

ETUDE STRUCTURALE DES SITES DE NODULATION ET INDUCTION DES NODULES CAULINAIRES CHEZ *SESBANIA PUBESCENS*

K. TOMEKPE*, A.S. TRAORE*, S. NDIAYE*,
M.M. SPENCER BARRETO** et C. DETREZ*

*Laboratoire de Microbiologie des Sols ORSTOM B.P. 1386 Dakar Sénégal

**Université Cheikh Anta Diop - Faculté des Sciences
Département de Biologie Végétale Dakar Sénégal

Résumé: *Sesbania pubescens* est une légumineuse annuelle voisine de *Sesbania rostrata* qui se rencontre généralement sur les sols temporairement inondés de l'Afrique de l'Ouest. Des sites de nodulation préformés ont été mis en évidence sur sa tige et ses branches. Ces sites prennent naissance à l'aisselle des cotylédons et des feuilles. Comme chez la plupart des légumineuses à nodules de tige, les sites de nodulation caulinaire de *S. pubescens* se développent en racines lorsque les tiges sont immergées dans l'eau. L'étude anatomique des sites de nodulation caulinaire de *S. pubescens* a montré qu'ils sont constitués d'une ébauche racinaire qui émerge des cellules corticales. Contrairement à l'espèce *S. rostrata* dont le site comporte une ébauche racinaire qui perce l'épiderme de la tige, l'ébauche racinaire du site de *S. pubescens* est protégée par une assise de cellules épidermiques. Comme chez *Neptunia oleracea*, l'infection expérimentale a montré que l'immersion des tiges est une condition préalable à l'induction des nodules caulinaires chez *S. pubescens*; ces nodules se forment tout au long des tiges à l'aisselle des racines adventives dont la croissance a été stimulée par l'immersion des sites.

Abstract: *Sesbania pubescens* is an annual legume related to *Sesbania rostrata*. It is often found in the temporarily flooded soils of West Africa. Preformed nodulation sites and caulinary nodules were observed on the stem and branches. These sites, far fewer in number than on *S. rostrata*, are generally distributed along the stem, especially at the leaf axils. As in most stem-nodulating legumes, the nodulation sites are composed of root primordia which develop as roots when the stems are immersed. Experimental infections have demonstrated that submerging the stem in water is a precondition to the induction of caulinary nodules in *S. pubescens*, like in *Neptunia oleracea*, but the latter only forms nodules at the node while *S. pubescens* can form nodules all along the stem. The experimental infection also showed that the caulinary nodules in *S. pubescens* were only formed at the base of the adventitious roots that developed from the primordia roots. A study of the structure of latent root primordia and the various stages in the development of the caulinary nodule in *S. pubescens* is also presented.

Une des caractéristiques communes des légumineuses à nodules de tige est la présence de sites de nodulation prédéterminés sur leur tige. Ces sites qui sont constitués d'un primordium de racine adventive évoluent en racine lorsque les tiges sont immergées et se développent en nodules fixateurs d'azote lorsqu'ils sont infectés par des *Rhizobium* spécifiques.

Suivant le niveau de développement de ces sites, on distingue trois types de légumineuses à nodules caulinaires (Alazard and Duhoux 1988, Dreyfus *et al.* 1984): le type *Sesbania rostrata* ou *Aeschynomene afraspera* avec un site constitué d'une ébauche racinaire qui perce l'épiderme de la tige, *Aeschynomene elaphroxylon* ou *Neptunia oleracea* avec une ébauche racinaire enfoncée dans les tissus corticaux de la tige, un type intermédiaire entre les deux

premiers où l'ébauche racinaire est recouverte par une à quelques assises de cellules épidermiques. Chez les plantes du type *Sesbania rostrata*, l'infection des sites par des *Rhizobium* se fait facilement par les sillons occasionnés pendant la percée de l'épiderme par l'ébauche racinaire. Dans les autres cas, l'infection n'est spontanée; elle nécessite une immersion préalable des tiges dans l'eau.

Alors que le genre *Aeschynomene* comprend de nombreuses espèces à nodules de tige, *Sesbania rostrata* et *Neptunia oleracea* sont les seuls représentants connus de leur genre, capables de former des nodules caulinaires. Cependant nous avons récemment découvert dans le genre *Sesbania*, qu'une autre espèce, en l'occurrence *Sesbania pubescens* est également capable de former des nodules caulinaires. Il s'agit d'une espèce annuelle voisine de *Sesbania rostrata*. Comme cette dernière, elle pousse spontanément dans les sols temporairement inondés de l'Afrique de l'Ouest.

