MINISTERE DU DEVELOPPEMENT RURAL

ETUDE COMPARATIVE DE LA FIXATION D'AZOTE DE DEUX PROSOPIS CULTIVES AU SENEGAL

P. africana

P. juliflora

(GUILL et PERR.) TAUB

(SWARTZ) DC.

Ousmane DIAGNE

SEMINAIRE SUR LES ARBRES FIXATEURS D'AZOTE (CRDI - NFTA)
SEMINAIRE SUR L'AMELIORATION BIOLOGIQUE DE LA FERTILITE
DU SOL (FIS - ORSTOM)

Dakar, Sénégal: 17 - 25 mars 1986

DEPARTEMENT DES RECHERCHES SUR LES PRODUCTIONS FORESTIERES

ETUDE COMPARATIVE DE LA FIXATION D'AZOTE DE DEUX PROSOPIS CULTIVES AU SENEGAL : P. africana et P. juliflora

Ousmane DIAGNE

CENTRE NATIONAL DE RECHERCHES FORESTIERES

B. P. 2312 - DAKAR - HANN

(Rép. du Sénégal)

RESUME

Dans cette étude, nous avons d'abord comparé le pouvoir de nodulation des deux <u>Prosopis</u> dans cinq types de sol du Sénégal. Les piégeages effectués ont montré que seul <u>P. africana</u> est nodulé dans ces sols.

Ensuite, nous avons testé 13 souches de Rhizobium isolées, soit des deux Prosopis, soit d'autres espèces fixatrices d'azote : Albizia lebbeck (Al6 et Al10), Leucaena leucocephala (LI II et 94A4), Acacia farresisma (ORS 911) et Macroptvlama africanum (CB 756). Ce testage fait sur sol stérile a montré que P. africana est nodulé par les souches isolées de la plante-hôte et par Al6, Al10 et CB 756 qui sont, soit des souches à croissance lente, soit des souches à croissance rapide. Par contre, P. juliflora n'est nodulé que par les souches à croissance rapide, c'est-à-dire celles issues de la plante-hôte et ORS 911, LI 11 et 94 A4.

Le spectre d'hôtes des différentes souches testées montre qu'aucune d'elles n'est effective à la fois sur <u>P. africana</u> et <u>P. juliflora</u>.

I. INTRODUCTION

Notre étude porte sur la comparaison de la nodulation de deux <u>Prosopis</u> très utilisés par les services de reboisement forestiers du sud Sénégal. Il s'agit de <u>Prosopis africana</u>, une espèce locale qui pousse naturellement au sud du Sénégal et <u>Prosopis juliflora</u>, une espèce introduite que l'on rencontre essentiellement dans la zone sahelienne.

L'étude que nous avons entreprise sur ces deux espèces est dictée par leur double importance sur le plan pratique. D'abord, ils participent à l'amélioration du mode de vie des populations rurales en leur fournissant divers produits (bois, fourrages, fruits...). Ensuite du fait de leur capacité fixatrice d'azote, ils contribuent à l'augmentation de la fertilité des sols (FELKER and CLARK, 1980; ALLEN and ALLEN, 1981).

Les travaux que nous présentons dans cette communication sont orientés d'abord vers l'isolement de souches de <u>Rhizobium</u> à partir des sols de différentes régions du Sénégal puis vers l'estimation de la fixation d'azote au laboratoire et enfin vers la sélection de souches effectives sur les deux <u>Prosopis</u> étudiés.

II. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel végétal

Les plantes ont été obtenues à partir de semis directs de graines prélevées dans des stations du Centre national de Recherches forestières. Ces graines ont été stérilisées superficiellement par immersion dans H₂SO₄ concentré pendant 2 heures pour <u>P. africana</u> et 15 minutes pour <u>P. juliflora</u> puis rincées abondamment à l'eau stérile.

Les graines ont été ensuite transférées aseptiquement dans un plateau contenant du sable stérilisé pour leur mise en germination. Cette prégermination a eu lieu dans une pièce à 30°C et a duré 3 jours pour P. africana et 2 jours pour P. juliflora.

2.2. Sols utilisés

Dans la première partie de nos expériences portant sur le piégeage Rhizobium, nous avons prélevé des sols entre 5 et 15 cm de profondeur provenant de la forêt naturelle. Le prélèvement a été fait dans différentes localités du sud du Sénégal : Diouloulou, Djibélor, Bayottes, Dabo et Botou. Ce sont des sols essentiellement sableux (60 à 80 %), pauvres en N (0,055 %) et déficients en phosphore assimilable (12 ppm de P₇0₅).

