

**ACACIA ALBIDA, UNE LEGUMINEUSE ARBORESCENTE  
A FORT POTENTIEL MYCORHIZIEN  
ET FIXATEUR D'AZOTE**

M. GUEYE\*, T. DIOP\*\*, B. NDAO\*

\*MIRCEN Centre ISRA-ORSTOM B.P. 1386 Dakar, Sénégal

\*\*Centre ISRA-ORSTOM B.P. 1386 Dakar, Sénégal

***Résumé:** Dans les zones sahéliennes et soudano-guinéennes du Sénégal, Acacia albida révèle une vie symbiotique très active. La symbiose se manifeste pendant les grandes phases de développement de l'arbre (jeunes et adultes) puis sur des drageons et indépendamment des saisons. Des échantillons de racines de Acacia albida prélevés à différentes périodes et sur différents sites au Sénégal ont montré la présence simultanée d'endomycorhizes et de nodules. Acacia albida présente donc une double infection par les champignons endomycorhiziens et les rhizobiums. Une étude en serre de l'effectivité de trois souches de Rhizobium en présence et en absence de Glomus mossae a été réalisée sur des semis d'Acacia albida cultivés en gaines contenant du sol stérile. Cette étude a montré que l'association symbiotique la plus performante a été Acacia albida x Souche de Rhizobium MAO 266 pour laquelle il y a un meilleur indice de nodulation, puis une augmentation significative de l'activité nitrogénasique comparativement aux autres associations Acacia albida x MAO 222 et Acacia albida x MAO 236 (+129% et 223% respectivement).*

***Abstract:** Acacia albida shows a very active symbiotic life in the Sahelian and Sudano-Guinean zones of Senegal. Symbiosis is manifested during the different development phases (suckers, youth, adult), and does not depend on the season. Acacia albida roots have been sampled at different seasons and at different sites in Senegal. Endomycorrhiza and nodules have been found at the same time. Acacia albida thus has a double infection, by endomycorrhizal fungi and by rhizobia. A study was carried out on the effectiveness of three strains of Rhizobium -in the presence and absence of Glomus mossae - on Acacia albida cultivated in the greenhouse in sheaths containing sterile soil. The study showed that the most productive symbiotic association was Acacia albida x Rhizobium strain MAO 226 which has a better nodulation index, and a significantly greater nitrogenasic activity than other associations such as Acacia albida x MAO 222 and Acacia albida x MAO 236 (+129% and 223% respectively).*

*Acacia albida* est un arbre fixateur d'azote très répandu dans les écosystèmes forestiers tropicaux africains. Son cycle végétatif inversé lui confère de multiples avantages parmi lesquels un effet très bénéfique au rendement des cultures pratiquées sous l'arbre. Cependant, le potentiel de *A. albida* dans la gestion de la flore fixatrice d'azote est totalement méconnu.

La présente communication rapporte les résultats des études prospectives conduites au Sénégal, dans le cadre de la lutte contre la désertification, pour l'inoculation de *A. albida* en pépinière avec des souches de *Bradyrhizobium* et des souches d'endomycorhizes.

## MATERIEL ET METHODES

### *Evaluation du potentiel endomycorhizien de Acacia albida*

Le potentiel endomycorhizien (nombre et viabilité des spores, infection des racines) a été évalué chez des sujets d'*A. albida* jeunes et adultes puis sur des drageons. Cette évaluation a été effectuée en saison sèche et en saison humide dans quatre localités sélectionnées dans l'aire géographique d'*A. albida* au Sénégal: Louga et Diokoul dans la zone sahélienne et Djinaki et Cabrousse dans la zone soudano-guinéenne.

