

Impacts des variations géographiques et temporelles sur le fonctionnement des communautés symbiotiques associés à *Acacia mangium* : diversité en zone d'origine, évolution et adaptation en zone d'introduction

Responsables scientifiques

Gilles BENA, IRD

Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes - LSTM, UMR et Laboratoire commun de microbiologie, RD/ISRA/UCAD, Centre de Recherche de Bel-Air, BP 1386, 18524, Dakar, Sénégal.

Mél. : gilles.bena@ird.fr

Yves PRIN, CIRAD

LSTM, UMR, Campus de Baillarguet, TA 10/J 34398 Montpellier cedex.

Mél. : prin@cirad.fr

Autres participants

LSTM, UMR : Marie-Mathilde Perrineau (CIRAD), Christine Le Roux (CIRAD), Antoine Galiana (CIRAD), Robin Duponnois (IRD).

EcoBiotics, Queensland, Australie : P. Reddell.

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, Brésil : Marcos Rodrigues de Faria.

Innoprise Corporation Sdn Bhd, Sabah, Malaisie : Doreen Goh.

Mots-clés

Acacia mangium, *Bradyrhizobium* sp., ectomycorhize, symbiose, zone d'introduction, évolution.

Objectifs des recherches

Ce projet a pour objectif de répondre aux questions suivantes :

■ Dans une forêt tropicale non perturbée, comment la diversité des symbiotes bactériens fixateurs d'azote avec un arbre a-t-elle évolué en 20 ans ? Peut-on mettre en évidence une variation (augmentation ou baisse) significative de cette diversité, ou son déplacement (changement de fréquence des différents génotypes bactériens) ? Quelles conséquences en tirer sur la gestion et la préservation des ressources génétiques bactériennes symbiotiques ?

■ En zone d'introduction, privé de son cortège symbiotique, avec quelles souches bactériennes et quels champignons mycorhiziens *Acacia mangium* réalise-t-il sa symbiose ? Ces nouveaux partenaires symbiotiques présentent-ils une diversité réduite par rapport à la zone d'origine, et donc un potentiel de sélection et d'adaptation limité ? Ces nouveaux partenaires présentent-ils une efficacité symbiotique plus restreinte, justifiant ainsi des inoculations artificielles lors de la mise en place des plantations ? Inversement, le niveau d'efficacité de fixation atteint par les souches locales après dix ans de plantation suggère-t-il que cette durée est suffisante pour que la sélection naturelle des souches soit efficace, remettant en cause la nécessité de l'inoculation ?

■ Dans le cas où les plantations d'*A. mangium* ont été faites en association avec des souches précédemment sélectionnées, que sont devenues ces souches ? Ont-elles disparu depuis leur introduction, suggérant que l'effet de l'inoculation se restreint aux premiers temps de la plantation ? Ces souches se sont-elles maintenues dans leur intégrité, suggérant inversement un caractère très efficace de la sélection pour leur maintien, et donc soulignant l'intérêt de l'inoculation initiale ? Enfin, observe-t-on une recombinaison de ces souches introduites avec des souches locales, et cette recombinaison touche-t-elle l'îlot symbiotique directement impliqué dans la symbiose ?

■ Dans le cas de recombinaison entre souches locales et souches introduites, la nouvelle souche chimérique présente-t-elle un niveau d'efficacité de fixation identique à la souche initialement introduite ? Inversement, la disparition de la souche initialement introduite est-elle le résultat d'une différence de survie ou de compétition avec les souches locales ?