Contrairement à *S. rostrata* dont la croissance est très rapide et qui peut atteindre une hauteur de 2,5 à 3 mètres en deux mois, *S. pubescens* produit de nombreuses ramifications dès la base de la tige et atteint 1,5 à 2 mètres dans les meilleures conditions de culture. L'objet de cet article est l'étude de la structure des sites de nodulation caulinaire et de leur développement en racines adventives et en nodules fixateurs d'azote.

Localisation des sites de nodulation

Les premiers sites sont précoces et apparaissent à la base des cotylédons. Ils se prolongent ensuite du bas vers le haut en suivant deux génératrices parallèles à l'axe vertical de la tige; ces génératrices s'arrêtent juste au dessous de la première feuille. Les génératrices suivantes naissent à l'aisselle des feuilles et s'interrompent lorsqu'elles atteignent la feuille suivante. La répartition des sites sur la tige est, de ce fait, alterne comme celle des feuilles. A l'opposé, les sites de *Sesbania rostrata* sont disposés suivant trois à quatre génératrices qui partent des cotylédons et se prolongent jusqu'à l'extrémité apicale de la plante.

Structure des sites non infectés

Le site de nodulation est constitué d'un dôme épidermique plus ou moins proéminent suivant sa localisation, les sites les plus âgés, c'est à dire ceux situés à l'aisselle des cotylédons, et des feuilles étant les plus proéminents. La coupe longitudinale du site mature présente au microscope photonique, une ébauche racinaire qui émerge de la zone corticale (Fig. 1). L'apex de cette ébauche est constitué d'une coiffe et d'un méristème racinaire protégé par une assise de cellules épidermiques.

A l'opposé, l'ébauche racinaire du site mature de la tige de *Sesbania rostrata* perce le dôme épidermique en provoquant une déchirure de l'épiderme; il se trouve ainsi exposé aux facteurs externes en l'occurrence les *Azorhizobium* (Tsien and Dreyfus 1981, Duhoux et Dreyfus 1982). La partie basale de l'ébauche racinaire est constituée d'un cylindre central qui se raccorde à la vascularisation de la tige.

Figure 1. (a) Vue générale: morphologie de la tige et des mamelons caulinaires de l'aisselle des feuilles cotylédonnaires sur une jeune plante de *S. pubescens* (25 jours) de culture hydroponique (vue grossie 5 fois). (b) Observation en Microscopie Photonique (MPh) après fixation au Navashine et coloration au Bleu de toluidine d'une coupe longitudinale de mamelon caulinaire de l'aisselle des cotylédons. Barre: _____ 12.5 μ m. (c) CL de mamelon caulinaire type de *S. rostrata*.