**Nombre et viabilité des spores:** Cent grammes d'un échantillon prélevé au pied de chaque arbre ont été mis en suspension dans 900 ml d'eau. Après une agitation vigoureuse et une décantation le surnageant a été recueilli dans un bécher et le culot remis en suspension dans 900 ml d'eau. L'opération a été répétée cinq fois de façon à collecter toutes les spores contenues dans les 100 g de sol. Le surnageant a été ensuite versé à travers un tamis de 50  $\mu\text{m}$  et le dépôt récupéré dans 20 ml d'eau à partir desquels un prélèvement de 5 ml a été effectué. Ce prélèvement a été ensuite déposé sur une lame de verre creuse, graduée pour le dénombrement des spores sous un microscope photonique. Le nombre total de spores a été rapporté aux 100 g de sol. Le nombre de spores viables contenues dans le même échantillon de sol a été évalué dans les mêmes conditions selon la méthode de An *et al.*, (1990a, 1990b).

**Infection mycorhizienne:** Des fragments racinaires de chaque plante ont été collectés et lavés à l'eau pour éliminer toutes les particules de sol. Ils ont été ensuite colorés au bleu de trypan 10% dans du lactophénol (Phillips et Hayman 1970). Le pourcentage d'infection racinaire selon la formule suivante:

$$\% \text{ d'infection} = \frac{\text{Nombre de fragments racinaires infectés}}{\text{Nombre de fragments racinaires observés}} \times 100$$

### *Criblage de souches de Rhizobium sur Acacia albida en présence ou en absence de Glomus mossae*

Des graines de *A. albida* stérilisées sont mises à germer pendant 2 j dans des boîtes de Pétri contenant de l'eau gélosée stérile. Chaque plantule a été ensuite transplantée dans une gaine contenant 1 kg de sol stérile prélevé à Séo, dans la région centre nord du Sénégal. Le sol de Séo a un pH (eau) de 6,43 et renferme 460 ppm C total, 45 ppm N total, 136 ppm P total et 12 ppm P assimilable (Olsen *et al.* 1954). Au moment de la transplantation, les plantules ont été réparties en deux lots pour deux expériences conduites simultanément.

Dans la première expérience, chaque plantule a été inoculée avec 1 ml d'une suspension de *Rhizobium* sélectionnée au MIRCEN de l'Afrique de l'Ouest (MAO) contenant  $10^9$  cellules/ml. Trois souches de *Rhizobium* ont été utilisées pour cette expérience: MAO 222, MAO 226, MAO 236. Un traitement non inoculé avec une souche de *Rhizobium* servait de témoin. La deuxième expérience comportait les quatre traitements décrits dans la première expérience. De plus, chaque plantule a été inoculée avec 10 ml d'une suspension d'hyphes et de spores

de *Glomus mossae* préparé comme décrit par Gueye et Bordeleau (1987). Tous les traitements des deux expériences sont répétés cinq fois. Les plantules sont arrosées quotidiennement avec de l'eau de robinet, et une fois par semaine avec 100 ml de solution nutritive Hewitt diluée au 1/4 (Hewitt 1966). Trois mois après la transplantation (MAT), l'infection mycorhizienne a été déterminée comme précédemment; la FBA a été estimée par l'activité réductrice d'acétylène (ARA), (Hardy *et al.* 1968), l'indice de nodulation (I. Nod), (Gueye *et al.* 1988), le poids sec des parties aériennes et des nodules, l'azote total et le phosphore total des parties aériennes.

### RESULTATS ET DISCUSSION

#### *Présence de spores de champignons endomycorhiziens*

Dans les quatre localités le nombre de spores varie de 1,5 à 2 spores par gramme de sol (Fig. 1) contrairement aux sols du centre-est d'Angleterre (Read *et al.* 1976) et aux sols du Kentucky (An *et al.* 1990). Les spores observées sont généralement jaunes, jaunes-oranges ou noires appartenant au genre *Glomus* ou *Gigaspora*. Dans toutes ces localités, le nombre de spores par gramme de sol (plus important autour des racines des jeunes *A. albida*) augmente en saison des pluies: chez les jeunes, l'augmentation a été de +126%, +145%, +83%, +67% respectivement à Louga, Diokoul, Djinaki et Cabrousse; chez les adultes, les accroissements respectifs ont été de +150%, +530%, +102% et +99% (Fig. 1). Dans les deux cas, l'accroissement du nombre de spores est plus marqué en zone sahélienne qu'en zone soudano-guinéenne: cela s'explique par la réaction des endomycorhizes qui forment beaucoup de spores en condition de stress hydrique (Diop 1990); d'autre part, l'augmentation de spores en zone sahélienne est plus marquée chez *Glomus* sp. que chez *Gigaspora* sp.