Nous avons également prélevé des nodules de <u>Prosopis juliflora</u> à partir de deux sols de la Région de Dakar (Bel Air et Mbao).

Dans les expériences de test d'infectivité, nous avons utilisé du sol de Cambérène constitué surtout de sable (98 %).

2.2. Méthode de piégeage de Rhizobium

Après prégermination des graines, les plantules pièges ont été repiquées dans des sachets en polyéthylène remplis de sols provenant des différentes stations précitées (§ 2.2).

Pour chaque espèce végétale et chaque type de sol, il y a eu cinq sachets avec trois plants par sachet, soit au total quinze plants par type de sol.

Le dispositif a été maintenu en serre à la température ambiente

Tableau 1 : Piègeage de Rhizobium à partir de différents sols du Sénégal

					ORIGINE DES SOLS	DES SOL	S			
PLANTES-PIEGE	DIOUL	DIOULOULOU	DJIB	DJIBELOR	BATOTTES	TES	DABO	BO	Borou	rou
	Plantes Nodules par nodulées plant	Nodules par plant	,	•	t	1	•			ı
Prosopis africana	8 (15)	3,12	3,12 10 (15) 1,10		14 (15) 2,21 15 (15)	2,21	15 (15)	4	12 (15) 3,4	3,4
Prosopis julifilora	0 (15)	0	0 (15) 0	0	0 (12) 0	0	0 (15)	0	0 (15) 0	0

() : nombre de plantes testées

(25° à 30°C) et sous éclairage naturel. L'expérience a duré trois mois.

2.4. Isolement de souches de Rhizobium

Les nodules prélevés des différents types de sol ont été lavés et désinfectés à l'alcool 90°C puis à l'aide d'une solution de HgCl2. Après rinçage à l'eau stérile, ils ont été coupés et un brovat du tissu central étalé sur une boîte de Pétri contenant du milieu à base d'extrait de levure et de mannitol. YEMA (VINCENT. 1970).

2.5. Test d'infection des souches isolées

Les tests d'infection ont été réalisés dans des sachets en polyéthylène de 30 cm x 11 cm contenant un mélange de 2/3 de sable stérile et 1/3 de billes de polystyrène. Les sachets ont été remplis à moitié pour permettre aux plantes de se développer à l'intérieur de ces derniers.

L'inoculum a été obtenu à partir de culture liquide YEMA correspondant à une population bacérienne de 109 bact./ml. Nous avons apporté dans chaque trou de repiquage 1 ml d'inoculum.

Pour chaque traitement, il y a eu 5 répétitions. Tous les quinze jours, nous avons apporté dans chaque sachet 25 ml d'un milieu nutritif HOAGLAND sans azote dilué de moitié.

L'expérience a été maintenue en serre dans les mêmes conditions que précédemment pendant trois jours.

2.6. Contrôle du pouvoir de fixation d'azote

Pour estimer l'effet de l'inoculation, nous avons fait des analyses portant sur le poids sec des nodules, le poids sec des parties aériennes et le dosage d'azote des parties aériennes.

A la fin de l'expérience, les nodules ont été lavés et mis à sécher à 65°C pendant 48 heures avant d'être pesés. Les parties aériennes des plantes ont été séchées dans les mêmes conditions pendant 72 heures puis pesées. Le dosage d'azote a été fait selon la méthode de KJELDAHL (JACKSON, 1958).

III. RESULTATS ET DISCUSIONS

3.1. Piégeage de Rhizobium

Les observations faites sur la nodulation des deux <u>Prosopis</u> étudiés sont consignées dans le tableau l. Ce tableau montre que <u>P. africana</u> est nodulé dans tous les sols utilisés. Le nombre de plants nodulés et le nombre de nodules par plant sont plus élevés dans le sol de Dabo, ensuite vienment dans l'ordre les sols de Botou, Bayottes, Diouloulou et Djibélor. Par contre, <u>P. juliflora</u> n'est nodulé dans aucun des sols utilisés.

Ce premier résultat montre que l'introduction de <u>P. africana</u> dans les sols utilisés ne nécessite pas une inoculation pour obtenir une nodulation. Par contre, l'apport d'un <u>Rhizobium</u> effectif sur <u>Prosopis juliflora</u> est nécessaire pour introduire cette espèce dans les sols du sud Sénégal.

