

NODULATION CAULINAIRE ET MORPHOGENESE *IN VITRO* CHEZ *SESBANIA ROSTRATA* BREM (LEGUMINOSEAE) ET DEUX MUTANTS: LE MUTANT "SANS SITE DE NODULATION" ET LE MUTANT "INSENSIBLE A LA PHOTOPERIODE"

M.M. SPENCER-BARRETO*, A. MBODJ*, A.D. SIMA*, A.S. TRAORE*,
P. DELAJUDIE**, K. TOMEKPE**, C. DETREZ**

*Université C.A.D., Faculté des Sciences, Département de Biologie Végétale, Dakar, Sénégal

**Centre de recherche I.S.R.A./O.R.S.T.O.M. Bel-Air,
Laboratoire de Microbiologie des sols, Dakar, Sénégal

Résumé: Une étude comparative de la nodulation et de la croissance a été effectuée chez trois phénotypes de *Sesbania rostrata* Brem: le phénotype sauvage, le mutant "S.S.", sans sites de nodulation apparents sur la tige et le mutant "I.P.", insensible à la photopériode, tous deux obtenus au laboratoire de Microbiologie des sols de l'ORSTOM - Dakar. Par ailleurs, la culture *in vitro* de fragments de cotylédons de *S. rostrata* a été réalisée sur milieu de Murashige et Skoog additionné de divers sucres (saccharose, glucose, lactose et fructose) et régulateurs de croissance (ANA, BAP, Zéatine et Kinétine). Elle a conduit à l'obtention de bourgeons par caulogénèse adventive directe. Le taux de régénération obtenu permet d'envisager l'utilisation de cette voie d'organogénèse dans un programme de transformation génétique par *Agrobacterium tumefaciens* pour, notamment, l'étude de l'expression de gènes impliqués dans la nodulation caulinaire.

Abstract: A comparative study was done on the nodulation and growth of three phenotypes of *Sesbania rostrata* Brem. It included the wild phenotype, the mutant "S.S." (without any obvious nodulation on the stem) and the mutant "I.P.", which is insensitive to photoperiod; both mutants were obtained from the ORSTOM Laboratory for Soil Microbiology in Dakar. Moreover, the *in vitro* culture of fragments of *S. rostrata* cotyledons was realized in a Murashige and Skoog medium, to which various sugars (sucrose, glucose, lactose and fructose) and growth regulators (NAA, BAP, zeatin and kinetin) were added. Buds were thus obtained by direct adventitious caulogenesis. The rate of regeneration obtained enables the use of this method of organogenesis to be envisaged in a programme of genetic processing by *Agrobacterium tumefaciens*, namely for the study of genes involved in caulinary nodulation.

Sesbania rostrata Brem. est une légumineuse tropicale annuelle appartenant à la sous-famille des Papilionoïdeae (Berhaut 1976) et à la tribu des Papilionoïdeae-Robinieae (Golblatt 1981). Cette tribu comprend 21 genres recensés essentiellement au Mexique, en Inde (régions occidentales), en Afrique et dans le Nord de l'Amérique du Sud. Le genre *Sesbania* est particulièrement répandu dans les régions humides et sub-humides des Tropiques. Au Sénégal, *S. rostrata* se rencontre dans les sols humides, aux abords des fleuves (Sénégal, Sine et Saloum et Casamance), dans les Niayes (dépressions interdunaires littorales où la nappe phréatique affleure) et dans les rizières. *Sesbania rostrata* se caractérise essentiellement par la présence sur la tige de nombreux primordia racinaires répartis le long de génératrices verticales, observables depuis le collet jusqu'au sommet de la plante (Duhoux et Dreyfus 1982). Lorsqu'ils sont infectés par *Azorhizobium caulinodans*, ces primordia racinaires se développent en nodules caulinaires fixateurs d'azote atmosphérique (Dreyfus and Dommergues 1981). La position aérienne des nodules confère à la plante la capacité à fixer l'azote en conditions d'inondation du sol et en présence d'azote minéral (Dreyfus and Dommergues

1981). Il a en outre été démontré que la nodulation caulinaire décuple les capacités fixatrices de l'espèce (Rinaudo *et al.* 1983).

