

## Diversité des rhizobia associés aux légumineuses herbacées *Zornia* spp. et *Tephrosia* spp. dans les jachères au Sénégal

Etike Laurent-Fulele\*, Philippe de Lajudie\*\*, Monique Gillis\*\*\*, Marc Neyra\*

*Tephrosia bracteolata* G. et Perr., *T. lathyroides* G. et Perr. et *Zornia glochidiata* Reichb. sont des légumineuses herbacées fréquemment rencontrées dans les jachères des zones semi-arides. La majorité de ces espèces sont pérennes et forment des associations symbiotiques avec des rhizobia ; elles peuvent servir d'engrais vert, contribuant ainsi à la restauration des sols mis en jachères.

Les rhizobia sont, en effet, des bactéries capables de fixer l'azote atmosphérique lorsqu'elles sont associées symbiotiquement à des légumineuses sur les racines (et parfois les tiges) desquelles elles forment des nodosités. L'effet bénéfique de ces symbioses sur la croissance des plantes peut être optimisé en leur apportant, par inoculation, des souches de rhizobium sélectionnées. De nombreuses études ont montré, au cours des dernières années, la grande diversité de ces bactéries : six genres sont actuellement reconnus dans la famille des *Rhizobiaceae* : *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium* (Haukka, 1997) et *Allorhizobium* (de Lajudie *et al.*, 1998). Cependant, aucune recherche n'a été menée sur la caractérisation spécifique des rhizobia associés aux espèces *Z. glochidiata*, *T. bracteolata* et *T. lathyroides*. Il apparaît donc nécessaire de les caractériser au mieux, en vue d'une éventuelle inoculation dans les sols de jachères améliorées.

Dix-huit isolats bactériens obtenus à partir de nodosités racinaires de ces espèces végétales ont été caractérisés par estimation de leur vitesse de croissance sur milieu *yeast mannitol agar* (YMA) [Vincent, 1970], comparaison des profils électrophorétiques (SDS-page) et analyse par PCR-RFLP de l'ITS (ADN compris entre les gènes d'ARN ribosomiques 16S et 23S). Des tests de nodulation ont également été menés sur l'ensemble des souches.

### Matériel et méthodes

#### Souches bactériennes

Les rhizobia ont été isolés comme précédemment décrit par de Lajudie *et al.* (1994), à partir de nodosités formées naturellement sur les racines adventives de *T. bracteolata*, *T. lathyroides* et *Z. glochidiata*. Leur pureté a été assurée par des striations successives et

\* Laboratoire de microbiologie des sols tropicaux. Institut de recherche pour le développement (I.R.D., ex-Orstom) - Institut sénégalais de recherches agricoles (ISRA) - Université Cheikh-Anta-Diop (UCAD)-Cirad, Bel-Air, B.P. 1398 Dakar (Sénégal).

\*\* Laboratoire des symbioses tropicales et méditerranéennes, Cirad-Forêt, Institut de recherche pour le développement (I.R.D., ex-Orstom), Ensam, Institut national de recherche agronomique (I.N.R.A.), Campus International de Baillarguet, B.P. 5035, 34032 Montpellier (France).

\*\*\* Laboratoire de microbiologie, Université de Gand, 35 K L. Ledeganckstraat, 9000 Gand (Belgique).

contrôlée au microscope. L'identité des souches a été vérifiée par des tests d'infection de plantes réalisés sur les plantes d'isolement. Nous avons inclus dans notre étude des souches représentatives des différentes espèces de *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Allorhizobium* et *Agrobacterium*.

### Croissance et conditions de culture

Toutes les souches de *Rhizobium* et *Bradyrhizobium* ont été cultivées sur milieu *yeast mannitol agar* (YMA) [Vincent, 1970]. Les souches de *Azorhizobium* et *Agrobacterium* ont été maintenues sur milieu *yeast extract peptone* (YEB) [Vincent, 1970]. Toutes les souches ont été conservées à moins quatre-vingts degrés Celsius dans les mêmes milieux additionnés de quinze pour cent (v/v) de glycérol. Pour l'extraction des protéines, nous avons utilisé du milieu *tryptone yeast extract* (TY) contenant (g l<sup>-1</sup>, pH 6,8-7) : triptone (Oxoid), 5 ; extrait de levure (Oxoid), 0,75 ; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,454 ; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12 H<sub>2</sub>O, 2,388 ; CaCl<sub>2</sub>, 1 ; agar (LabM), 20.