#### *Viabilité des spores d'endomycorhizes*

Le nombre de spores viables dans tous les sols étudiés est relativement faible, malgré le nombre élevé de spores estimé dans chaque échantillon (Fig. 2). Dans ces conditions, l'inoculation avec un grand nombre de spores viables d'un champignon endomycorhizien convenablement choisi pourrait avoir un effet significatif sur la croissance de jeunes plantules de *Acacia albida*. Chez les *A. albida* (jeunes ou adultes), le nombre de spores viables par gramme de sol augmente dans toutes les localités pendant la saison des pluies. Cette augmentation est plus significative à Louga (localité de la zone sahélienne où l'on observe la faible densité de spores) qu'à Cabrousse (localité de la zone guinéenne où on a observé la plus forte densité de spores dans le sol). Ces résultats montrent qu'il y a aucune corrélation entre le nombre total de spores et le nombre de spores viables confirmant ainsi ceux de Read *et al.* (1976).

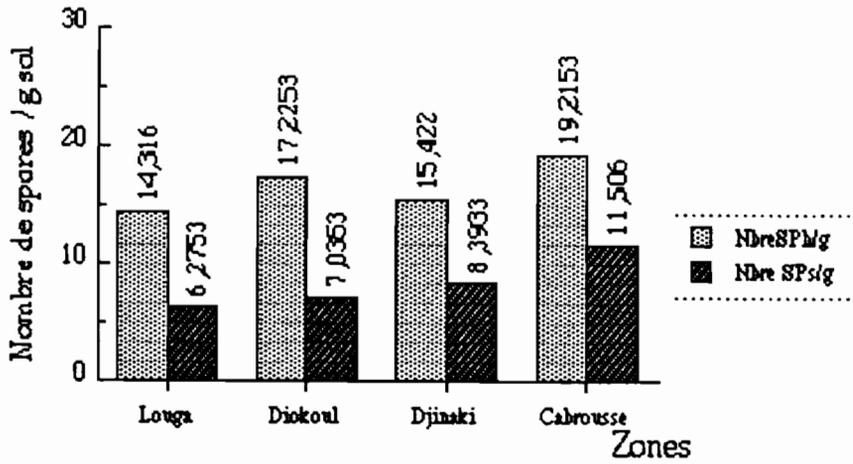
#### *Colonisation des racines de Acacia albida par les endomycorhizes*

Chez les *A. albida* jeunes ou adultes, les pluies n'ont pas une action significative sur la colonisation des racines par les endomycorhizes. En saison sèche ou en saison des pluies,

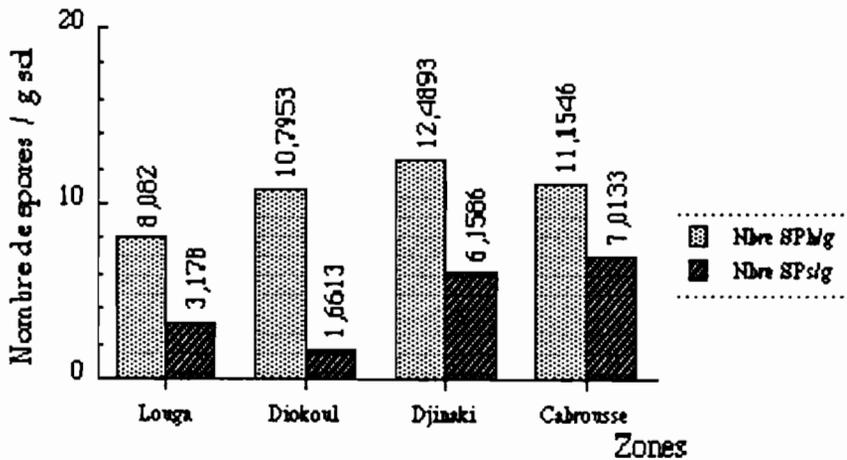
50% des cellules végétales sont envahies par le mycélium endomycorhizien (Fig. 3) malgré le faible nombre de spores viables présentes dans ces sols. Ceci montre que la colonisation des racines de *A. albida* peut être effectuée par les hyphes mycéliens.