Au stade actuel des recherches, une amélioration de l'effectivité de la symbiose *S. rostrata/A. caulinodans* est recherchée en agissant au niveau de la bactérie mais également au niveau de la plante. Dans ce dernier cas, les manipulations visent plus particulièrement à accroître la production de biomasse du *Sesbania* pour l'utilisation comme engrais vert (Allen and Allen 1981, Kapoor and Gupta 1986, Becker *et al.* 1988, Ndoye and Dreyfus 1988), à conforter les résistances de la plante face à certaines contraintes environnementales (photopériode, nématodes...) et à comprendre les phénomènes qui régissent la présence de sites de nodulation caulinaire et leur morphogenèse ultérieure. Notamment, la nature racinaire des sites de nodulation ouvre la voie à d'intéressantes investigations concernant les mécanismes cytophysiologiques de la rhizogenèse, et de l'organogenèse adventive *in vitro* (Duhoux 1984, Spencer-Barreto *et al.* 1989).

Au laboratoire de Microbiologie des sols de Bel-Air, une mutagenèse chimique par trempage des graines dans une solution d'Ethyl Méthane Sulfonate (E.M.S) a permis l'obtention de deux phénotypes mutants de *Sesbania rostrata*: un mutant (SS) sans site de nodulation apparent sur la tige et un mutant (IP) insensible à la photopériode pour la floraison, apte à fleurir quelle que soit la photopériode alors que le sauvage ne fleurit qu'en période de jours courts. Les résultats présentés dans cette communication ont pour but, d'une part, d'identifier et de comparer les caractéristiques de croissance et développement des parties aériennes et racinaires de *Sesbania rostrata* "sauvage" et des deux mutants "SS" et "IP", et d'autre part de proposer une méthode efficace de morphogenèse adventive *in vitro* chez *S. rostrata*.

MATERIEL ET METHODES

Etude comparative de la nodulation et de la croissance des trois phénotypes de S. rostrata

Des graines de *S. rostrata* sont scarifiées à l'acide sulfurique à 96% (30 min.) puis stérilisées à l'aide d'une solution d'hypochlorite de calcium à 7% pendant 20 minutes. Après un rinçage minutieux à l'eau distillée stérile les graines sont mises à germer dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau gélosée à 0,6%.

Les jeunes plantes de 2 à 3 cm sont repiquées, soit en pots de 17 cm x 21 cm contenant du sol de Bel-Air stérile, soit en tubes Gibson sur milieu gélosé incliné. Le milieu contient 20 ml de macroéléments et 5 ml de microéléments de la solution de base de Murashige et Skoog (1962) additionnés de fer chélaté (5 ml/l), et de 8 g/l d'agar (Bacto Agar). Le pH est ajusté à 5,7 avant autoclavage à 120° pendant 20 min.

Les cultures sont effectuées d'une part dans la salle de culture avec un éclairage continu de 3000 lux, une température comprise entre 27° et 29°C et une hygrométrie de 70%, d'autre part dans une serre de la station du centre de recherche ISRA/ORSTOM de Bel-Air. Les plantes ont été inoculées par badigeonnage des tiges ou injection dans le sol d'une suspension bactérienne de la souche d'*Azorhizobium caulinodans* (10⁹ cellules/ml) cultivée sur le milieu YL (Vincent 1970).

Morphogenèse in vitro à partir de fragments de cotylédons et d'embryons immatures

Les techniques de culture in vitro

Après germination axénique, les jeunes plantes sont sectionnées stérilement, de manière à isoler les cotylédons qui sont fragmentés et ensemencés sur milieu gélosé à raison de 20 fragments par boîte de Pétri. La base minérale et les vitamines de MS (1962) ont été utilisés, additionné ou non, avant autoclavage, d'un sucre (saccharose, glucose, lactose ou fructose) à différentes concentrations (15, 30 ou 60 g/l) et de phytorégulateurs. Quatre phytorégulateurs ont été testés dans les combinaisons suivantes:

Acide α naphthalène acétique (ANA) 1 mg/l	+	Benzylaminopurine (BAP) 1 mg/l
Acide α naphthalène acétique (ANA) 1 mg/l	+	Zéatine 1 mg/l
Acide α naphthalène acétique (ANA) 1 mg/l	+	Kinéatine 1 mg/l

L'agent gélifiant (Bacto Agar-Difco ou Past Agar A-Pasteur) est additionné à raison de 8 g/l. Le pH est ajusté à 5,4 - 5,6 par addition de soude (0,1N) avant autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. Après ensemencement, les explants sont transférés en chambre de culture à 27+2°C, sous un éclairage continu de 3000 lux.