3.2. Caractéristiques des nodules et des souches isolées

Les nodules prélevés de <u>P. africana</u> sont de taille très variable (0,2 à 1 cm de diamètre) et très peu colorés. Les souches de <u>Rhizobium</u> isolées de ces nodules sont à croissance lente bien que <u>P. africana</u> puisse être nodulé par des souches à croissance rapide comme nous l'avons montré dans nos travaux antérieurs (DIAGNE, 1984).

<u>Tableau 2</u>: Origine des souches testées

SOUCHES TESTEES	PLANTES D'ISOLEMENT	SOLS D'ISOLEMENT
30000000 1201225	I IMITED D ISOLIS LIVE	3030 5 150524.241
Pa ₁	Prosopis africana	Diouloulou
Pa3	Prosopis africana	Diouloulou
Pa5	Prosopis africana	Bayottes
Pa7	Prosopis africana	Dabo
Pa9	Prosopis africana	Botou
A16	Albizia lebbeck	Batyottes
Al ₁₀	Albizia lebbeck	Botou
Pj12	Prosopis juliflora	Mbao
Pj14	Prosopis juliflora	Bel-Air
L1 ₁₁	Leucaena leucocephala	Bel-Air
94 A4	Leucaena leucocephala	-
ORS 911	Acacia farnesiana	Bel-Air
CB 765	Macroptylama africanum	-

Les nodules prélevés dans la nature sur \underline{P} . $\underline{juliflora}$ sont généralement de très petite taille (< 0,5 cm), bruns et de section rouge-brun. Les souches de Rhizobium nodulant \underline{P} . $\underline{juliflora}$ sont à croissance rapide.

3.3. Résultats des tests d'infection

L'origine des souches testées est marquée dans le tableau 2. Nous avons, dans un premier temps, testé les souches isolées à partir des sols de piégeage sur <u>P. africana</u> et sur <u>P. juliflora</u>. Les résultats sont donnés sur la figure 1.

Cette figure montre que toutes les souches isolées à partir des sols utilisés nodulant \underline{P} . africana avec comme meilleures souches Pa^9 et Pa^1 . Par contre, aucune des souches issues du piégeage n'a nodulé \underline{P} . juliflora. Ce résultat confirme ceux du piégeage qui ont montré que les sols utilisés ne renferment pas de $\underline{Rhizobium}$ nodulant \underline{P} . juliflora.

A la suite du piégeage de <u>Rhizobium</u>, nous avons pris d'autres souches de <u>Rhizobium</u> que nous avons isolées nous-mêmes et d'autres souches de collections comme référence pour les tester à la fois sur <u>P. africana</u> et sur <u>P. juliflora</u>. Les résultats de cette expérience sont représentés dans les figures 2, 3 et 4.

La figure 2 représentant le poids sec des nodules montre que <u>P. africana</u> est nodulé par les souches suivantes avec dans l'ordre d'infectivité décroissante Al₆, Al₁₀, Pa₉ et CB 756. Par contre, <u>P. juliflora</u> est nodulé par les autres souches Pj 12, ORS 911, LI 11, Pj 14 et 94 A4.

Ce résultat montre que les souches qui nodulent <u>P. africana</u> ne nodulent pas <u>P. juliflora</u> et vice versa.

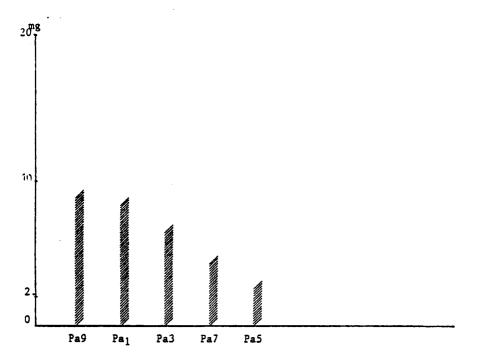
La figure 3 représentant la variation du poids sec des parties aériennes montre que la nodulation augmente le poids sec des parties aériennes. Cependant, il est à noter que l'augmentation du poids sec des parties aériennes n'est pas toujours proportionnelle à celle du poids sec des nodules comme nous pouvons le constater chez P. juliflora où la souche 94 A4 a donné le poids sec de nodules le plus faible mais le poids sec de parties aériennes le plus élevé.