### Tests morphologiques

La dimension des cellules et leur morphologie ont été déterminées sur des cellules vivantes par observation au microscope à contraste de phases.

### Tests de nodulation

Afin, d'une part, de lever l'inhibition tégumentaire des graines et, d'autre part, de les stériliser superficiellement, les graines ont été traitées à l'acide sulfurique concentré (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). La durée du traitement a été de : *T. bracteolata*, *T. purpurea*, *T. lathyroides*, *N. natans* (L.f.) Druce : trente minutes ; *Z. glochidiata*, 5 ; *M. sativa* L., 25. Les graines ont ensuite été rincées abondamment à l'eau distillée stérile, puis ont été mises à gonfler dans l'eau stérile pendant vingt-quatre heures pour toutes les espèces de *Tephrosia* et huit heures pour *Z. glochidiata* et *N. natans*. Réparties ensuite dans des boîtes de Petri stériles contenant de l'eau gélosée à sept grammes par litre, les graines ont été incubées vingt-quatre heures, à vingt-huit à trente degrés Celsius, à l'obscurité, pour permettre leur germination, puis transférées dans des tubes contenant du milieu nutritif Jensen (Vincent, 1970) afin de permettre le développement des racines. Chaque isolat a été testé sur cinq à huit plantes (répétitions) et trois à quatre tubes non inoculés ont été utilisés comme témoins négatifs.

### Estimation du potentiel fixateur d'azote

Il a été estimé par observation du bon développement des plantes et la coloration verte des feuilles de plantes âgées de trente jours, comparativement à des témoins non inoculés. La comparaison des masses végétales sèches des parties aériennes (PPAS), des parties racinaires (PPRS), ainsi que des nodosités (PnodS) [Högberg & Kvarnstrom, 1982] et le traitement de ces données par le test statistique de Newman & Keuls (P = 0,05) ont également permis une estimation du potentiel fixateur d'azote des symbioses.

### Page des protéines cellulaires totales

Les protéines ont été séparées par électrophorèse sur gels de polyacrylamide (page), en présence de SDS selon le protocole de Laemmli (1970), légèrement modifié et décrit par De Lajudie *et al.* (1994). La digitalisation des gels, la standardisation et l'analyse comparative des profils électrophorétiques des protéines ont été effectuées à l'aide du logiciel GelCompar 2.2 (Vauterin & Vauterin, 1992). Toutes les bandes protéiques ont été corrélées deux à deux et les similarités entre profils ont été calculées grâce au coefficient de corrélation de Pearson (r).

## PCR-RFLP de l'ITS compris entre les gènes codant pour les ARNr 16S et 23S

Après au moins soixante-douze heures de culture des souches dans des boîtes de Petri contenant du milieu *yeast mannitol agar*, à une température de vingt-huit degrés Celsius, nous avons soit purifié les acides nucléiques au phénol-chloroforme, selon le procédé décrit par Boucher *et al.* (1987), soit utilisé directement une suspension cellulaire dans du glycérol à vingt pour cent.

Les amorces FGPL 132'-38 et FGPS 1490-72 décrites par Normand *et al.* (1996) ont été utilisées pour l'amplification qui a été réalisée dans un volume de réaction de vingt-cinq microlitres contenant cinquante nanogrammes d'ADN matrice (2 µl de suspension), à l'aide d'un amplificateur de type Gene Amp PCR System 2400 Perkin Elmer (USA) dans les conditions décrites par de Lajudie *et al.* (1998). Après chaque PCR, la visualisation de l'amplifiat par électrophorèse sur gel horizontal d'agarose 1,4 p. cent (wt/v) [Sigma, type II] a été effectuée comme décrit par de Lajudie *et al.* (1998). Le gel a été coloré dans une solution aqueuse de bromure d'éthidium (BEt) (1 mg l.<sup>-1</sup>), puis a été soit photographié avec un film Polaroid positif de type 667, sous une source à ultra-violet d'une longueur d'onde de deux cent soixante nanomètres; soit directement digitalisé par un analyseur d'image de type BIO RAD Gel Doc 1000.

L'étude du polymorphisme de restriction des ADN amplifiés (RFLP) a été réalisée à l'aide de sept endonucléases tétramériques : *AluI*, *DdeI*, *HinfI*, *Pall* (Pharmacia), *CfoI* (Boehringer, Mannheim, Allemagne); *HaeIII* (= *Pall*), *RsaI* (Amersham ou Gibco-BRL), *HhaI* (= *CfoI*) et *MspI* (Gibco-BRL). Les profils électrophorétiques ont été comparés par analyse numérique en utilisant les applications GelAnalyse et Analyse RFLP, développées sous Hypercard avec le langage Hypertalk. Les résultats sont présentés sous forme de dendrogrammes, réalisés grâce aux logiciels Neighbor de Phylip (Phylogeny Inference, version 3.5c; Felsenstein, 1993) et njplot.

