Hauteur de tige (cm)	1,31 ns	0
Masse foliaire (g)	0,67 ns	0
Masse racinaire (g)	5,33 *	0,18
Biomasse totale (g)	1,35 ns	0
% Masse foliaire	1,88 ns	0
% Masse racinaire	1,56 ns	0
AGS foliaire (μmol h ⁻¹)	0,78 ns	0
AGS racinaire (μmol h ⁻¹)	4,39 *	0,07
<i>Paramètres de fixation</i>		
Masse des nodosités (g)	0,55 ns	0
% Masse des nodosités	3,21 ns	0
AGS nodosités (μmol h ⁻¹)	0,04 ns	0

Tableau 2

Origine géographique des graines et capacité fixatrice d'azote de *F. albida*. Analyse de variance réalisée pour trois sites comportant chacun 50 graines. Pour les effets significatifs, la contribution à la variance est indiquée dans la colonne R².

* : p < 0,005 ;

ns : non significatif

Diversité génétique des graines et aptitude à fixer l'azote

La même analyse de variance a été réalisée sur les lots de graines précédents, mais en tenant compte de l'arbre d'origine de chaque graine (cinq arbres par site, dix graines par arbre). Dans ce cas, tous les paramètres indiquent des différences suivant les parents, excepté l'AGS racinaire (tabl. 3). Leur contribution à la variance varie de 9 à 47 % et tous les paramètres relatifs à la fixation présentent une contribution élevée (supérieure à 32 %). Une analyse en composantes principales, réalisée en prenant en compte l'ensemble des paramètres, permet de mettre en évidence six facteurs indépendants qui expliquent 94 % de la variabilité (tabl. 4). Les facteurs 3 et 5 sont essentiellement constitués par des paramètres de la fixation,

Tableau 3
 Origine parentale des graines
 et capacité fixatrice d'azote de *F. albida*.
 Analyse de variance réalisée
 pour 15 arbres de trois sites différents
 comportant chacun 10 graines.
 Pour les effets significatifs,
 la contribution à la variance
 est indiquée dans la colonne R².
 * : p < 0.005 ;
 *** : p < 0.001 ;
 ns : non significatif.

Variables	F _{12,135}	R ²
<i>Paramètres de croissance</i>		
Hauteur de tige (cm)	9,03 ***	0,45
Masse foliaire (g)	7,39 ***	0,39
Masse racinaire (g)	3,18 ***	0,15
Biomasse totale (g)	5,97 ***	0,33
% Masse foliaire	7,02 ***	0,38
% Masse racinaire	7,92 ***	0,41
AGS foliaire (μmol h ⁻¹)	8,56 ***	0,43
AGS racinaire (μmol h ⁻¹)	1,09 ns	0
<i>Paramètres de fixation</i>		
Masse des nodosités (g)	10,01 ***	0,47
% Masse des nodosités	7,32 ***	0,39
AGS nodulaire (μmol h ⁻¹)	6,92 ***	0,37

Tableau 4
 Analyse en
 composantes
 principales :
 corrélation aux
 vecteurs propres.
 Les contributions
 relatives,
 exprimées
 en pourcentage (%)
 sont indiquées
 entre parenthèses.

Variables	Facteur					
	1	2	3	4	5	6
<i>Paramètres de croissance</i>	Hauteur de tige (cm)	0,256 (6,6)				0,665 (44,2)
	Masse foliaire (g)	0,897 (80,5)			-0,246 (6,1)	-0,252 (6,4)
	Masse racinaire (g)	0,618 (38,2)			0,728 (53,0)	
	Biomasse totale (g)	0,884 (78,1)		0,221 (4,9)	0,245 (6,0)	-0,245 (6,0)
	% Masse foliaire	0,384 (14,7)			-0,889 (79,0)	
	% Masse racinaire	-0,273 (7,5)			0,888 (79,0)	-0,300 (9,0)
	AGS foliaire (μmol h ⁻¹)	0,902 (81,4)				0,312 (9,7)
	AGS racinaire (μmol h ⁻¹)		0,951 (90,4)			
	AGS totale (μmol h ⁻¹)	0,890 (79,2)		0,241 (5,8)		0,294 (8,6)
	AGS foliaire (μmol h ⁻¹ g ⁻¹)					0,979 (95,8)
	AGS racinaire (μmol h ⁻¹ g ⁻¹)		0,965 (93,1)			
	<i>Paramètres de fixation</i>	Masse nodosités (g)	0,406 (16,4)		0,306 (9,4)	
% Masse nodosités				0,223 (5,0)	-0,367 (13,5)	0,846 (71,6)
AGS nodosités (μmol h ⁻¹)		0,245 (6,0)		0,874 (76,4)		0,354 (12,5)
AGS nodosités (μmol h ⁻¹ g ⁻¹)				0,968 (93,7)		

indiquant une bonne corrélation entre diversité génétique et capacité fixatrice. Ainsi, le facteur 3 est essentiellement représenté par la capacité à fixer l'azote (AGS des nodosités, exprimée en μ moles formées par heure et par plante ou en μ moles formées par heure et par gramme de nodosités). Le facteur 5 comprend la capacité à noduler (masse des nodosités et pourcentage de la masse des nodosités par rapport à la masse totale) ainsi que la hauteur de tiges, paramètre souvent associé à la capacité fixatrice.