La figure 4 montre que les souches effectives sur <u>P. africana</u> sont ineffectives sur <u>P. juliflora</u> où elles donnent des résultats identiques a ceux des témoins. Le contraire s'observent également si nous princes les souches effectives sur <u>P. juliflora</u>.

IV. CONCLUSIONS

Les résultats que nous venons d'exposer, bien que fragmentaires, nous permettent de dégager quelques constatations sur la nodulation des deux <u>Prosopis</u> étudiés.

Les piégeages que nous avons faits nous ont montré que les sols du sud du Sénégal utilisés ne renferment pas de <u>Rhizobium</u> nodulant <u>P. juliflora</u> alors que <u>P. africana</u> est nodulé dans tous ces sols. Il ressort de la spécificité de la première espèce que son introduction dans les sols du sud du Sénégal nécessite une inoculation par un <u>Rhizobium</u> effectif. Ce résultat déjà connu dans de nombreux travaux montre que l'introduction d'une plante fixatrice d'azote dans une aire nouvelle demande souvent l'apport du partenaire symbiotique.



Prosopis africana



Prosopis juliflora

Figure 1 : Test de nodulation des souches isolées à partir des sols de piégeage

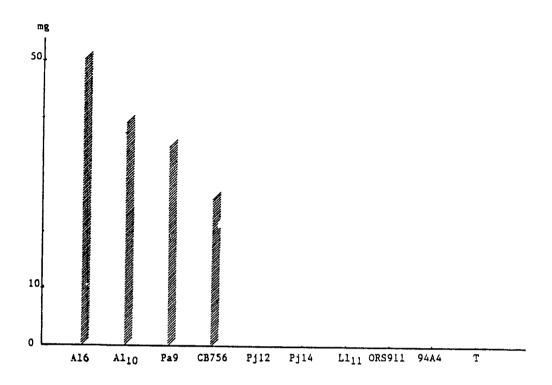
poids sec des nodules (mg/plant)

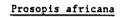
Les tests de nodulation nous ont montré que les deux <u>Prosopis</u> ne sont pas nodulés par les mêmes souches comme le résume leur spectre d'hôtes (tableau 3).

Le tablezu 3 montre bien qu'aucune des souches testées n'est infective à la fois sur <u>P. africana</u> et sur <u>P. juliflora</u> et que <u>P. Juliflora</u> n'est nodulé que par des souches à croissance rapide alors que <u>P. africana</u> peut être nodulé par les deux catégories de souches de <u>Rhizobium</u>.

L'absence de nodulation de <u>P. juliflora</u> dans les sols étudiés pourrait s'expliquer par l'inexistence de souches de <u>Rhizobium</u> infectives mais également par la possibilité des souches nodulant <u>P. africana</u> à entrer en compétition avec celles de <u>P. juliflora</u> comme dans le cas de plantes annuelles (LABANDERA and VINCENT, 1975).

De nombeux autres facteurs peuvent aussi empêcher l'établissement d'une symbiose entre les souches natives et la plante-hôte ($\underline{P. juliflora}$) (GIBSON et al., 1982).





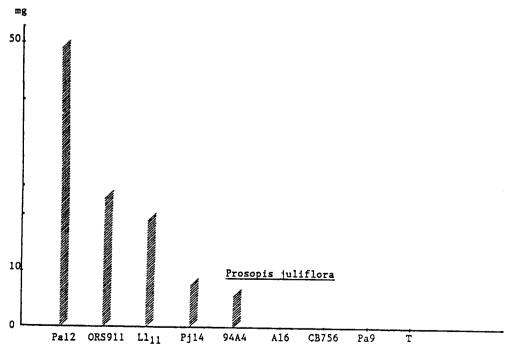


Figure 2 : Poids sec des nodules (mg/plant)

Tableau 3 : Spectre d'hôtes des souches utilisées

	T	·		
Souches testées	Croissance	Prosopis africana	Prosopis juliflora	Observat°
Pa ₁	r	E	n. i.	
Pa3	r	6	n. i.	
Pa5	1	E	n. i.	
Pa7	1	E	n. i.	
P#9	1	E	n. i.	
A1 ₆	1	E	n. i.	
Al ₁₀	r	E	n. i.	
Pj ₁₂	r	n. i.	E	
Pj ₁₄	r	n. i.	E	
LI ₁₁	r	n. i.	E	
ORS 911	r	n. i.	E	
94 A4	r	n. i.	E	
CB 756	1	e	n. i.	