## Résultats

Nous avons purifié dix-huit isolats bactériens de nodosités de racines de *T. bracteolata* (2), *T. lathyroides* (7) et *Z. glochidiata* (9), provenant de divers endroits de leur aire de répartition.

### Caractéristiques morphologiques et vitesse de croissance

Les isolats sont à croissance lente, à l'exception des souches ORS 2627 et ORS 2642 isolées de nodosités de *Z. glochidiata* qui sont à croissance rapide.

L'observation au microscope des isolats révèle que toutes les cellules sont des bactéries Gram-négatives, ne formant pas de spore et ayant la forme de bâtonnets. Elles sont plus ou moins mobiles en milieu liquide et leur taille varie de 0,5 à 0,7 micromètres de large et de deux à cinq micromètres de long.

### Spécificité d'hôtes

Chaque isolat a été inoculé sur *T. lathyroides*, *T. bracteolata*, *T. purpurea*, *Z. glochidiata*, *N. natans* et *M. sativa*. Aucun isolat n'est capable de former de nodosités sur *M. sativa* ou *N. natans*. Les isolats provenant de nodosités de *Z. glochidiata* ne sont capables de former des nodosités que sur leur plante d'origine. Aucun des autres isolats testés ne forme de nodosité sur cette plante. Les isolats issus de *T. lathyroides* forment des nodosités sur leur plante d'isolement ainsi que sur *T. purpurea* et *T. bracteolata*. Seule la souche ORS 2615 ne forme pas de nodosité sur *T. bracteolata*. Les isolats des nodosités récoltées sur *T. bracteolata* renodulent leur plante d'isolement et *T. purpurea*.

## Cinétique de la nodulation

Le suivi de la nodulation au cours du temps indique des différences concernant le moment d'apparition des nodosités. Nous avons, avec chacune des souches isolées dans ce travail, réalisé ce suivi après inoculation sur les plantes d'origine. Les espèces du genre *Tephrosia* et *Zornia glochidiata* ne forment de nodosités que dix jours après l'inoculation. Celles-ci sont très peu nombreuses et atteignent leur nombre maximum deux semaines après la date d'inoculation.

## Estimation du potentiel fixateur d'azote

Sur base de la coloration verte des plantes inoculées et de leur meilleur développement comparativement aux témoins négatifs, nous concluons que les isolats de *Z. glochidiata* induisent la formation de nodosités qui sont toutes efficaces sur cette espèce végétale. Les isolats issus de *T. lathyroides* forment, quant à eux, des nodosités fixatrices d'azote sur leur plante d'isolement ainsi que sur *T. purpurea*. Les nodosités qu'ils forment avec *T. bracteolata* sont inefficaces. Les isolats purifiés à partir de nodosités de *T. bracteolata* nodulent de façon efficace leur plante d'isolement et de manière peu efficace *T. purpurea*.

L'analyse statistique des paramètres PPAS, PPRS et PnodS chez les plantes des genres *Tephrosia* et *Zornia* ne nous a pas permis de mettre en évidence des groupes de souches significativement différents d'autres.