I. Présentation des travaux

Introduction

Avec environ 1 200 espèces originaires des continents africain, américain et australien, le genre *Acacia sensu lato* est de loin le plus riche de la sous-famille des Mimosaceae (Famille des Légumineuses ou Fabaceae). Il est divisé en trois sous-genres : *Acacia*, *Aculeiferum* et *Phyllodineae*. Des études récentes de phylogénie moléculaire des Mimosoidae menées sur des séquences d'ADN chloroplastique (Lückow *et al.*, 2003) ont permis de confirmer le caractère paraphylétique des acacias avec des divergences très marquées entre les 3 sous-genres. Ces mêmes travaux montrent le caractère monophylétique du sous-genre *Phyllodinae*, parmi lequel sont regroupés les acacias australiens, qui comptent plus de 900 espèces. 3 à 4 d'entre elles (*A. mangium*, *A. auriculiformis*, *A. crassicarpa*) en font le genre le plus planté sous les tropiques - après *Eucalyptus* - avec environ 1,4 millions d'hectares (plantations industrielles) (Cossalter and Pye-Smith, 2003). *Acacia mangium* est l'espèce la plus largement utilisée, avec une productivité annuelle de 15 à 30 m³ par hectare et une exploitation à 7 ans. A partir d'une aire d'origine très limitée et fragmentée dans quelques îlots de forêt dense du nord Queensland, de Papouasie-Nouvelle-Guinée (à 150 kilomètres au nord de l'Australie) et de l'île de Timor (à 500 kilomètres de la côte nord australienne), *A. mangium* a été exporté d'Australie pour la première fois en 1966 : il s'agissait d'un lot de 200 graines récoltées sur un seul arbre, près de Mission Beach dans le nord Queensland, qui ont été plantées en Malaisie et en Indonésie (Awang and Taylor, 1993). Devant les performances exceptionnelles de ces arbres comparées à celles d'essences comme *Eucalyptus deglupta* et *Gmelina arborea*, alors largement utilisées, les premières plantations industrielles pilotes sont mises en place dès 1976, par une compagnie privée du Sabah (deuxième État de Malaisie). Grâce à son adaptabilité et sa productivité, *A. mangium* passe, en une vingtaine d'années, du statut d'espèce sauvage à celui de plante industrielle. Il est utilisé en Asie (Indonésie, Malaisie, Philippines, Chine, Vietnam, Inde, Thaïlande) mais aussi en Afrique (Côte d'Ivoire, Guinée, Madagascar) et en Amérique du Sud (Brésil). Autre élément ayant compté dans le succès de cette espèce : sa capacité à limiter, grâce à la fermeture rapide des canopées en plantation, le développement d'*Imperata cylindrica*, une espèce de graminée très envahissante en Asie du Sud-Est.

A. mangium est une espèce de zone tropicale humide (1 500 à 3 000 mm de pluie annuelle) de faible altitude, dont la hauteur adulte oscille entre 25 et 35 mètres. C'est une espèce dont les vraies feuilles ne sont visibles qu'au stade juvénile, les feuilles adultes étant des pétioles modifiés (ou «phyllodes»). Ses très bonnes performances sur sols érodés et peu fertiles sont généralement attribuées à sa capacité exceptionnelle de développer simultanément des symbioses avec des bactéries du groupe des rhizobiums au sens large (Galiana *et al.*, 1990 ; Nuswantara *et al.*, 1997), des champignons mycorrhiziens à vésicules et arbuscules VA (Awang and Taylor, 1993 ; Weber *et al.*, 2005) et des champignons ectomycorhiziens (Founoune *et al.*, 2002 ; Duponnois *et al.*, 2002). Ces symbioses lui confèrent un « plus » adaptatif sérieux dans sa croissance sur sols pauvres. Si les symbioses à mycorhizes VA sont, *a priori*, généralisées chez les légumineuses, la

combinaison fixation d'azote/ectomycorhization n'est connue pour l'ensemble des légumineuses que chez les acacias se limitant d'ailleurs à la sous famille des *Phyllodinae*. Depuis les années 1980, l'utilisation croissante de cette essence a suscité des travaux sur ses partenaires symbiotiques visant, en particulier, à identifier les partenaires bactériens et mycorhiziens les plus efficaces pour promouvoir la productivité au champ, en zones d'introduction.