Figure 1. Nombre de spores récoltées au pied de *Acacia albida* dans différentes zones du Sénégal. Nombre de spores par gramme de sol en saison des pluies (Nbre SPH/g); nombre de spores par gramme de sol en saison sèche (Nbre SPs/g); chaque colonne représente la valeur moyenne de 15 répétitions.

### *Acacia albida* jeune

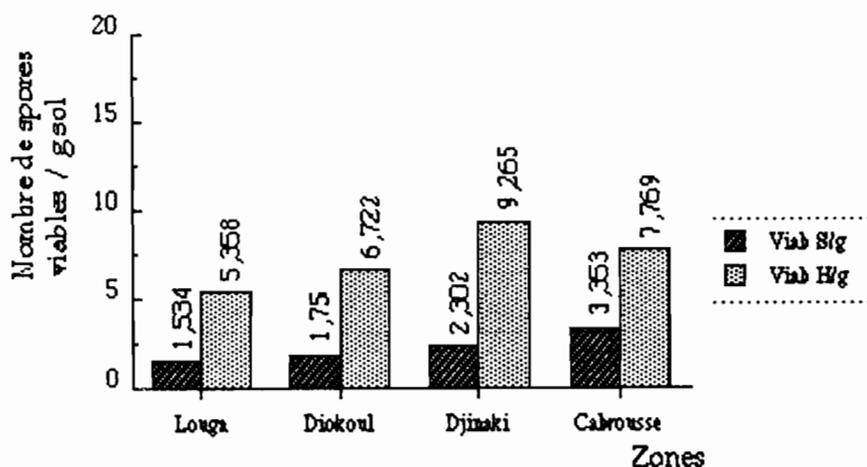


### *Acacia albida* adulte

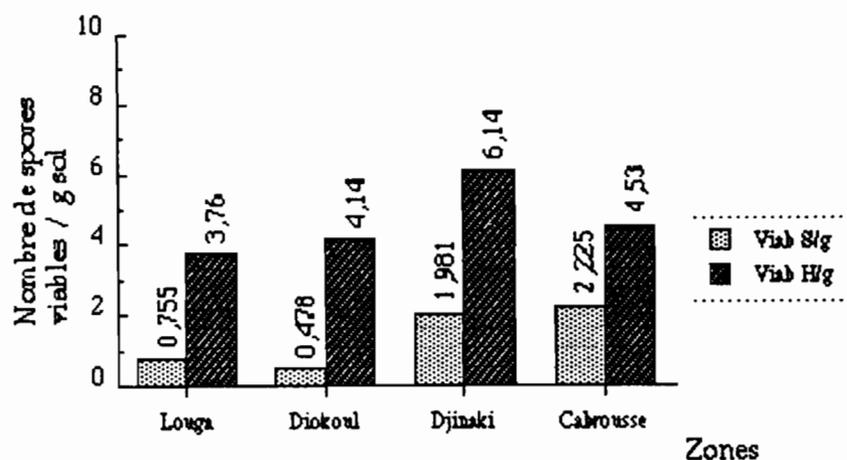


**Figure 2. Viabilité des spores de la rhizosphère d'*Acacia albida* dans différentes zones du Sénégal.** Nombre de spores viables par gramme de sol en saison des pluies (Viab H/g). Nombre de spores viables par gramme de sol en saison sèche (Viab S/g). Chaque colonne représente la valeur moyenne de 5 répétitions.