## Analyse des protéines cellulaires totales par électrophorèse sur gel de polyacrylamide-SDS

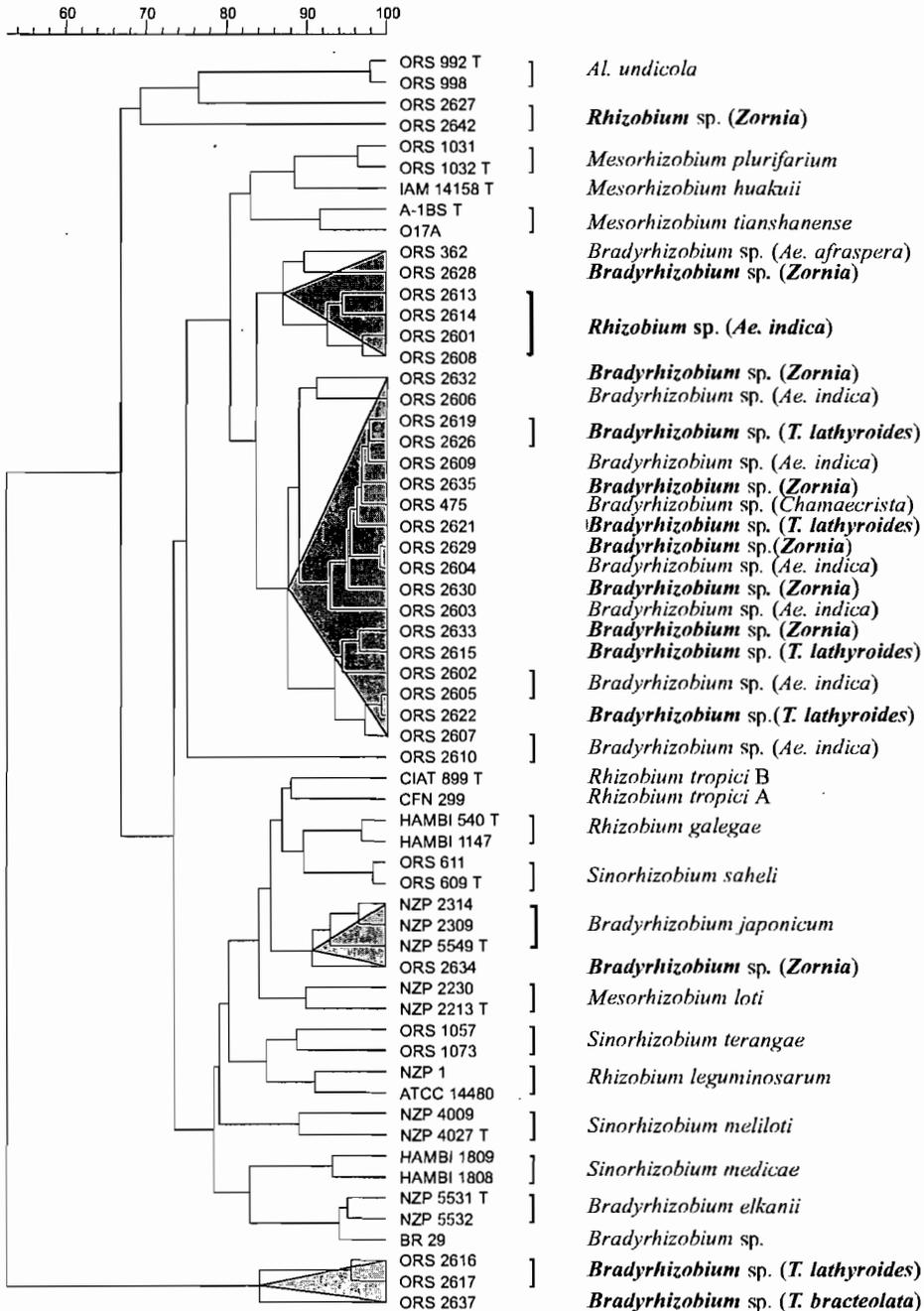
Les profils électrophorétiques obtenus de tous les nouveaux isolats ont été comparés à ceux de souches de référence appartenant aux différentes espèces de *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Azorhizobium*, *Allorhizobium* et *Agrobacterium*. Cette analyse est illustrée sur la figure 1 sous forme d'un dendrogramme simplifié comparant les nouveaux isolats entre eux et avec des représentants de différentes espèces et groupes.

Les différentes espèces des genres *Rhizobium*, *Sinorhizobium* et *Mesorhizobium* forment chacune une branche séparée bien que les branches de ces trois genres sont mélangées. Les souches de *Bradyrhizobium* de référence forment ici quatre branches.

Les isolats à croissance lente provenant de nodosités de *Z. glochidiata*, *T. lathyroides* et *T. bracteolata* sont répartis dans trois groupes principaux qui correspondent à des groupes déjà identifiés dans des études précédentes (Moreira *et al.*, 1993 ; Dupuy *et al.*, 1994 ; Molouba-Likondo, 1997). Le plus grand de ces groupes contient dix nouveaux isolats ainsi que la souche ORS 475 répertoriée comme *Bradyrhizobium* sp. Le deuxième groupe contient la souche ORS 2628 isolée de *Z. glochidiata*, quatre isolats (ORS 2601, ORS 2608, ORS 2613 et ORS 2614) tous issus de nodosités de *Aeschynomene indica* L. ainsi que la souche photosynthétique ORS 362 isolée de *Ae. afraspera* (Molouba-Likondo, 1997). L'isolat de *Zornia* ORS 2634 forme un troisième groupe avec trois souches de référence répertoriées comme *Bradyrhizobium japonicum* (NZP 5549<sup>T</sup>, NZP 2314 et NZP 2309). Enfin, cinq nouveaux isolats (ORS 2616, ORS 2617 et ORS 2637 isolés de *T. lathyroides* et de *T. bracteolata* en ce qui concerne le dernier ; ORS 2627 et ORS 2642, de *Zornia*) occupent des positions séparées et présentent un niveau de similarité très bas (inférieur à 84 p. cent pour le premier groupe et inférieur à 70 p. cent pour le second) avec les autres souches incluses.