Les techniques de microscopie électronique à balayage

Les observations ont été réalisées sur des fragments de cotylédons de *S. rostrata* fraîchement prélevés des cultures, puis essuyés délicatement sur du papier absorbant afin d'éviter la formation ultérieure de givre à la surface des échantillons lors du passage au froid. Après immersion dans l'azote liquide pendant 30 sec. à 1 min. les échantillons sont transférés dans le sas du microscope lui-même refroidi par une circulation d'azote liquide. L'observation des échantillons est effectuée sans métallisation préalable, les parois cellulaires renfermant suffisamment d'électrolytes pour assurer la conduction des électrons, sous reste relativement faible et comprise entre 10 à 15 kV (Vartanian 1983).

RESULTATS

Etude comparative de la nodulation et de la croissance des parties aériennes des différents phénotypes de S. rostrata

Les plantes des trois phénotypes cultivées en pots ont subi soit l'inoculation simple des racines séminales soit une double inoculation (racines séminales et sites d'infection de la tige). Ces plantes ainsi inoculées ont été maintenues dans deux conditions d'hydratation du sol: arrosage quotidien à la capacité au champ ou inondation des parties basales des tiges. Les plantes sont

récoltées après 70 jours de culture et plusieurs paramètres, reportés aux Tableau 1 et 2, ont été mesurés: nombre de nodules, poids des nodules, poids de la partie aérienne et hauteur des plantes. Le mutant "SS" présente une croissance nettement supérieure à celle des deux autres en condition non inondée, notamment en ce qui concerne le poids sec des plantes.

Tableau 1. Croissance et nodulation des trois phénotypes de *S. rostrata* en condition d'inondation du sol

Phénotype	Traitement	Nb. de nod./pl.	Poids sec des nod. (g/pl.)	Hauteur des plantes (cm/pl.)	Poids sec des parties aériennes (g/pl.)
Sauvage	Témoin	26,8 a	0,7 ab	166,7	17,6 a
	Rac. inoc.	183,3 bc	0,6 ab	193,3	21 a
	Rac. + tig. inoc.	173,6 c	0,3 a	195,2	19 a
"IP"	Témoin	307 a	0,9 a	180,2	18,4 a
	Rac. inoc.	191 bc	0,2 b	203,5	20 a
	Rac. + tig. inoc.	112,3 cd	0,7 ab	188	17,8 a
"SS"	Témoin	57,4 d	1,3 ab	117,5	10,1 b
	Rac. inoc.	67,4 d	1,8 a	167,8	14,1 b

Tableau 2. Croissance et nodulation des trois phénotypes de *S. rostrata* en condition de drainage du sol (= non inondation)