*Acacia albida* jeune



*Acacia albida* adulte



**Figure 3. Pourcentage de colonisation des racines d'*Acacia albida* dans différentes zones du Sénégal.** Pourcentage de colonisation des racines en saison des pluies (Inf H). Pourcentage de colonisation des racines en saison sèche (Inf S). Chaque colonne représente la valeur moyenne de 5 répétitions.

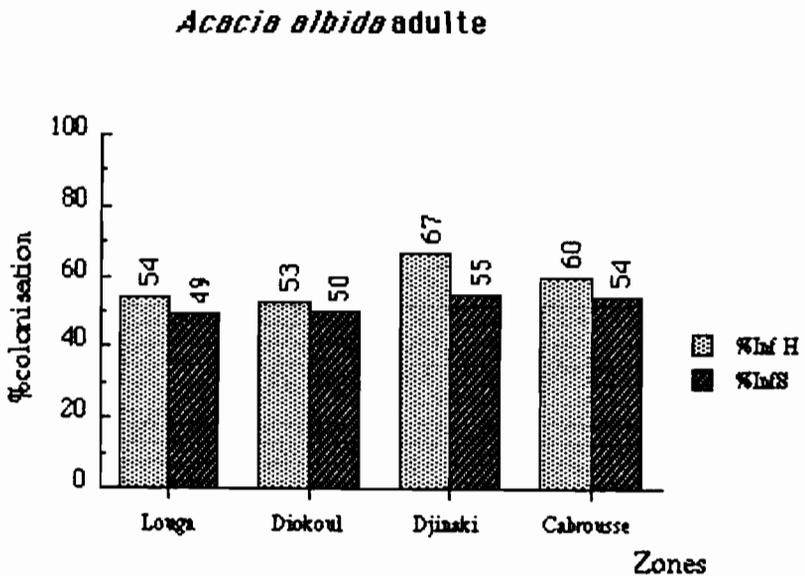
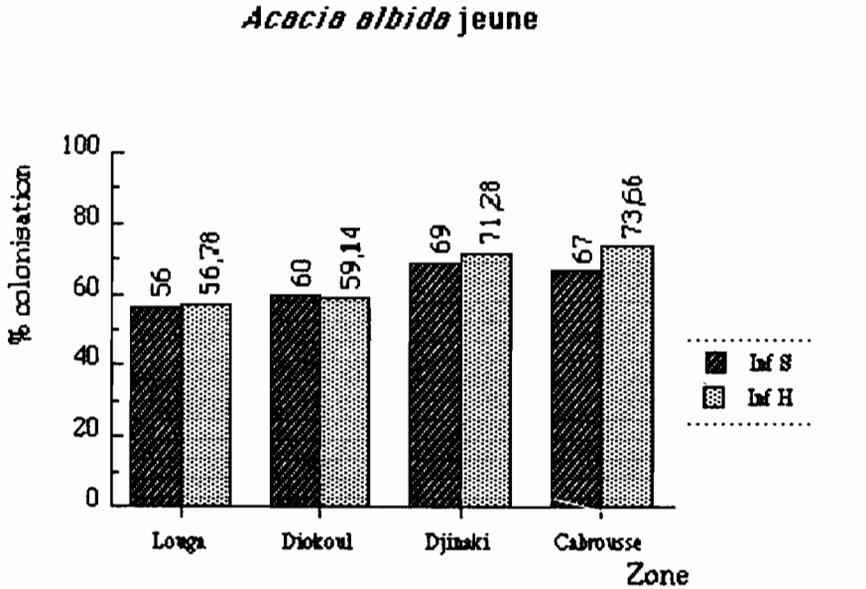
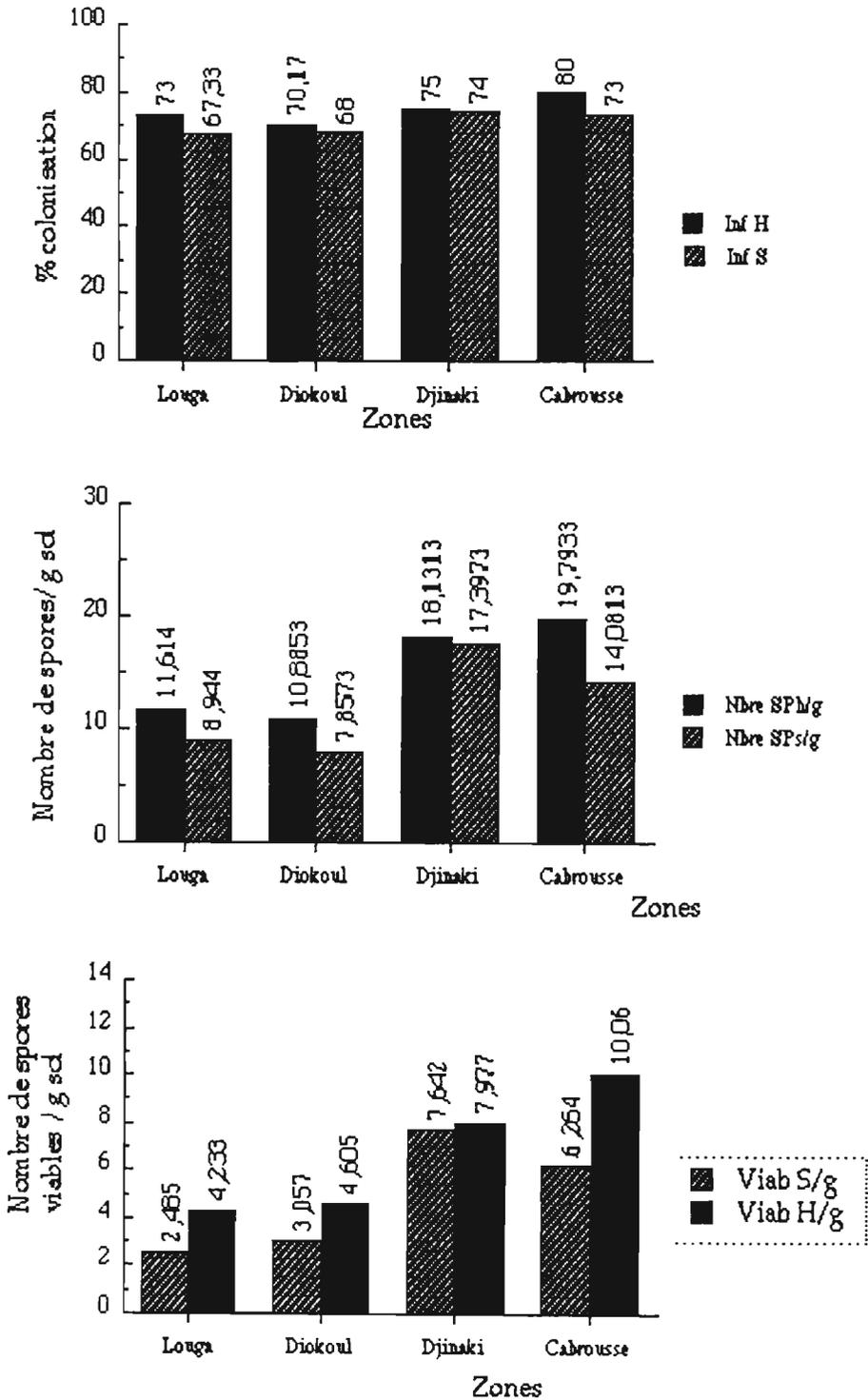