## PCR-RFLP de l'ITS

La taille des ITS amplifiés varie de 1 050 à 1 450 paires de bases (pb) pour les souches représentatives des espèces de *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium*



**Figure 1.** Dendrogramme montrant les relations entre les profils PCR-RFLP des ITS d'isolats de nodosités de *Tephrosia*, de *Zornia* ainsi que de souches de référence appartenant aux rhizobia et agrobacteria. T indique la souche type. Les triangles en gris mettent en évidence les groupes contenant de nouveaux isolats.

Dendrogram showing the relationships between the PCR-RFLP profiles of the ITS of *Tephrosia*, *Zornia* and reference strains of rhizobia and agrobacteria. T indicates the type strain. Triangles in grey display groups containing new isolates.

et *Agrobacterium*. Elle est en moyenne de neuf cent quarante pb pour les isolats de *Z. glochidiata*, neuf cent soixante-dix pour ceux de *T. bracteolata* et neuf cent quatre-vingts pour ceux de *T. lathyroides*.

Les résultats de l'analyse RFLP sont illustrés sous forme de dendrogramme simplifié dans la figure 2. Toutes les souches appartenant à la même espèce sont groupées. Nous distinguons trois branches principales. La première, constituée de trois sous-groupes comprend les représentants des genres *Rhizobium*, *Sinorhizobium* et *Allorhizobium*. Les souches ORS 2629 et ORS 2632, provenant de nodosités de *Zornia*, sont dans un premier sous-groupe comprenant les représentants de *Allorhizobium undicola* et la souche ORS 2628, plus éloignée, ayant la même origine végétale. Les souches de *Sinorhizobium kostiense* et *S. arboris* (Nick *et al.*, 1999) constituent le deuxième sous-groupe, tandis que ORS 2627, isolée de *Zornia*, se trouve sur le même sous-embouchement que *Sinorhizobium terangae*. La seconde branche ne comprend que des espèces de *Mesorhizobium*. La troisième branche, composée de souches à croissance lente, distincte des genres de référence inclus dans cette analyse, est constituée de tous les autres nouveaux isolats de *Zornia*, de *Tephrosia* ainsi que de *Ae. indica*. Ceux-ci sont répartis en trois sous-groupes. Le dernier de ces sous-groupes rassemble les isolats de *Ae. indica*.