Recherche de marqueurs moléculaires de la fixation

Une analyse RAPD portant sur 44 individus provenant de cinq arbres issus des trois zones géographiques permet de générer, à l'aide de huit amorces, 173 bandes dont 143 sont polymorphes. Une analyse de variance de l'AGS nodulaire (exprimée en μ moles formées par heure et par plante) montre que 35,5 % des bandes sont liées à la capacité fixatrice d'azote. Sept d'entre elles présentent un seuil de signification inférieur à 0,1 % et peuvent être considérées comme des marqueurs de la fixation. Ainsi, comme le montre l'exemple du marqueur 130 (fig. 4), tous les individus caractérisés par l'absence d'une de ces 7 bandes ont une activité fixatrice faible. Cependant, parmi les individus présentant la bande, certains ont une capacité fixatrice faible. Ils représentent 50 % de la population des individus à faible activité fixatrice.

Discussion et conclusion

En utilisant le marquage ^{15}N , une grande diversité dans la capacité à fixer l'azote a été mise en évidence dans les populations sénégalaises de *F. albida* (Gueye *et al.*, 1997). Il apparaît dans notre étude que cette diversité ne peut être attribuée à l'origine géographique des graines, mais plus particulièrement à leur origine parentale. En effet, des graines provenant de sites voisins appartenant tous deux à

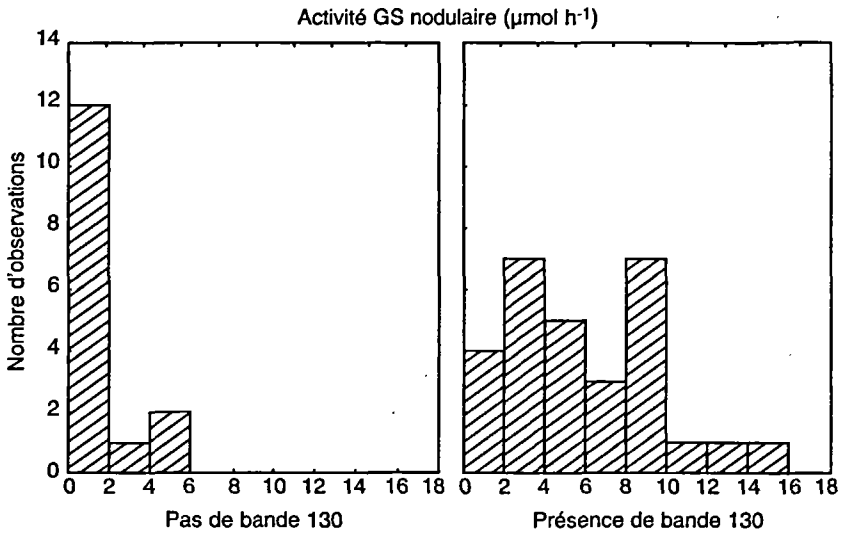


Figure 4
Répartition, en fonction de l'activité glutamine synthétase dans les nodosités, des *F. albida* présentant ou non le marqueur 130 lors de l'analyse RAPD.

la zone des parcs à *Faidherbia* présentent une aptitude différente à former des nodosités. Par contre, deux sites d'origines éloignées ont des caractéristiques de nodulation proches. De plus, une analyse de variance réalisée sur 150 individus provenant de trois sites différents montre que l'origine géographique ne permet pas non plus d'expliquer la diversité de l'aptitude à fixer l'azote. Ce dernier résultat n'a pu être obtenu que par l'utilisation d'un nouveau marqueur de la fixation, l'activité glutamine synthétase des nodosités, qui permet l'évaluation de la capacité fixatrice sur des plantes peu fixatrices et de petite taille. Par contre, cette même analyse de variance met en évidence des différences entre descendance d'arbres. La diversité de la fixation serait ainsi liée à la diversité génétique engendrée par le fort taux d'allogamie rencontré chez *F. albida* (Joly *et al.*, 1992). L'analyse RAPD a permis de déceler des marqueurs moléculaires de la fixation. Cependant, ces marqueurs révèlent une partie seulement des individus peu fixateurs et leur utilisation permettrait simplement d'augmenter la proportion

d'arbres fixateurs dans les populations étudiées. Enfin, cette analyse est basée sur l'évaluation d'une activité enzymatique exprimée par de jeunes plantes maintenues dans des conditions particulières de culture. Elle ne présume en rien de ce que deviendront les capacités fixatrices de l'arbre lorsque celui-ci sera transféré de la pépinière au champ. Dans ces nouvelles conditions de culture, l'arbre sera soumis à la présence de nouvelles souches bactériennes dont l'effectivité pour *F. albida* n'est pas connue et pour lesquelles l'expression de l'activité glutamine synthétase pourrait être modifiée. Cette étude demande donc d'être validée par un suivi au champ des individus précocement repérés et d'être complétée par une cartographie génétique effectuée à partir d'une descendance contrôlée.