En 1986, une campagne d'échantillonnage a été menée afin de récolter des graines dans les peuplements naturels du nord Queensland. Par la même occasion, des nodules ont été prélevés sur de nombreux arbres et plusieurs sites (populations) couvrant l'aire de répartition de l'espèce. Ces nodules ont été préservés dans du silicagel. Au cours de sa thèse, A. Galiana (associé à ce projet) a pu isoler 80 souches issues de 7 populations différentes, qui sont actuellement conservées au Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes (LSTM). Une sélection de souches performantes en termes de fixation d'azote en association avec *A. mangium* a été ensuite réalisée. C'est ainsi que des essais d'inoculations contrôlées avec des souches de rhizobiums sélectionnées en conditions de plantations ont été mis en place dans un grand nombre de pays d'Asie (Malaisie : Frémont *et al.*, 1991 ; Martin Laurent *et al.*, 1998), d'Afrique (Côte d'Ivoire : Galiana *et al.*, 1994 ; Bénin : Galiana *et al.* 1998 ; Madagascar : Prin *et al.*, 2003) et d'Océanie (Iles Cook : Galiana *et al.*, 1998). De manière générale, ces essais ont montré les effets très significatifs de l'inoculation avec des souches sélectionnées dans l'aire d'origine d'*A. mangium* (souches australiennes), permettant d'obtenir des gains de productivité en surface terrière (mesure reflétant directement la production de bois) de l'ordre de 20% - et parfois plus - par rapport au témoin non inoculé (et pourtant nodulé spontanément) (Galiana *et al.*, 1998). Cette nodulation spontanée constitue probablement un frein au développement des pratiques d'inoculation conférant systématiquement à *A. mangium* les « symptômes » d'une bonne activité microbiologique, alors que les performances des souches responsables sont souvent réduites vis à vis de la fixation biologique d'azote. Ainsi, les pratiques d'inoculation contrôlées sont restées extrêmement marginales et limitées à quelques essais, dans toutes les zones d'introduction.

Ce contexte, assez exceptionnel, d'une espèce végétale passée d'un stade « sauvage » (avec une zone d'origine fragmentée et très ponctuelle et à partir d'arbres semenciers originels identifiés et souvent encore en place actuellement dans leur écosystème forestier naturel) au stade industriel en une vingtaine d'années, fait d'*A. mangium* un matériel de choix pour analyser le comportement d'une espèce végétale vis-à-vis de ses partenaires symbiotiques, bactériens et ectomycorhiziens, lors de sa dispersion géographique et au cours du temps. Il est notable qu'une telle étude ne peut se faire que sur une espèce présentant les deux type de symbioses (bactérienne fixatrice d'azote et ectomycorhizienne), et qu'*Acacia mangium* est une des rares légumineuses à posséder cette caractéristique. Nous proposons donc, sur ce modèle, d'étudier l'impact des variations géographiques et temporelles sur le fonctionnement des communautés biologiques en interactions - en confrontant notamment celles des zones d'origine avec celles des zones d'introduction - et d'analyser la dynamique des réseaux d'interactions durables ainsi formés.

Nous pourrions répondre à ces problématiques en réalisant des inventaires de diversité bactérienne symbiotique et ectomycorhizienne dans trois environnements contrastés :

Matériel et méthodes

■ Diversité et évolution des souches bactériennes symbiotiques en zone naturelle d'origine d'*A. mangium*, dans le nord Queensland

La première phase d'échantillonnage des bactéries associées aux populations naturelles d'*A. mangium* avait été réalisée au cours de l'année 1986. Les données d'échantillonnage sont précises (localisations des arbres échantillonnés) et couvre l'aire de répartition de l'espèce en Australie ; nous avons procédé à une seconde phase d'échantillonnage afin de mesurer l'évolution de la diversité bactérienne *in situ* sur 20 ans, à l'échelle du peuplement et à l'échelle de l'individu (arbre par arbre). Ce second échantillonnage a été réalisé en 2007 et 2008, sur tous les sites de 1986, avec un protocole d'isolement identique. Le pouvoir nodulant de tous les isolats de cette étude a été testé systématiquement sur plantes. L'analyse de cette diversité s'est faite par séquençage du gène *recA*, gène de ménage impliqué dans la réparation et la recombinaison de l'ADN. Il n'existe actuellement aucune étude évaluant les modifications génétiques des populations bactériennes symbiotiques du sol en milieu non anthropisé. Ces populations naturelles d'*A. mangium* se trouvent dans des zones protégées et donc faiblement soumises à des perturbations anthropiques directes. Nous proposons ainsi d'évaluer l'évolution « naturelle » de cette diversité, provenant d'effets de sélection, de dérive, voire de migration.