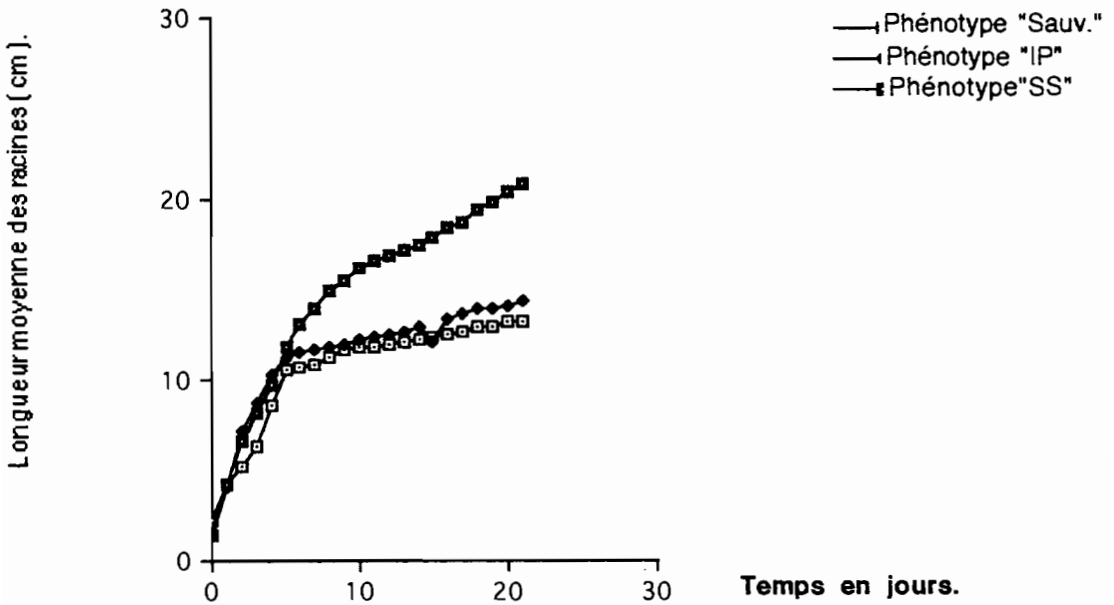
Phénotype	Traitement /plante	Nb. de nod/pl.	Poids sec des nod. (g/pl.)	Hauteur des plantes (cm/pl.)	Poids sec des parties aériennes (g/pl.)
Sauvage	Témoin	124 ab	0,9 a	175	15,8
	Rac. inoc.	103,3 ab	0,5 b	189	16,6 b
	Rac. + tig. inoc.	118,3 a	0,4 bc	187	20,9 b
"IP"	Témoin	131,1 a	0,4 bc	183	15,6 b
	Rac. inoc.	140,1 a	0,3 bc	177	17,7 b
	Rac. + tig. inoc.	112,5 ab	0,2 bc	173	20,4 b
"SS"	Témoin	53,06 b	1,0 ab	152a	19,8 b
	Rac. inoc.	53,6 b	0,7 ab	182	27,1 a

N.B. Chaque chiffre est la moyenne de six répétitions par phénotype. Pour une même colonne les chiffres suivis de la même lettre ne sont pas significativement différents au seuil de 5% (Newman and Keuls 1957).

Croissance des racines séminales des différents phénotypes de S. rostrata

Des plantes des trois phénotypes ont été cultivées en tubes Gibson sur milieu gélosé. Des mesures quotidiennes de la longueur des racines ont été effectuées à partir du repiquage jusqu'au 21ème jour. La figure 1 illustre l'élongation racinaire obtenue sur la base de 30 mesures par phénotype. Il n'apparaît pas de différence nette entre l'élongation racinaire du phénotype sauvage et du phénotype "IP". Par contre le phénotype "SS" présente une croissance racinaire significativement plus importante.

Figure 1.



Croissance des racines séminales des 3 phénotypes de *S. rostrata*..

Morphogenèse in vitro des fragments de cotylédons de S. rostrata

Callogenèse et rhizogenèse

La culture *in vitro* de fragments de cotylédons de *S. rostrata* peut conduire à la formation de cals, de structures racinaires, ou encore de bourgeons adventifs. Ces différentes voies de morphogenèse sont directement liées à l'addition à la base minérale et aux vitamines de MS, de sucres et de régulateurs de croissance. A l'exclusion du milieu témoin MS, non supplémenté, des cals se développent quel que soit le milieu de culture testé, dès le 5ème jour de culture. Ils s'initient exclusivement sur les zones de sectionnement des explants. La

formation de structures racinaires ou pseudoracinaires, caractérisées précocément par une base proéminente et une pointe chlorophyllienne, interviennent un peu plus tardivement, vers le 10ème jour. Ces structures n'ont jamais été observées, ni dans le milieu de culture additionné de fructose à 15 g/l, ni dans le milieu témoin.

Etude morphologique et histologique des bourgeons adventifs

Les premières manifestations d'une caulogénèse adventive s'observent à la fin de la première semaine de culture. De petites protubérances fortement chlorophylliennes que nous appelons "points végétatifs" apparaissent alors à la surface des explants, associées ou non à une zone de sectionnement de l'explant. L'observation, en microscopie électronique à balayage, de coupes axiales des points végétatifs montre sous l'assise des cellules épidermiques de l'explant associée à deux à trois assises de cellules sous épidermiques, une zone constituée de petites cellules méristématiques.