Figure 4. Pourcentage de colonisation des racines, nombre et viabilité des spores récoltées au pied des *Acacia albida*



### Que se passe-t-il au niveau des drageons de *Acacia albida*?

Dans toutes les localités, le nombre total des spores aux points d'émergence des drageons est approximativement identique au nombre total des spores observé au niveau des racines de *A. albida* jeunes ou adultes. Cependant, l'augmentation relative des spores due aux pluies est moindre chez les acacias jeunes ou adultes: +30%, +38%, +4% et +40% respectivement à Louga, Diokoul, Djinaki et Cabrousse (Fig. 4). Par contre le nombre de spores viables aux points d'émergence des drageons est plus élevé qu'au niveau des racines de *A. albida* jeunes ou adultes. Toutefois, cette abondance de spores viables n'induit pas une augmentation de l'infection racinaire de ces drageons comparativement à l'infection racinaire des racines jeunes ou adultes (Fig. 4).

### Sélection d'une souche de *Rhizobium*

Aucune des expériences n'a montré une différence significative entre les trois souches de *Rhizobium* dans la production de biomasse chez les *A. albida*: hauteur, diamètre au collet, poids sec des parties aériennes et des nodules (Tableau 1). La souche MAO 226 a montré cependant une tendance à mieux s'associer avec l'*A. albida* en augmentant faiblement la hauteur et le poids sec des parties aériennes des plantes. Par contre, la mesure de l'ARA par plante dans la première expérience a montré que la souche MAO 226 a eu plus d'effet que les souches MAO 222 et MAO 236: +129% et +223% respectivement (Tableau 2). A la deuxième expérience, *Glomus mossae*, tout en améliorant l'activité nitrogénasique de chaque souche de *Rhizobium*, n'a pas modifié l'ordre du criblage des souches de *Rhizobium* effectué à la première expérience: MAO 226 est la souche de *Rhizobium* qui a le plus d'effet.

Tableau 1. Indice de nodulation (Nod. I), la hauteur, le diamètre au collet, poids sec de la tige et des feuilles (PSPA), poids sec des nodules (PSN) d'*Acacia albida* inoculé avec trois souches de *Rhizobium* MAO 222, MAO 226, MAO 236 et *Glomus mossae* (Gm) et élevés dans des gaines de polyéthylène contenant du sol de Séo stérile pendant trois mois de serre

Traitement	Indice nodulation(1) (Nod. I)	Hauteur (cm/plante)	Diamètre au collet (mm/plante)	Poids sec partie aérienne	Poids sec nodule	Pourcentage d'infection	Fréquence intensité
Témoins	nn	9,5 ab	2,4 a	220,8 ab	0,0		
MAO 222	e	10,0 ab	3,2 a	287,4 ab	28,2 a		
MAO 226	E	12,0 a	2,2 a	171,8 b	22,8 a		
MAO 236	I	6,9 b	2,2 a	171,8 b	15,4 a		
<i>Glomus mossae</i>	nn	9,7 b	2,8 b	284,8 a	0,0	69	74
MAO 222 + G.m	e	20,8 a	4,2 a	714,8 a	64,2 a	62	71
MAO 226 + G.m	E	24,7 a	4,0 a	857,0 a	65,6 a	68	89
MAO 236 + G.m	E	23,3 a	3,8 a	689,6 a	68,6 a	58	87

nn: non inoculé, E: très efficace (Nod.I  $\geq$  4), e: peu efficace (2 < Nod.I < 4), i: inefficace (Nod < 2), (1): Gueye et Bordeleau 1988. Pour chaque expérience, les valeurs suivies de la même lettre dans chaque colonne ne diffèrent pas de façon significative au seuil de 5% d'après le test de Duncan (1955).

**Tableau 2. Activité réductrice de l'acétylène (ARA), Azote total et Phosphore total d'*Acacia albida* inoculé avec trois souches de *Rhizobium* MAO 222, MAO 226, MAO 236 et *Glomus mossae* (Gm) et élevés dans des gaines de polyéthylènes contenant du sol de Séo stérile pendant trois mois en serre**

Traitements	A.R.A. n mole C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> h <sup>-1</sup> plante <sup>-1</sup>	A.R.A. spécifique n mole C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> mg <sup>-1</sup>	Azote total mg plante <sup>-1</sup>	Phosphore total mg plante <sup>-1</sup>
Témoins	00	00	0,5 a	0,05 c
MAO 222	49,1 b	2,5 ab	0,6 a	0,07 b
MAO 226	112,6 a	6,1 a	0,7 a	0,08 a
MAO 236				
<i>Glomus mossae</i> (G.m)	00	00	0,7 b	0,07 b
MAO 222 + G.m	100,3 b	1,6 a	1,8 a	0,20 a
MAO 226 + G.m	213,0 a	3,5 a	2,0 a	0,20 a
MAO 236 + G.m	139,2 ab	3,0 a	1,5 ab	0,20 a

Pour chaque expérience, les valeurs suivies de la même lettre dans chaque colonne ne diffèrent pas de façon significative au seuil de 5% d'après le test de Duncan (1955).