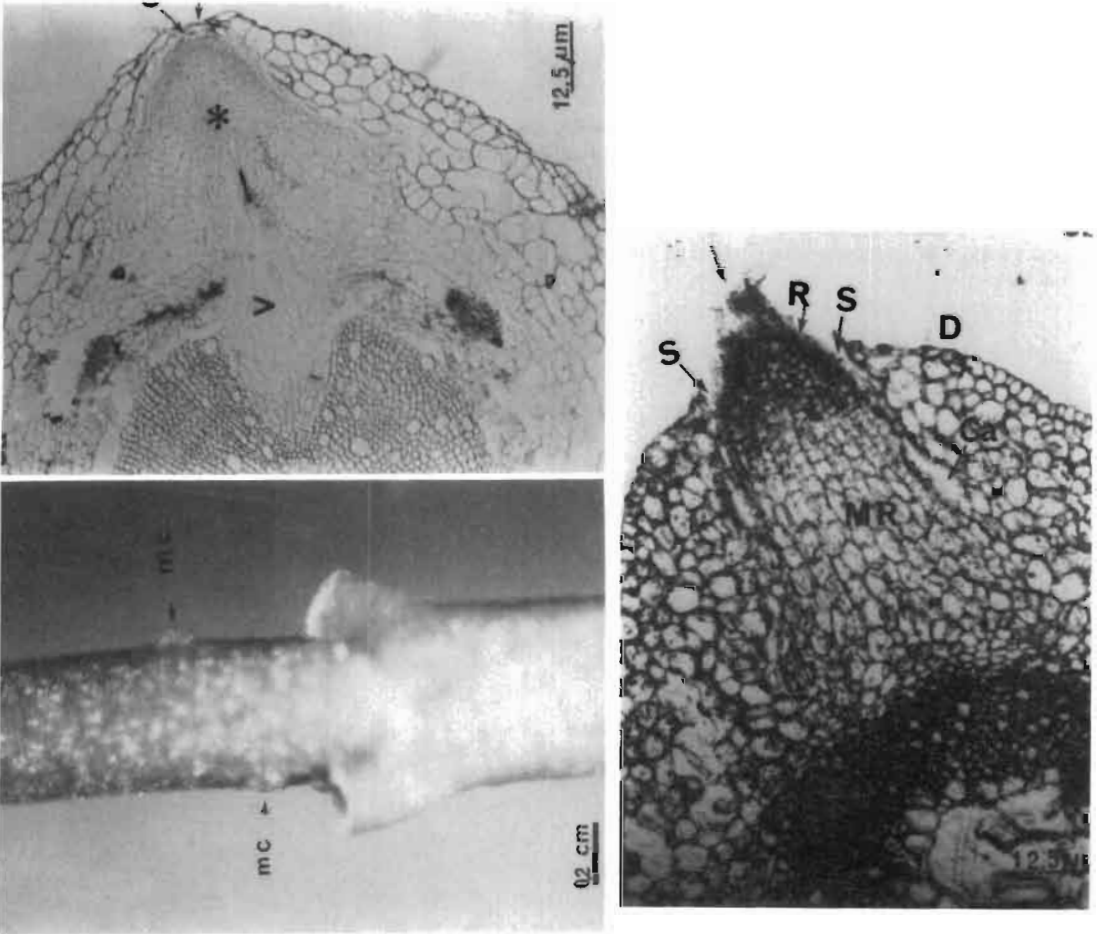
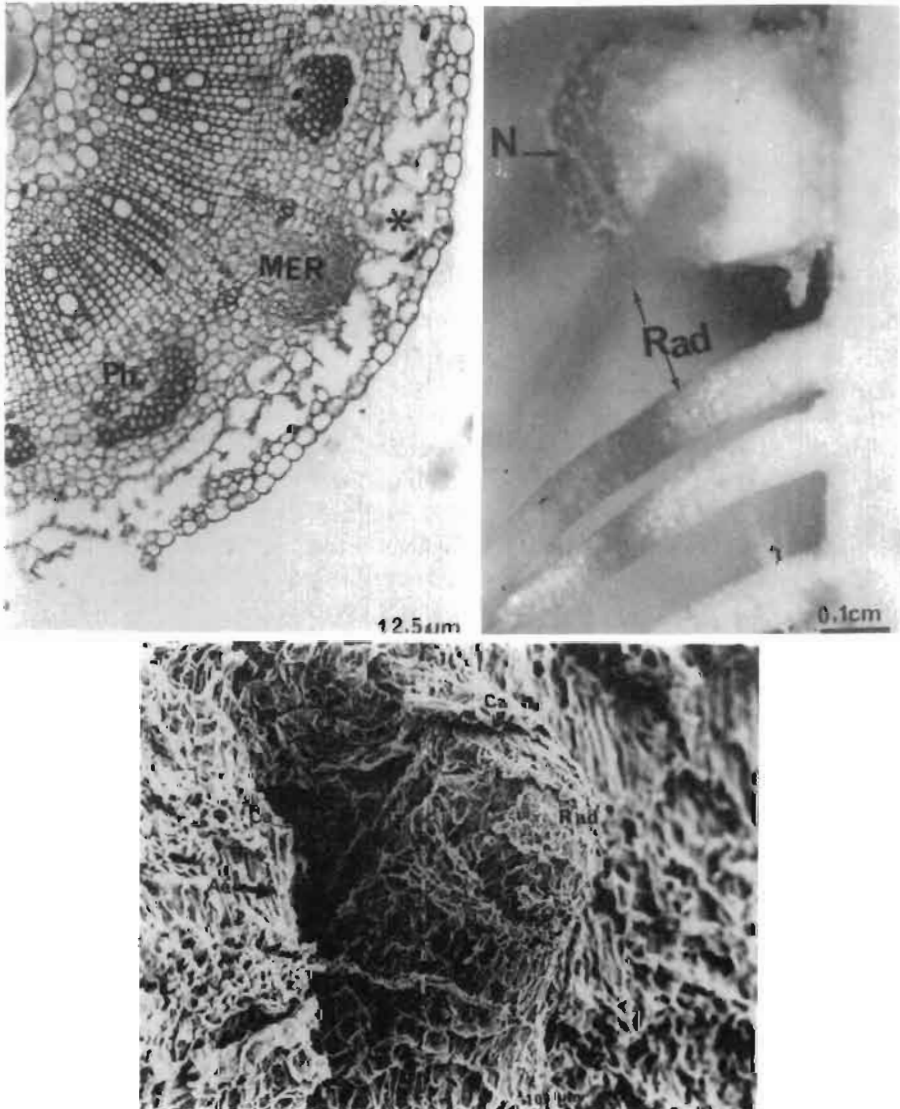