La morphogénèse se poursuit en position interne du dôme de cellules épidermiques et sous épidermiques comme on peut l'observer sur une coupe axiale réalisée vers le 12ème jour de culture (Fig. 2). Elle conduit à l'élaboration des premiers primordia foliaires. Au début de la deuxième semaine de culture, des bourgeons émergent de l'épiderme de l'explant, à raison d'un ou plusieurs bourgeons par point végétatif (Fig. 3). Notons que dans aucun cas on n'observe la formation transitoire de cal; il s'agit donc un bourgeonnement adventif direct et d'origine endogène.

Influence de la source de carbone sur le bourgeonnement adventif des fragments de cotylédons de *S. rostrata*

De nombreux travaux relatifs au bourgeonnement adventif ont montré que l'addition d'une source de carbone, généralement sous la forme d'un sucre, est indispensable à l'induction d'une morphogénèse *in vitro*, parmi les plus récents nous citerons, Niedz *et al.* (1989) et Sharma *et al.* (1990). Il apparaît très nettement sur la figure 3 que le glucose à 15 g/l et le lactose à 30 g/l sont les plus favorables à l'induction d'une caulogénèse adventive chez *S. rostrata*. Ces deux sucres montrent des effets inhibiteurs de la caulogénèse à des concentrations plus élevées (60 g/l).

Influence de l'agent gélifiant

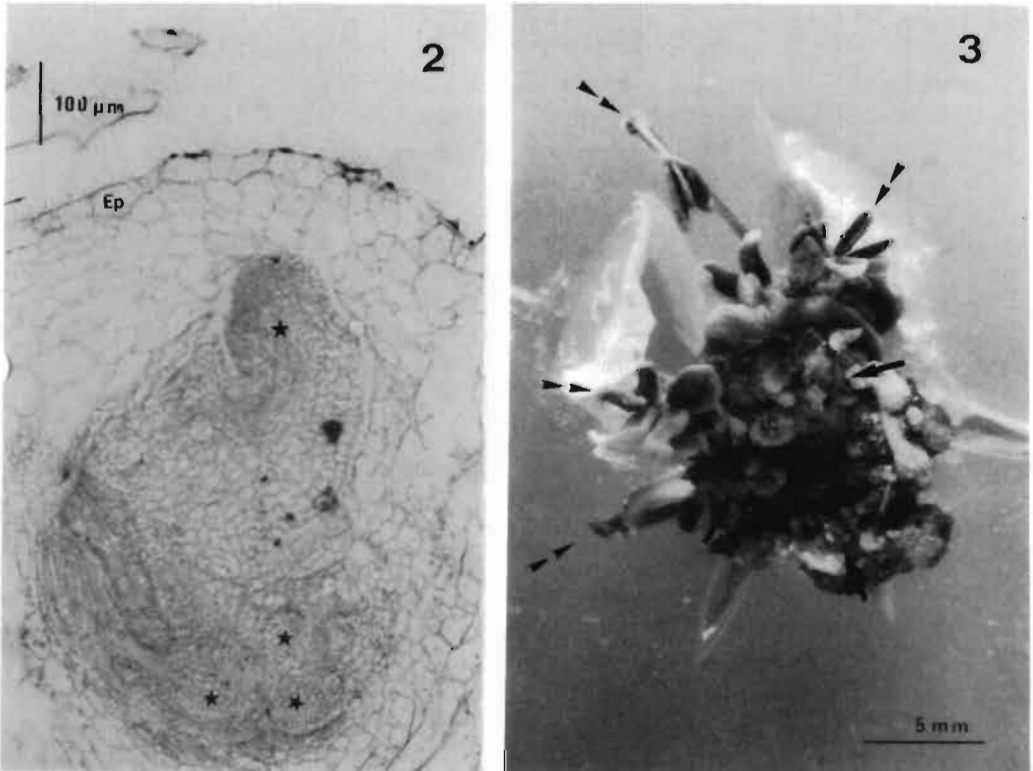
Nous avons ici comparé les taux de caulogénèse en présence de Bacto Agar-Difco ou de Past Agar A-Pasteur. 65% des explants cotylédonnaires ont manifesté une caulogénèse en présence de Bacto agar additionné au milieu MS+lactose 30g/l.

Pour des conditions de culture, par ailleurs identiques, moins de 10% des explants sont caulogènes en présence de Past Agar A. Les taux de bourgeonnement les plus élevés en présence de Past Agar ont été relevés sur le milieu MS+Lactose 30g/l+ glucose 15g/l.