■ Diversité et évolution des souches bactériennes symbiotiques en zone d'introduction (nodulation spontanée)

Au début des années 80, *A. mangium* a été introduit en tant qu'espèce sylvicole dans de nombreux pays de la zone intertropicale. Dans les peuplements où il n'y a pas eu d'inoculations volontaires des plants, nous analyserons la stratégie comportementale d'une même espèce de plante face à des communautés microbiennes édaphiques « allopatriques », à savoir les communautés procaryotiques formant spontanément des nodosités (rhizobiums s.l.) et les communautés eucaryotiques mycorhizant spontanément (champignons ectomycorhiziens). En particulier, nous souhaitons déterminer quelle diversité génétique de souches a pu être « capturée », comparer cette diversité à celle observée dans la zone d'origine de l'espèce, et déterminer si ces souches présentent, comme la théorie le prédit, une effectivité de fixation d'azote plus faible que les souches de la zone d'origine. Des parcelles non inoculées et présentant une nodulation spontanée ont été échantillonnées au Brésil, au Sénégal et en Malaisie. Le pouvoir nodulant de tous les isolats de cette étude a été testé systématiquement sur plantes.

■ Suivi des souches inoculées sur *A. mangium* en parcelles d'essai

Dans le cadre d'une dissémination sympatrique plantes/rhizobiums, nous souhaitons étudier le devenir des souches allogènes introduites. Nous souhaitons savoir si les souches d'origine se sont maintenues en tant que telles, si elles ont disparu du fait d'une moindre valeur sélective ou si des phénomènes de recombinaison entre souches autochtones et allochtones se sont produits, notamment via la formation de clusters associant des souches introduites et locales par rapport aux populations bactériennes locales no-

dulantes, plusieurs années après leur introduction. Les nodules récoltés dans les parcelles inoculées au Brésil, au Sénégal et en Malaisie sont traités et caractérisés de la même manière que pour les parcelles non inoculées.

■ Diversité des champignons ectomycorhiziens associés à *A. mangium* dans les différents sites visités

Les carpophores et des apex ectomycorhizien sont été systématiquement photographiés, récoltés, caractérisés (pour les carpophores) et inventoriés afin d'évaluer les diversités associées à *A. mangium* dans les différentes situations.

Résultats - discussion

■ Evolution de la diversité des bactéries symbiotiques associées à *Acacia mangium* en zone d'origine

Sur les 80 souches australiennes (représentant 21 arbres) isolées en provenance de populations naturelles d'*A. mangium*, 76 ont pu être remises en culture. A partir de la récolte 2007, 103 isolats nouveaux (représentant 26 arbres) ont pu être piégés selon la même méthode qu'en 1986. Cette seconde récolte est complétée par une troisième récolte effectuée en 2009, dans le cadre de la thèse de M^{elle} MM. Perrineau, doctorante au CIRAD, qui travaille sur ce sujet. Pour cette dernière récolte, les isolements et tests de nodulation et caractérisation sont toujours en cours.

Le séquençage du gène *recA* définit ces bactéries symbiotiques comme appartenant à un seul genre : *Bradyrhizobium* et à des espèces se rangeant dans deux des grands groupes de *Bradyrhizobium* : *B. japonicum* et *B. elkanii*, confirmant ainsi que les partenaires symbiotiques naturels d'*A. mangium* dans son aire d'origine sont relativement peu diversifiés (voire « spécifiques » au niveau du genre). Par rapport à ce qui a pu être publiés dans différentes zones d'introduction, où en plus de *Bradyrhizobium*, les genres *Mesorhizobium*, *Rhizobium* (et *Agrobacterium*), *Ochrobactrum* ont pu être décrits comme nodulant *A. mangium* (Clapp *et al.*, 2001 ; Nuswantara *et al.* 1997 ; Ngom *et al.*, 2004). D'après Frémont *et al.*, (1999), les bactéries du groupe de *B. elkanii* seraient plus efficaces que celles du groupe de *B. japonicum*.

Pour l'évolution temporelle sur plus de 20 années et site par site, la comparaison, encore préliminaire, des séquences ne met pas en évidence une structuration géographique claire des souches, ni de structuration particulière entre les souches isolées en 1986 et en 2007. Ce manque d'évolution et de structuration pourrait être lié au fait qu'on ne semble pas, sur les marqueurs moléculaires étudiés, « saturer » la diversité infra générique des bradyrhizobiums impliqués dans la nodulation. Ce serait donc peut être à ce niveau que se révélerait le niveau supérieur de diversité « marquant » l'aire d'origine d'*A. mangium*. Des données moléculaires et statistiques plus poussées, sur un échantillonnage augmenté des isolats de la récolte 2009, sont en cours d'analyse.

■ Au sein des aires d'introduction et sans inoculation artificielle, à quels partenaires bactériens *A. mangium* s'est-il associé ? Existe-il une structuration des populations en fonction de leurs origines géographiques ?