Figure 2. (a) La coupe (du niveau 3 ci-contre) révèle la structure du méristème de l'ébauche racinaire en cours d'évolution (MER). Ph l phloème (tissu de la tige). Aérenchyme (Aé;*), se forme sous les assises de cellules corticales et de l'épiderme; la flèche indique une brèche ouverte dans l'épiderme de la tige. (b) Nodule mature de 19 jours chez *S. pubescens*. (c) Observations de relief des modifications anatomiques induites par l'eau (24 heures) sur le mamelon caulinaire type de *S. pubescens*. Au centre est visible l'extrusion de la racine; de part et d'autre, la brèche ouverte dans l'épiderme de la tige (petite flèche; la grande flèche indique la cavité annulaire).



Evolution du site de nodulation caulinaire non infecté

Lorsqu'on immerge un segment caulinaire d'une plante de *S. pubescens*, la plupart des primordia racinaires ou sites de nodulation donnent naissance à une racine adventive qui se ramifie. Les premières racines adventives apparaissent dès 24 heures après l'immersion. Leur croissance, relativement lente pendant les premiers jours d'immersion s'accélère après une semaine, la longueur des racines atteignant quelques fois 10 cm au bout de deux semaines. La vitesse d'émission de ces racines est plus grande à l'aisselle des cotylédons et des feuilles et diminue au fur et à mesure qu'on s'en éloigne.

L'apparition des racines adventives s'accompagne généralement d'une rupture de l'épiderme au niveau du primordium racinaire. Cette rupture se prolonge le long des génératrices et favorise le développement de l'aérenchyme. Tissu spongieux d'aspect blanchâtre, l'aérenchyme est constitué de cellules turgescentes issues du tissu cortical (Metcalfé 1931). Les nombreux chercheurs qui ont décrit ce phénomène, pensent que la fonction de l'aérenchyme est de fournir l'oxygène pour la respiration des tissus en immersion. On peut raisonnablement ajouter à cette fonction celle du transport de l'azote atmosphérique jusqu'au nodules formés sur les racines et les tiges en immersion.

Infection du site de nodulation et formation des nodules

Lorsqu'on inocule avec un *Rhizobium* spécifique un segment caulinaire immergé, on induit un méristème nodulaire qui s'accroît progressivement pour donner un jeune nodule plus ou moins sphérique au bout de 10 jours à deux semaines. Ces jeunes nodules sont enfouis sous l'aérenchyme et n'émergent nettement de ce tissu qu'à partir de la troisième semaine. A ce stade, ils sont verdâtres et leur diamètre varie de 2 à 3 mm. Au bout de trois à quatre semaines après l'inoculation, les nodules atteignent un diamètre de 4-5 mm (Fig. 2). A ce stade, ils se présentent comme de gros renflements ovoïdes à l'aisselle de longues racines adventives ramifiées qui portent de nombreux petits nodules.

La coupe longitudinale d'un site infecté depuis quatre ou cinq jours montre que le méristème nodulaire se différencie à la base de l'ébauche racinaire, dans le cortex interne. La coupe transversale du jeune nodule montre une organisation interne constitué d'un tissu central composé de nombreuses cellules méristématiques. Ce tissu est entouré d'un parenchyme cortical chlorophyllien recouvert à la périphérie par un périoderme. Dans le nodule mature, le tissu central est envahi par les bactéroïdes. Le nombre de nodules caulinaires varie avec les souches de *Rhizobium* et la date d'inoculation. Il est plus élevé lorsque l'inoculation est effectuée pendant les trois premiers jours d'immersion des tiges. Tous les sites de nodulation n'évoluent pas en nodules; en moyenne, 60 à 70% des sites donnent naissance à des nodules après environ un mois d'immersion.