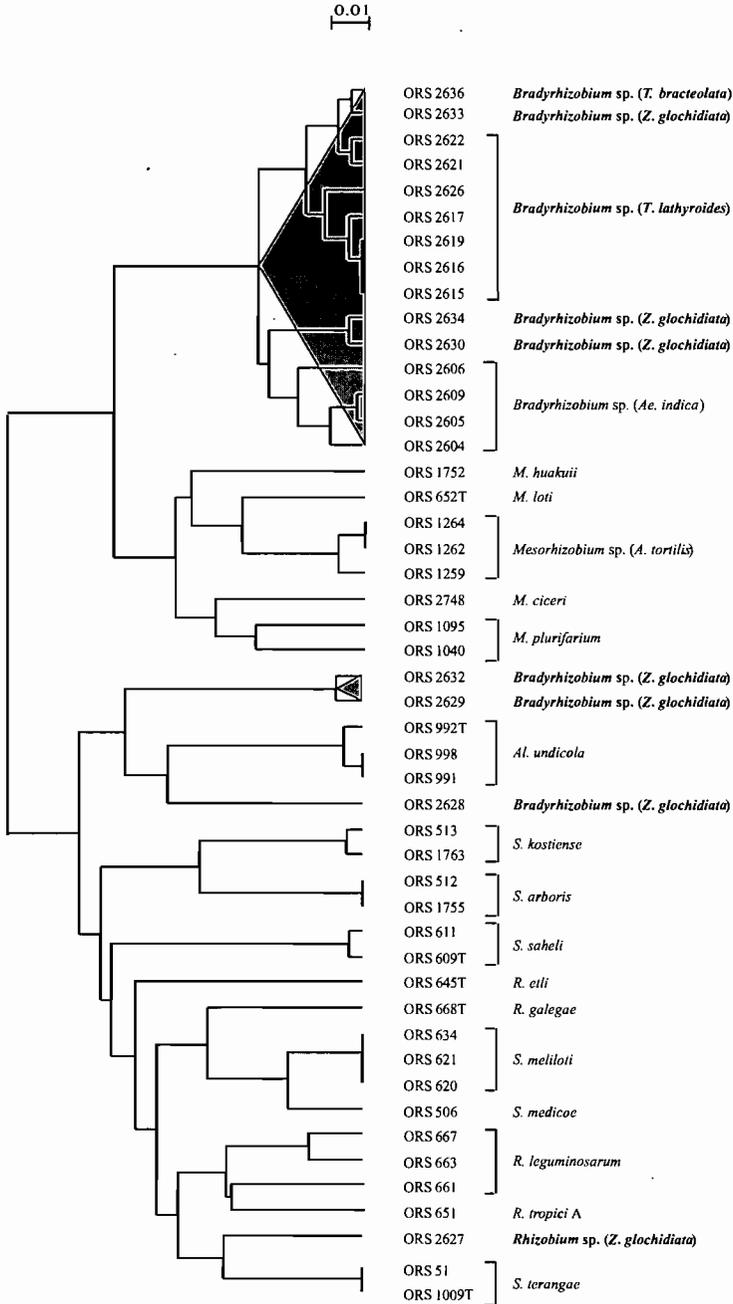
## Discussion

Afin d'augmenter les connaissances concernant les possibilités d'utilisation, dans les jachères améliorées, de légumineuses telles que *Z. glochidiata*, *T. lathyroides* et *T. bracteolata*, nous avons isolé dix-huit souches, à partir de nodosités de racines de ces plantes. Après les avoir purifiées, nous avons procédé à leur caractérisation grâce à des techniques d'analyse phénotypique et génotypique. Un premier groupement, basé sur la détermination de leur vitesse de croissance sur milieu *yeast mannitol agar*, nous a permis de constater qu'à l'exception de deux souches provenant de *Z. glochidiata* (ORS 2627 et ORS 2642), ces souches peu productrices d'exopolysaccharides, sont à croissance lente. Une première technique de groupement, basée sur la comparaison des profils électrophorétiques des protéines cellulaires totales (SDS-page), nous a indiqué que les nouveaux isolats sont apparentés au genre *Bradyrhizobium*. La répartition de ces isolats dans plusieurs sous-groupes témoignent d'une certaine diversité phénotypique au sein de ce groupe de souches lentes. Cette diversité ne semble pas être corrélée à l'origine végétale des isolats, puisque les rhizobia issus de nodosités des diverses espèces étudiées se trouvent en mélange dans les groupes page. L'habitat des plantes ne paraît pas non plus influencer le groupement car, dans les phénotypes de *Bradyrhizobium*, les nouveaux isolats se trouvent proches de souches isolées de *Ae. indica*, légumineuse de sites aquatiques.

L'ITS a été choisi comme témoin du génome bactérien total, afin de nous apporter des informations sur la biodiversité génétique des bactéries symbiotiques étudiées.

L'analyse PCR-RFLP de l'ITS a confirmé l'existence d'un groupe composé de la majorité des nouveaux isolats. Ce groupe s'isole des souches de référence incluses dans notre étude. Comme lors de l'analyse SDS-page, il est subdivisé en sous-groupes qui témoignent de la diversité génétique des nouveaux isolats. Cette fois encore, nous ne constatons aucun lien entre l'origine végétale et le type d'habitat car, comme précédemment, les isolats de *Z. glochidiata*, *T. bracteolata* et *T. lathyroides* se trouvent en mélange ou apparentés à ceux de *Ae. indica*.

Les tests de nodulation indiquant une grande spécificité des isolats vis-à-vis de leur genre végétal d'isolement confortent le besoin d'une caractérisation approfondie des rhizobia sélectionnés en vue d'une éventuelle inoculation au champ.



**Figure 2.** Dendrogramme montrant les relations entre les profils PCR-RFLP des ITS d'isolats de nodosités de *Tephrosia*, de *Zornia* ainsi que de souches de référence appartenant aux rhizobia et agrobacteria. T indique la souche type. Les triangles en gris mettent en évidence les groupes contenant de nouveaux isolats.