Une campagne d'échantillonnage a été réalisée au Brésil, en 2007 (partenariat avec l'entreprise brésilienne de recherche en agronomie EMBRAPA), pour prélever des sou-

ches provenant de 4 sites non inoculés. Deux de ces quatre sites, ont dû être ré-échantillonnés en 2009 pour compléter les isolats. En Malaisie, grâce au partenariat avec Innoprise Corporation Sdn Bhd, la campagne d'échantillonnage, réalisée sur 3 sites de cette compagnie (Taliwas, Brumas, Luasong), a permis l'obtention de 33 isolats de parcelles non inoculées. Au Sénégal, la campagne d'échantillonnage, réalisée en 2008 (partenariat avec l'Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA), a permis d'obtenir 27 isolats sur un site non inoculé (Richard Toll). Enfin, les nodules provenant des différentes campagnes australiennes d'échantillonnage de 2007 et 2009, ont également servi pour comparer ces trois « populations » aux souches issues de l'aire d'origine d'*A. mangium*.

Les résultats obtenus par séquençage du gène *recA* ont montré que *A. mangium* ne s'associe, dans notre échantillonnage, qu'avec des bactéries du genre *Bradyrhizobium*, à l'exception d'un site brésilien où *A. mangium* est également associé au genre *Mesorhizobium*. Nous ne mettons en évidence aucune structuration géographique de la diversité des souches isolées dans différents pays, différents continents (pas de clusters géographiques, par sites, pays ou continents).

■ Dans leurs aires d'introduction et avec inoculation artificielle, comment ont évolué les souches bactériennes introduites ?

Au Brésil, les bactéries issues de 3 sites inoculés par deux souches brésiliennes sélectionnées, ont été isolées en 2007 ou 2009. Dans un seul des trois sites, on retrouve une des deux souches inoculées, 6 ans après leur introduction. En Malaisie, suite à la campagne d'échantillonnage de 2008, les nodules de cinq arbres inoculés par deux souches australiennes ont été analysés. Une des deux souches inoculées a également pu être retrouvée (12 / 37 isolats bactériens, soit dans 32% des nodules) 15 ans après l'inoculation (Martin-Laurent *et al.*, 1999). Au Sénégal, un site inoculé par une souche australienne a été analysé : là aussi, l'inoculum n'a pas pu être détecté. Les souches isolées identifiées comme étant identique à l'inoculum de départ, ont été caractérisées sur deux gènes de ménage autre que *recA* (*dnaK* et *glnII*) ainsi que le gène symbiotique *nodA* afin de mettre en évidence éventuelles recombinaisons génétiques, notamment au sein de l'îlot symbiotique, comme cela est classiquement retrouvé. Nos résultats montrent que les souches inoculum ne semblent pas avoir évolué d'un point de vue génomique.

Ainsi, dans les trois cas d'introduction, le degré de persistance des souches inoculum semble extrêmement variable. Il faut noter qu'en Malaisie et au Sénégal, les inoculums étaient des souches australiennes sélectionnées dans la population isolée par Galiana (1990) : ces inoculums ont systématiquement montré un fort effet promoteur de croissance toujours supérieur aux souches locales éventuellement testées et en tout cas aux témoins non inoculés et pourtant nodulés. Cet effet avait des retombées économiques immédiates en réduisant le temps de pépinière, en améliorant la survie après transplantation et en accélérant la fermeture de la canopée dès la seconde année après transfert au champ, réduisant ainsi considérablement les frais d'entretien de la plantation. Mais si ces inoculums se maintenaient massivement sur les stades jeunes des plants et envahissaient même les parcelles témoins (Prin *et al.*, 2003), notre travail montre qu'ils disparaissent sur des périodes de temps plus longues (plusieurs années). La question d'une succession possible de populations bactériennes nodulantes évoluant avec la phénologie

de la plante reste ouverte. Si les nodules ont souvent été récoltés en Australie sur des arbres âgés, le processus d'isolement utilisé pour les souches australiennes de 1986 a été réalisé par piégeage sur des jeunes plants et a peut-être sélectionné des bactéries plus « spécialisées » des stades phénologiques juvéniles de la plante. A des stades plus âgés, ces bactéries pourraient être relayées par des bactéries locales.