CONCLUSION

L'étude de la structure du site de nodulation caulinaire de *S. pubescens* a permis de montrer que son ébauche racinaire est protégé par une assise de cellules épidermiques et se trouve

ainsi inaccessible aux *Rhizobium*. De ce fait, l'immersion des tiges entraînant la rupture de l'épiderme est nécessaire pour obtenir l'infection par les *Rhizobium*. Nous pouvons néanmoins considérer qu'il existe maintenant dans le genre *Sesbania*, deux espèces à nodules caulinaires correspondant à deux types de sites: le type *rostrata* avec un site bien développé dont l'ébauche racinaire perce l'épiderme de la tige, et le type *pubescens* dont le site, moins développé, possède une ébauche racinaire recouverte par une assise de cellules épidermiques.

Chez *S. rostrata*, on peut induire le méristème nodulaire seul alors que chez *S. pubescens*, cette induction doit être absolument précédée par l'activation du méristème radicaire. Le potentiel de nodulation de *S. pubescens* en conditions d'immersion est considérable, dans la mesure où cette plante est également capable de former des nodules fixateurs d'azote sur les racines adventives et leurs nombreuses ramifications. De ce fait, *S. pubescens* constitue comme *S. rostrata*, un candidat potentiel de choix pour son utilisation comme engrais vert en riziculture irriguée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alazard D. and Duhoux E. (1988). Diversity of stem nodulation sites in *Aeschynomene* spp. *J. Plant Physiol.* Vol. 132. pp. 123-125.
- Dreyfus B.L., Alazard D. and Dommergues Y.D. (1984). In: *Current perspectives in microbial ecology*. American Society for Microbiology, Washington D.C. pp. 161-169.
- Duhoux E. et Dreyfus G.L. (1982). Nature des sites d'infection par le *Rhizobium* de la tige de la légumineuse, *Sesbania rostrata* Brem. *C.R. Acad. Sci. Paris* 294: 407-411.
- Metcalf C.R. (1931). The "aerencyhma" of *Sesbania* and *Neptunia*. *Kew Bulletin of Miscellaneous Information. 1931.* pp. 151-154.
- Tsien H.C., Dreyfus B.L. and Schmidt E.L. (1983). Initial stages in the morphogenesis of the nitrogen-fixing stem nodules of *Sesbania rostrata*. *J. Bacteriol.* 156: 888-897.

**INTERACTIONS PLANTES
MICROORGANISMES**

**SENEGAL
FEBRUARY 1992**

ifs

Fondation Internationale pour la Science

INTERACTIONS PLANTES MICROORGANISMES

INTERACTIONS BETWEEN PLANTS AND MICROORGANISMS

**Compte rendu du séminaire régional organisé par
la Fondation Internationale pour la Science (IFS)
et l'Institut Français de Recherche Scientifique
pour le Développement en Coopération (ORSTOM)**

**Dakar, Sénégal
17-22 février 1992**

Organisateurs:

Fondation Internationale pour la Science (IFS)
Institut Français de Recherche Scientifique
pour le Développement en Coopération (ORSTOM)

Co-financé par:

Institut Français de Recherche Scientifique
pour le Développement en Coopération (ORSTOM)
Islamic Educational, Scientific and Cultural Organization (ISESCO)
Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale (CTA)

Publié par:

Fondation Internationale pour la Science (IFS)
Grev Turegatan 19, 114 38 Stockholm, Sweden

Rédaction:

Judith N. Wolf

Les communications qui figurent dans cette publication ont été reproduites telles que soumises et n'ont pas été revues par des pairs, ni révisées du point de vue scientifique par la Fondation Internationale pour la Science (IFS). Les opinions exprimées n'engagent que les auteurs et pas la Fondation Internationale pour la Science (IFS).

La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les "copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective" et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, "toute représentation ou reproduction intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droits ou ayants cause, est illicite" (alinéa 1er de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code Pénal.

ISBN: 91 85798 31 2