Figure 2. Coupe transversale, observée en microscopie photonique, d'un fragment cotylédonnaire organogène de *Sesbania rostrata*. Noter la présence, au sein des assises sous-épidermiques de l'explant, de zones méristématiques en cours d'organisation (étoiles).

Ep: épiderme du fragment cotylédonnaire.
Inclusion: Paraplast; Coloration: Bleu de méthylène.

Figure 3. Surrection (flèches) et élongation (double flèches) des bourgeons adventifs néoformés par caulogénèse adventive directe sur un fragment cotylédonnaire de *Sesbania rostrata*



Influence de phytorégulateurs de type cytokinique

Trois cytokinines ont été étudiées: la BAP, la Kinétine et la Zéatine à la même concentration de 1 mg/l; elles ont été associées dans chaque expérimentation à 1 mg/l d'ANA et additionnée à la base de MS+lactose 30 g/l+glucose 15 g/l+Past Agar. Le tableau 3 souligne un effet caulogène indiscutable de la BAP à 1 mg/l.

Tableau 3. Influence de trois cytokinines sur le pourcentage de bourgeons adventifs obtenus en culture *in vitro* de fragments de cotylédons

Temps (jours)	BAP + ANA (1 mg + 1 mg/l)	K + ANA (1 mg + 1 mg/l)	Z + ANA (1 mg + 1 mg/l)
5	0	0	0
10	0	0	0
15	19	0	0
20	20	0	0

Additionné à la base MS+lactose 30g/l+Bacto Agar, la Kinétine et la Zéatine se sont révélées inefficaces à induire le bourgeonnement adventif.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Des résultats relatifs à la croissance et la nodulation des trois phénotypes de *S. rostrata*, il ressort que le mutant "IP" présente le même comportement que le phénotype sauvage dans les deux conditions d'hydratation du sol. Par contre le mutant "SS" se développe beaucoup mieux en condition de drainage. Ce phénotype semble donc moins bien adapté que les deux autres aux milieux inondés, sites naturels de ces plantes. Ce comportement pourrait s'expliquer par l'absence de sites de nodulation caulinaire chez le mutant "SS" et confirme le rôle des sites eux-mêmes quant à l'écologie de la plante. Moundiongui (1987) a en effet montré qu'en condition d'inondation, la fixation d'azote au niveau de la plante est assurée en quasi totalité par les nodules aériens, les nodules de racines intervenant pour une part très minime.

Par ailleurs, des travaux antérieurs ont montré que les sites de nodulation de *S. rostrata* qui sont en fait des ébauches de racines adventives, peuvent intervenir dans la nutrition hydrique et minérale de la plante (Spencer-Barreto *et al.* 1989). Ces structures racinaires "en attente" déjà décrites chez d'autres plantes (Vartanian 1971) permettraient à la plante de se développer rapidement en condition d'inondation par l'établissement d'une surface absorbante plus importante.

Le mutant "SS" se caractérise à la fois par l'absence des sites de nodulation aérienne, c'est-à-dire par l'absence d'ébauches racinaires adventives sur la tige et par un développement plus important du pivot racinaire comparé aux deux autres phénotypes de *S. rostrata*. L'étude

génétique et moléculaire de ce mutant pourrait donc permettre l'isolement de gènes impliqués dans l'induction et l'élongation racinaire et l'étude fondamentale de la rhizogenèse zygotique ou adventive. Nos travaux relatifs à l'organogenèse adventive en culture de cotylédons ont permis d'atteindre un taux de bourgeonnement adventif équivalent à 65% d'explants caulogènes et à la néformation de 5 à 10 bourgeons par explant caulogène, ce qui constitue un accroissement très sensible des taux antérieurement rapportés par Vachlova *et al.* (1987).

Les résultats relatifs à l'influence des sucres ouvrent, en outre, des perspectives intéressantes quant aux possibilités d'amélioration des potentialités organogènes de *Sesbania rostrata* en culture *in vitro*. Il est en effet exceptionnel d'utiliser le lactose et non le saccharose ou le glucose, pour promouvoir l'organogenèse adventive et le métabolisme de ce sucre au cours de la culture de cotylédons devra être étudié.