Pour le Brésil, le cas est différent, la législation brésilienne interdisant l'utilisation de bactéries exotiques dans les processus d'inoculation, ce sont des souches brésiliennes, isolées donc de légumineuses brésiliennes, et sélectionnées sur *A. mangium*, qui ont été testées. On ne dispose pas des mêmes données sur le maintien ou non de ces inoculums au champ, même sur des stades jeunes.

■ Symbioses ectomycorhiziennes

En Australie et dans les zones d'introduction, la recherche de carpophores sous *A. mangium* a été poursuivie pendant toute la durée du projet. En Australie, un total de 15 espèces différentes appartenant à 10 genres différents ont pu être identifiées. Au Brésil, 6 carpophores ont été récoltés dont 5 sont du genre *Pisolithus* et de l'espèce *microcarpus*, ce qui paraît original, cette espèce étant plutôt de milieu méditerranéen (l'espèce classiquement rencontrée avec *A. mangium* est *P. albus*). En Malaisie, les carpophores récoltés appartiennent aux genres *Telephora* et *Pisolithus*. Aucun carpophore n'a été trouvé au Sénégal. Dans l'ensemble des zones d'introduction, les carpophores échantillonnés représentent 3 genres différents représentant 4 espèces identifiées ou nouvelles. On n'a pas retrouvé le genre *Pisolithus* en Australie alors qu'il est relativement fréquent en zone d'introduction ; ce genre a pourtant déjà été rapporté comme partenaire d'*A. mangium* en Australie. Une analyse moléculaire des partenaires fongiques présents dans les apex ectomycorhiziens permettrait de confirmer ces niveaux de diversité entre zones d'origine et d'introduction.

Si les essais d'inoculation au champ, en zone d'introduction, avec des souches sélectionnées de champignons ectomycorhiziens, restent encore relativement peu nombreux chez les acacias australiens, les résultats sont toujours très convaincants du point de vue de la productivité végétale que ce soit chez *A. holosericea*, *A. mangium* ou *A. crassicarpa* (Ducouso et al., 2004 ; André et al., 2005 ; Duponnois et Ba, 1999). Il serait donc très intéressant d'isoler d'une part des souches ectomycorhiziennes d'origine australienne et de tester d'autre part la réponse d'*A. mangium* à l'inoculation avec ces souches en zones d'introduction.

Conclusions - perspectives

Que l'on se situe dans l'aire d'origine ou en zone d'introduction c'est bien le genre *Bradyrhizobium* qui est sélectionné par *A. mangium*. Les rapports de nodulation par d'autres genres bactériens (Clapp et al., 2001, Nuswantara et al., 1997, Ngom et al., 2004) correspondraient bien à des situations exceptionnelles, tant aux niveaux environnemental qu'expérimental. Au niveau infragénérique, par contre, les analyses en cours semblent aller dans le sens d'une diversité supérieure en zone d'origine (à confirmer au vu des derniers lots de séquences acquises et des courbes de raréfaction). Dans l'aire d'origine, les analyses de diversité dans un site donné, sur les différentes dates d'échan-

tillonnage, semblent plutôt rebrasser que confirmer les clusters qui pouvaient sembler se profiler sur les souches isolées en 1986 : il semble que la diversité soit en constante évolution ou qu'elle soit encore loin de la saturation. Il ne semble pas y avoir de structuration géographique au sein même de l'aire d'origine. Il ne semble également pas y avoir de structuration géographique à une plus large échelle, incluant les différentes zones d'introduction. Concernant les champignons ectomycorhiziens, la diversité générale, et spécifique des carpophores associés à *A. mangium* semblent beaucoup plus élevées dans l'aire d'origine que dans les zones d'introduction. L'analyse de la diversité moléculaire fongique présente au sein des apex racinaires ectomycorhiziens permettrait de confirmer cette tendance.

II. Acquis en termes de transfert

Acacia mangium fait l'objet de plantations industrielles sur toute la zone intertropicale avec des surfaces de plantation atteignant globalement des centaines de milliers d'hectares. Lorsqu'elles se limitent à des terrains abandonnés par l'agriculture du fait de l'épuisement de sols, de telles plantations peuvent être extrêmement intéressantes, limitant les prélèvements de bois sur les forêts naturelles.