*Dendrogram showing the relationships between the PCR-RFLP profiles of the ITS of Tephrosia, Zornia and reference strains of rhizobia and agrobacteria. T indicates type strain. Triangles in grey display groups containing new isolates.*

## Conclusion

Des analyses génétiques complémentaires (hybridations ADN-ADN et séquençage du gène codant pour l'ARNr 16S) visant à confirmer l'appartenance des isolats de *Tephrosia* et *Zornia* au genre *Bradyrhizobium japonicum* sont envisagées. D'autres prospections qui nous permettront d'augmenter notre collection de souches, afin de rechercher le rôle joué par le site d'isolement et l'origine végétale des isolats sont également programmées. Ces études devraient permettre, à la fois, une meilleure sélection des souches potentiellement les plus efficaces et adaptées aux conditions environnementales des sols de jachères. Elles permettraient la mise au point d'outils permettant le suivi des souches après inoculation.

## Références

- Akkermans A.D.L., van Elsas J.D., De Bruijn F.J. (éd.). (1996). *Molecular Microbial Ecology Manual*, Dordrecht (Netherlands), Kluwer Acad. Publ., Chapter 3.4.5.
- Boucher C., Van Gijsegem F., Barberis M., Arlat P.A., Zischek C. (1987). « *Pseudomonas solanacearum* genes controlling both pathogenicity on Tomato and hypersensitivity on Tobacco are clustered », *J. Bacteriol*, n° 169 : pp. 5626-5632.
- Collins M.D., Lindström K., Dreyfus B., Gillis M. (1998). « Characterization of tropical tree rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarum* sp. Nov », *Int. J. Syst. Bacteriol*, n° 48 : pp. 369-382.
- De Lajudie Ph., Willems A., Pot B., Dewettinck D., Maestrojuan G., Neyra M., Collins M.D., Dreyfus B., Kersters K., Gillis M. (1994). « Polyphasic taxonomy of rhizobia : Emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium meliloti* comb. nov., *Sinorhizobium saheli* sp. nov., and *Sinorhizobium teranga* sp. Nov », *Int. J. Syst. Bacteriol*, n° 44 : pp. 715-733.
- De Lajudie Ph., Laurent-Fulele E., Willems A., Torck U., Coopman R., Collins M.D., Kersters K., Dreyfus B., Gillis M. (1998). « *Allorhizobium undicola* gen. nov., sp. nov., nitrogen-fixing bacteria that efficiently nodulate *Neptunia natans* in Senegal », *Int. J. Syst. Bacteriol*, n° 48 : pp. 1277-1290.
- Dupuy N., Willems A., Pot B., Dewettinck D., Vandenbruaene I., Maestrojuan G., Dreyfus B., Kersters K., Collins D.M., Gillis M. (1994). « Protein gel electrophoretic, phenotypic, and genotypic characterization of *Bradyrhizobium* nodulating the leguminous tree *Acacia albidia* », *Int. J. Syst. Bacteriol*, n° 44 : pp. 461-473.
- Felsenstein J. (1993). Phylip (Phylogeny Inference Package) version 3.5c, distribuée par l'auteur, Seattle, université de Washington, Département de génétique.
- Haukka K. (1997). *Genetic diversity and phylogeny of rhizobia isolated from tropical tree legumes*, University of Helsinki, Department of Applied Chemistry and Microbiology, Academic dissertation in Microbiology, 94 p.
- Högberg P., Kvarnstrom M. (1982). « Nitrogen Fixation by The Woody Legume, *Leucaena leucocephala* », *Plant and soil*, n° 66 : pp. 21-28.
- Molouba-Likondo F. (1997). *Les Bradyrhizobium photosynthétiques des Légumineuses du genre Aeschynomene : étude taxonomique, spécificité d'hôte et caractérisation des pigments photosynthétiques*, th. doct., univers. Paris-VII Denis-Diderot, 241 p.
- Moreira F., Gillis M., Pot B., Kersters K., Franco A.A. (1993). « Characterization of rhizobia isolated from different divergence groups of tropical *Leguminosae* by comparative polyacrylamide gel electrophoresis of their total proteins », *Syst. Appl. Microbiol*, n° 16 : pp. 135-146.
- Nick G., De Lajudie Ph., Eardly B., Suomalainen S., Paulin L., Zhang X., Gillis M., Lindstrom K. (1999). « *Sinorhizobium arboris* sp. nov. and *Sinorhizobium kostiense* sp. nov., two new species isolated from leguminous trees in Sudan and Kenya », *Int. J. Syst. Bacteriol*, n° 49 : pp. 1359-1368.
- Normand P., Ponsonnet C., Nesme X., Neyra M., Simonet P. (1996). « ITS analysis of prokaryotes », in Akkermans *et al.* (éd., 1996) : pp. 1-12.
- Vauterin L., Vauterin P. (1992). « Computer-aided objective comparison of electrophoresis patterns for grouping and identification of microorganisms », *European Microbiol*, n° 1 : pp. 37-41.
- Vincent J.M. (1970). « A manual for the practical study of root-nodule bacteria. International biological Programme Handbook », *Blackwell Scientific Publications, Ltd.*, Oxford, n° 15 : pp. 73-97.