Ainsi, la sensibilité de *S. rostrata* à *Agrobacterium tumefaciens* et *A. rhizogenes* (Vachlova *et al.* 1987) et la mise au point d'une technique efficace et reproductible d'organogenèse *in vitro*, constituent deux acquis fondamentaux pour des expériences futures de transformation, par exemple chez le mutant "sans site" de *S. rostrata*, en vue d'une étude moléculaire de l'expression de gènes impliqués dans la nodulation caulinaire.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Allen O.N. and Allen F.K. (1981). *The Leguminosae. A source of characteristics, uses and nodulation*. Madison Wisconsin (E.U.) University of Wisconsin Press.
- Becker M., Ladha J.K., Watanabe I. and Ottow J.C.G. (1988). Seeding vs vegetative propagation of the stem nodulating green manure *Sesbania rostrata*. *Biol. fertil. Soils*. 6: 279-281.
- Berhaut J. (1976). *Flore illustrée du Sénégal*. Clairafrique éd. Dakar, Tome 5. 1485 pp.
- Dreyfus B.L. and Dommergues Y. (1981). Nitrogen-fixing nodules induced by *Rhizobium* on the stem of the tropical legume *Sesbania rostrata*. *Microb. Lett.* 10: 313-317.
- Duhoux E. et Dreyfus B.L. (1982). Nature des sites d'infection par le *Rhizobium* de la tige de la légumineuse *Sesbania rostrata* Brem. *C.R. Acad. Sc. Paris*. 294: 407-411.
- Duhoux E. (1984). Ontogenèse des nodules caulinaires de *Sesbania rostrata*. *Can. J. Bot.* 62: 982-994.
- Goldblatt P. (1981). Cytology and phylogeny of Leguminosae. *In: Advances in legume systematics*. R.M. Polhill and P.H. Raven, Eds. Royal Botanical Gardens. Kew. 2: 427-463.
- Kapoor S. and Gupta S.C. (1986). Rapid *in vitro* differentiation of *Sesbania bispinosa* plants: a leguminous shrub. *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture*. 7: 263-268.
- Moundiongui A. (1987). *Sesbania rostrata*, légumineuse à nodules caulinaires: fixation symbiotique de l'azote et utilisation comme engrais vert. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard. Lyon I.
- Murashige T. and Skoog F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*. 15: 473-497.
- Ndoye I. and Dreyfus B.L. (1988). Nitrogen fixation by *Sesbania rostrata* and *S. sesban* estimated using ¹⁵N and total N difference methods. *Soil Biol. Biochem.* 20: 209-213.
- Niedz R.P., Smith S.S., Dunbar K.B., Stephens C.T. and Murakishi H.H. (1989). Factors influencing shoot regeneration from cotyledonary explants. *Plant, Cell, Tissue, and Organ Culture* 189: 313-319.
- Rinaudo G., Dreyfus B.L. and Dommergues Y.R. (1983). *Sesbania rostrata* green manure and nitrogen content of crop and soil. *Soil Biol. Biochem.* 15: 111-113.

- Sharma K.K., Bhojawani S.S. and Thorpe T.A. (1990). Factors affecting high differentiation of shoots and roots from cotyledon explants of *Brassica juncea* L. *Czern. Plant. Science* 66: 247-253.
- Spencer-Barreto M.M., Gagnaire J., Plebin R., Beaudoin G. et Duhoux E. (1989). Les mamelons caulinares de *Sesbania rostrata* Brem: développement en racines adventives et rôle dans l'absorption minérale. *Acta Oecologia. Oecol. Plant.* 4: 411-422.
- Vachlova M., Metz A. B., Shell J. and Bruijn F.J. (1987). The tropical legume *Sesbania rostrata*: tissue culture, plant regeneration and infection with *Agrobacterium tumefaciens* and *A. rhizogenes* strains. *Plant Science.* 50: 213-223.
- Vartanian N. (1971). Action morphogénétique du facteur hydrique sur le système racinaire de *Sinapis alba* L.- Rhizogénèse et potentiel hydrique. *Rev. gén. Bot.* 78: 19-20.
- Vincent J.M. (1970). A manual for the practical study of root nodule bacteria. IBP. Handbook No. 15. Blackwell, Oxford. 164 pp.

**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