S'agissant d'un ligneux les pratiques sylvicoles passent systématiquement par un stade en pépinière où sont concentrés pendant quelques semaines les jeunes plants, avant leur transfert au champ. Cette phase de pépinière facilite beaucoup les pratiques d'inoculation, réduisant considérablement les volumes d'inoculum nécessaires par rapport à des espèces de grande culture (soja, luzerne...) utilisées en semis direct. Dans ce cadre, de nombreux travaux ont été réalisés, testant l'effet d'inoculum bactériens diversifiés dans des situations géographiques également diversifiées. Des essais de mycorhization des plants avec des champignons arbusculaires et des champignons ectomycorhiziens ont également été réalisés. Systématiquement, les effets promoteurs de la croissance ont été très marqués. Cependant, les inoculations industrielles restent l'exception et s'arrêtent dès que les projets ou les financements extérieurs arrivent à leur terme. Ceci est imputable à plusieurs causes, entre autres la non disponibilité sur le marché d'inoculum dédiés à ces essences, la nodulation et la mycorhization spontanée quasi systématique (parfois, mais pas toujours, efficace) des plants, le surcoût (en temps, en formation, financier) lié à ces pratiques relativement « étrangères » au monde forestier, les législations sur les ressources biologiques et microbiologiques, etc.

Notre travail montre l'intérêt de retourner dans l'aire d'origine de l'espèce pour y explorer le potentiel de souches microbiennes, bactériennes et mycorhiziennes, naturellement associées à *A. mangium*. L'utilisation de souches obtenues par isolement direct de nodules récoltés sur arbres âgés est à explorer pour être en mesure de fournir en inoculum des populations capables de se maintenir tout au long de la vie de l'arbre (qui est assez courte, 7 à 10 ans, en plantation). Ces pratiques devraient être testées préalablement, tant aux niveaux méthodologique qu'économique. L'adaptation des législa-

tions est toutefois un frein à ces pratiques et pose le problème de l'utilisation d'essences exotiques au dépend d'essences locales.

III. Liste des principales valorisations des recherches

Articles scientifiques publiés, sous presse, soumis et en préparation

Le Roux C., Tentchev D., Prin Y., Goh D., Japarudin Y., Perrineau M. M., Duponnois R., Domergue O., de Lajudie P., and Galiana A.. Bradyrhizobia nodulating the *Acacia mangium* x *A. auriculiformis* interspecific hybrid are specific and differ from those associated to both parental species. *Appl. Environ. Microbiol.* Sous presse.

Perrineau M. M., Le Roux C., de Faria S. M., de Carvalho Balieiro F., Galiana A., Prin and Y., Béna G. Genetic diversity and structure of *Bradyrhizobium elkanii* populations recovered from inoculated and non-inoculated *Acacia mangium* field trials in Brazil. *Appl. Environ. Microbiol.* Soumis.

Perrineau M. M., Ducouso M., Weber J., Galiana A., Reddell P., Duponnois R., Lee S.K., Bâ A. M., and Prin Y. Ectomycorrhizal symbioses of the nitrogen-fixing tree legume *Acacia mangium* Wild. *Mycorrhiza*. En préparation.

Perrineau M. M., Galiana A., de Lajudie P., Duponnois R., Béna G., Dreyfus B. and Prin Y. Rhizobia nodulating acacias, in the light of plant molecular phylogeny. Article de synthèse. En préparation.

Participations aux colloques nationaux ou internationaux (communication orale et poster)

Perrineau M. M. , Le Roux C., de Faria S., Galiana A., Duponnois R., Béna G. et Prin Y. 2010. Les bactéries symbiotiques associées à *Acacia mangium* en populations naturelles et introduites, au Brésil. 9^{èmes} *Rencontres Plantes-Bactéries* – Aussois 2010. 18 - 22 janvier 2010.

Perrineau M. M., Le Roux C., de Faria S., Béna G. and Prin Y. 2010. From spontaneous to inoculant symbiotic nodulation of legume trees : the example of *Acacia mangium*. *The 13th International Symposium on Microbial Ecology*, Seattle USA.

Rapports de fin d'étude (mémoires de master, de DEA, thèses...)

Mora F. 2007. Diversité des rhizobiums symbiotiques d'*Acacia mangium* en zone d'origine, évolution et adaptation en zone d'introduction. Stage de 4^{ème} année IUP, UM2, 21 pp.

Taschen E. 2009. Diversité des bactéries symbiotiques associées à *Acacia mangium* au Brésil. Stage de M1, fonctionnement des écosystèmes naturels et cultivés, UM2, 18 pp.