## CONCLUSION

Cette étude prospective nous a permis d'envisager l'inoculation de *A. albida* en pépinière avant leur transfert dans les zones de plantation. Un inoculum de *Rhizobium* (MAO 226) et un inoculum de champignon endomycorhizien (*Glomus mossae*) ont été appliqués avec succès dans les pépinières villageoises. L'inoculum a été apporté sous forme liquide dans le cas du *Rhizobium* et sous la forme de suspension de fragments racinaires dans le cas du champignon endomycorhizien. Cette méthode, utilisable uniquement par des techniciens de laboratoire pose tout le problème du conditionnement et de la distribution au niveau des paysans des inocula liquides de *Rhizobium* et/ou de mycorhize destinés aux semences forestières. Des travaux sont en cours pour déterminer le support d'inoculum le plus approprié.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- An Z.Q., Hendrix J.W., Hershman D.E. and Henson G.T. (1990). Evaluation of the "most probable number" (MPN) and wet-sieving methods for determining soil-borne populations of endogonaceous mycorrhizal fungi. *Mycologia* 82(5): 576-581.
- Asai T. (1944). Ueber die Mykorrhizen - bildung der leguminosen pflanzen. *Japanese Journal of Botany* 13: 463-485.
- Bowen G.D. and Smith S.E. (1981). The effects of mycorrhizas on nitrogen uptake by plants. In: *Terrestrial nitrogen cycles*. F.E. Clark and T. Rosswall, Eds. *Ecological Bulletin (Stockholm)* 33: 237-247.
- Diop T.A. (1990). Méthodes axéniques de production d'inocula endomycorhiziens à vésicules et arbuscules: étude avec le *Gigaspora margarita*. Mémoire Sc. Université Laval 108 pp.
- Dreyfus B.L. and Dommergues Y.R. (1981). Nodulation of *Acacia* species by fast and slow growing tropical strains of *Rhizobium*. *Applied Environmental Microbiology* 41: 67-99.
- Gibson A.H. (1980). Methods for legumes in glasshouses and controlled environment cabinets. In: *Methods for evaluating biological nitrogen fixation*. F.J. Bergersen, Ed. John Wiley, Chichester, England. pp. 139-184.
- Gueye M. and Bordeleau L.M. (1988). Nitrogen fixation in Bambara groundnut *Vouandzeia subterranea* (L) Thouars. *MIRCEN Journal* 4: 365-375.

- Hardy R.W.F., Holsen R.D., Jackson E.K. and Burns R.C. (1968). The acetylene assay for  $N_2$  fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiology* 43: 1185-1207.
- Hewitt E.J. (1966). Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition. Technical communication No. 22. 22nd Ed. Commonwealth Agricultural Bureau, London.
- Mosse B. (1973). Advances in the study of vesicular arbuscular mycorrhiza. *Annual Review of Phytopathology* 11: 171-196.
- Muns D.N. and Mosse B. (1980). Mineral nutrition of legume crops. In: *Advances in legume science*. R.J. Summerfield and A.H. Bunting, Eds. Royal Botanical Gardens Kew. pp. 115-125.
- Olivier B., Bertheau Y., Diem H.G. et Gianinazzi-Pearson V. (1982). Influence de la variété de *Vigna unguiculata* L. Walp dans l'expression de trois associations encomycorhiziennes à vésicules et à arbuscules. *Canadian Journal of Botany* 61. 354-358.
- Read D.J., Koucheiki H.K. and Hodgson (1976). Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. *New Phytologist* 77: 641-653.

**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