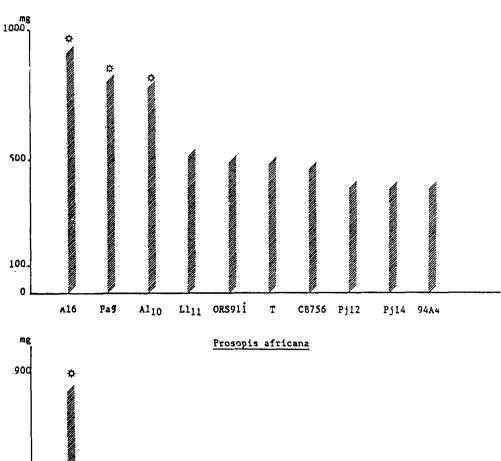
r = souches à croissance rapide

l = souches à croissance lente

n. i. = non infective

e = ineffective

E = effective



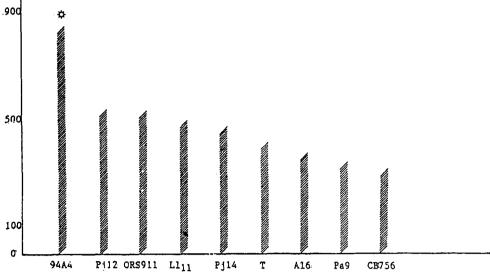
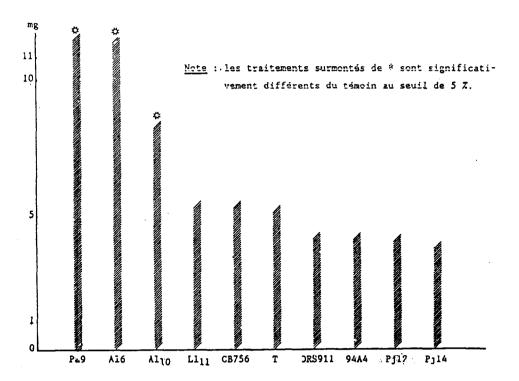
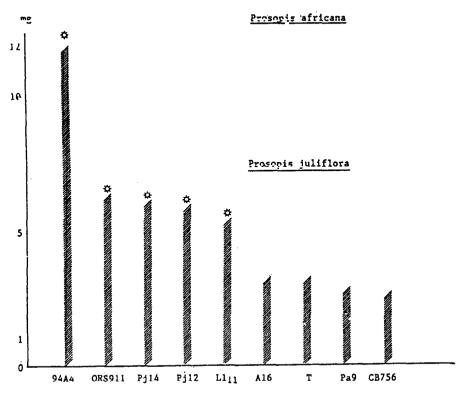


Figure 3 : Résultats des tests de nodulation : poids sec des parties aériennes (mg/plant)

Prosopis juliflora





REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALLEN, O. N. and ALLEN, E. K., 1981. The Leguminosae A source Book of Characteristics, Uses and nodulation The University of Wisconsin Press.
- DIAGNE, O., 1984. Recherches préliminaires sur quatre arbres fixateurs d'azote: <u>Prosopis africana</u>, <u>Prosopis juliflora</u>, <u>Albizia lebbeck</u> et <u>Leutaena leucocephala</u>. Rapport de confirmation ISRA - 59 pp.
- FELKER, P. and CLARK, P. R., 1980. Nitrogen Fixation (Acetylene Reduction) and Cross Inoculation in 12 <u>Prosopis</u> (Mesquite) Species. Plant and Soil. <u>57</u> / 177 - 186.
- 4. GIBSON, A. H., DREYFUS, B. L. and DOMMERGUES, Y. R., 1982. Nitrogen Fixation by legumes in the tropics. In: Microbiology of Tropical Soils and Plant Productivity, pp. 37 - 73. DOMMERGUES, Y. R. and DIEM, H. G. (eds). MARTINUS NIJHOFF/DR W. JUNK Publishers.
- JACKSON, M. L., 1958. Soil Chemical Analysis. Prentice Hall, Inc. Englewood Cliffs, N. J.
- LABANDERA, C. A. and VINCENT, J. M., 1975. Competition between an introduced Strain and native Uruguayan Strain of <u>Rhizobium</u> <u>trifolii</u>. Plant and Soil <u>42</u> - 347.
- VINCENT, J. M., 1970. A Manual for the practical study of root nodules bacteria. I. B. P. Handbook n° 15. Black-Well Sci. Publications Oxford and Edinburgh.