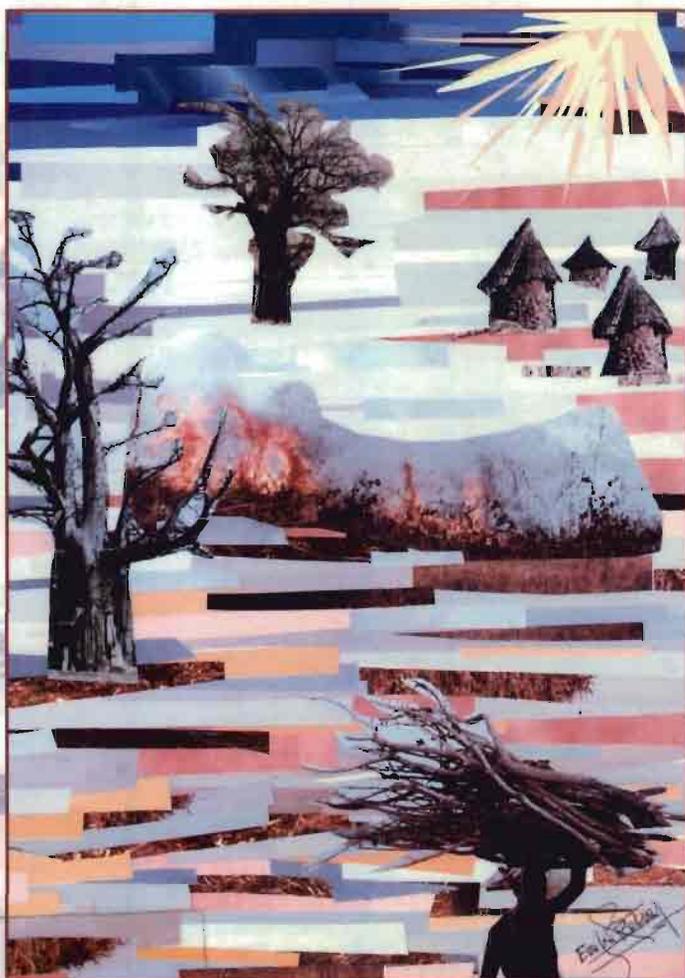
# La jachère en Afrique tropicale

*Rôles, Aménagement, Alternatives*

*Ch. Floret et R. Pontanier*

Volume 1

Actes du Séminaire international, Dakar, 13-16 avril 1999



**La jachère en Afrique tropicale.**  
**Rôles, aménagement, alternatives**

*Fallows in tropical Africa.*  
*Roles, Management, Alternatives*

Volume I

Actes du Séminaire international

Dakar, 13-16 avril 1999

*Proceedings of the International Seminary*

*Dakar, Avril 13-16, 1999*

Édité par

Ch. Floret et R. Pontanier



ISBN : 2-7099-1442-5

ISBN : 2-7420-0301-0

**Éditions John Libbey Eurotext**

127, avenue de la République, 92120 Montrouge, France

Tél : (1) 46.73.06.60

e-mail: [contact@john-libbey.eurotext.fr](mailto:contact@john-libbey.eurotext.fr)

[http : www.john-Libbey.eurotext.fr](http://www.john-Libbey.eurotext.fr)

**John Libbey and Company Ltd**

163-169 Brompton Road,

Knightsbridge,

London SW3 1PY England

Tel : 44(0) 23 80 65 02 08

**John Libbey CIC**

CIC Edizioni Internazionali

Corso Trieste 42

00198 Roma, Italia

Tel. : 39 06 841 26 73

© John Libbey Eurotext, 2000, Paris