Remerciements

Nous remercions Mahécor Diouf et l'équipe de Bernard Dreyfus pour leur assistance technique, ainsi que Patrice Cadet et Jean Thioulouse pour les premiers traitements statistiques des données.

Bibliographie

Assefa F, Kleiner D 1998 — Nodulation pattern and acetylene reduction (nitrogen fixation) activity of some highland and lowland *Acacia* species of Ethiopia. *Biol Fertil Soils* 27 (1) : 60-64.

Campa C, Diouf D, Ndoye I, Dreyfus B 2000 — Differences in nitrogen metabolism of *Faidherbia albida* and other N_2 -fixing tropical woody acacias reflect habitat water availability. *New Phytol* 147 : 571-578.

Charreau C, Vidal P 1965 — Influence de l'*Acacia albida* Del. sur le sol, nutrition minérale et rendements des mils *Pennisetum* au Sénégal. *L'agronomie tropicale*,

série *Agronomie générale* 6-7 : 600-625.

Dommergues YR 1995 — Nitrogen fixation by trees in relation to soil nitrogen economy. *Fertilizer Research* 42 : 215-230.

Duhoux E, Dommergues YR 1986 — The use of nitrogen fixing trees in forest and soil restoration in the tropics. *In* Les arbres fixateurs d'azote et l'amélioration de la fertilité des sols. Actes Séminaire FIS/Orstom, Dakar, 17-25 mars, 340-400.

Dupuy NC, Dreyfus BL 1992 — *Bradyrhizobium* populations occur in deep soil under

- the leguminous tree *Acacia albida*.
Appl Environ Microbiol 58 : 2415-2419.
- Gibson AH 1963 —
Physical environment and symbiotic nitrogen fixation. I. The effect of temperature on recently nodulated *Trifolium subterraneum* plants.
Aust J Biol Sci 16: 28-42.
- Giller KE, Wilson KJ 1991 —
Agroforestry: Nitrogen fixing trees in integrated agriculture. In Nitrogen fixing in tropical cropping systems. KE Giller, KJ Wilson eds, C.A.B. International, 178-196.
- Gueye M, Ndoye I, Dianda M, Danso SKA, Dreyfus B 1997 —
Active N₂-fixation in several *Faidherbia albida* provenances.
Arid Soil Res Rehab 11 : 63-70.
- Hardy RWF, Burns RC, Holsten RD 1973 —
Application of the acetylene-ethylene assay for measurement of N₂-fixation.
Soil Biol Biochem 5 : 47-81.
- Joly HI, Zeh-Nlo M, Danthu P, Aygalent C 1992 —
Population genetics of an African acacia, *Acacia albida*. I. Genetic diversity of populations from West Africa. Aust J Bot 40 : 59-73.
- Kohl DH, Lin JJ, Shearer G, Schubert KR 1990 —
Activities of the pentose phosphate pathway and enzymes of proline metabolism in legume root nodules.
Plant Physiol 94 : 1258-1264.
- Loupe D 1990 —
Influence de *Faidherbia albida* sur les rendements agricoles. Cirad-CTFT, Nogent/Marne, 15 p.
- Ndoye I, Gueye M, Danso SKA, Dreyfus B 1995 —
Nitrogen fixation in *Faidherbia albida*, *Acacia raddiana*, *Acacia senegal* and *Acacia seyal* estimated using the ¹⁵N isotope dilution technique.
Plant Soil 172 : 175-180.
- Oliver R, Depommier D, Janodet E 1996 —
Influence de *Faidherbia albida* sur le sol et le sorgho. Observations dans le parc de Wanitoma au Burkina Faso. In Les parcs à *Faidherbia*, Cirad-Forêt. Cahiers scientifiques n° 12 : 141-152.
- O'Neal D, Joy KW 1973 —
Glutamine synthetase in pea leaves. I. Purification, stabilization and pH optima.
Arch Biochem Biophys 159 : 113-122.
- Sanginga N, Bowen GD, Danso SKA 1990 —
Assessment of genetic variability for N₂-fixation between and within origins of *Leucaena leucocephala* and *Acacia albida* estimated by ¹⁵N labelling techniques.
Plant Soil 127 : 169-178.
- Vincent JM 1970 —
A manual for the practical study of root nodule bacteria, International Biological Programme Handbook n° 15. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh.