

LES ACACIAS FIXATEURS D'AZOTE DU SAHEL

LA RÉCENTE DÉCOUVERTE
DE BACTÉRIES FIXATRICES D'AZOTE ASSOCIÉES,
EN PROFONDEUR DANS LE SOL,
AUX RACINES D'ACACIAS ADULTES PERMET
D'ENVISAGER UN NOUVEL ESSOR DE L'AGRICULTURE
ET DE LA FORESTERIE SAHÉLIENNES.



Enfouies sous les sables du Sahel, d'importantes populations de bactéries vivent au niveau des nappes phréatiques, loin des températures élevées et de la sécheresse des sols de surface. En d'autres lieux, ce serait une pollution biologique des nappes. Au Sahel, il s'agit d'un phénomène naturel récemment découvert par notre équipe de l'Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération (ORSTOM), de l'université de Dakar et de l'Institut sénégalais de recherche agricole (ISRA). Ces micro-organismes, appelés *Rhizobium*, sont en fait des bactéries fixatrices d'azote qui vivent étroitement associées aux racines profondes de certains acacias, arbres souvent épineux, dont plusieurs espèces sont caractéristiques des écosystèmes sahéliens.

Comme de nombreuses autres légumineuses, les acacias sont capables de transformer directement l'azote de l'air en engrais azoté, grâce aux *Rhizobium* qui forment des nodules fixateurs d'azote sur leurs racines (fig. 1) (voir

Fixation de l'azote et agriculture tropicale » dans *La Recherche* de janvier 1985 et « Les engrais verts à l'honneur » dans *La Recherche* de mai 1988). En retour, grâce à la photosynthèse, la plante fournit aux bactéries des sucres nutritifs. Cette symbiose permet notamment aux jeunes plants de ne pas dépendre des maigres réserves en azote minéral des sols sahéliens.

Si la nodulation des jeunes acacias de moins d'un an est connue et étudiée depuis plusieurs années, aucune observation de nodules n'avait été faite jusqu'à présent sur les racines des acacias adultes. Pourtant, des analyses agronomiques avaient révélé la présence de quantités importantes d'azote sous ces arbres, qui sont d'ailleurs traditionnel-

Figure 1. Les acacias sont des arbres traditionnellement utilisés par les agriculteurs du Sahel pour leur bois, leur fourrage ou pour leur action fertilisante sur les sols. Arbre sahélien par excellence, l'Acacia albida (*Faidherbia albida*) pousse aussi en Cosamance (Sénégal), où les Diolas cultivent le riz sous son couvert (en A). Ses racines peuvent porter de nombreuses excroissances, ou nodules, dont on voit ici un exemplaire chez un jeune Acacia albida (en B). Ces nodules sont formés par des bactéries *Rhizobium* fixatrices d'azote avec lesquelles l'arbre vit en symbiose. Les acacias sont de ce fait capables de transformer l'azote minéral de l'air en azote organique, qu'ils exploitent pour leur croissance et qui enrichit le sol. Jusqu'à récemment, on pensait que seuls les jeunes acacias profitaient réellement de ce phénomène et que l'association des bactéries et des racines n'existait que dans les horizons superficiels du sol. Or celle-ci a bien lieu chez de nombreuses espèces d'acacias adultes et, chez *Acacia albida*, elle pourrait se dérouler à plus de 35 mètres sous terre ! (Clichés A : Nicolas Dupuy ; B : Catherine Détrez)

lement utilisés par les agriculteurs du Sahel (fig. 1).

Il faut dire que certains acacias développent un système racinaire très profond qu'il est difficile d'observer. La première année de sa vie, la racine pivotante d'un jeune *Acacia albida*, par exemple, peut descendre à plus de cinq mètres de profondeur, alors que sa partie aérienne atteint à peine vingt centimètres. Ce n'est qu'une fois devenu adulte que l'arbre développe des racines plus ou moins superficielles, entre cinquante centimètres et trois mètres de profondeur, et un système racinaire profond, capable de puiser dans la nappe d'eau à plus de quarante mètres de profondeur.

Pour en savoir plus sur la nodulation des acacias sahéliens adultes, nous avons donc décidé, lors de la dernière saison des pluies, d'effectuer des prélèvements de sol sous quatre espèces d'acacias parmi les plus importantes au Sahel : *Acacia senegal* (ou gommier), *A. raddiana*, *A. seyal* et *A. albida*. Une tranchée fut creusée à partir du tronc d'un *Acacia raddiana* adulte, en suivant une racine principale sur quatre mètres de long et cinquante centimètres de profondeur. A deux mètres du tronc, la racine principale commence à se diviser en de nombreuses racines latérales. De nombreux nodules furent observés sur les racines secondaires les plus petites, d'un diamètre inférieur à un millimètre.

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 34640, ex 1

Cote : B

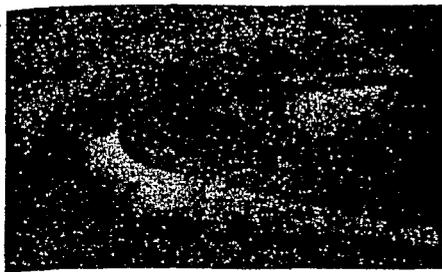


Figure 2. Pour multiplier les *Acacia albida* à pouvoir fixateur d'azote élevé, les chercheurs utilisent entre autres une technique de microgreffage récemment mise au point par S. Ndiaye, F. Kerbellec et C. Détrez à l'ORSTOM de Dakar. Elle consiste à glisser, après désinfection, un apex de bourgeon d'arbre adulte dans une fente effectuée dans l'hypocotyle (partie située sous les cotylédons) d'une jeune germination stérile (en A). Au bout de deux semaines, les deux tissus sont bien soudés l'un à l'autre et le porte-greffe est décapité sous les cotylédons pour éviter la dominance de son bourgeon terminal. Le bourgeon microgreffé se développe alors et donne une tige dont les bourgeons axillaires peuvent être utilisés pour une nouvelle phase de microgreffage ou de clonage in vitro (en B). (Clichés A: Florence Kerbellec; B: Catherine Détrez)



du sol ne permet ni le développement racinaire ni l'apparition de nodules. Pourtant, dans le sol encore bien humide des rizières, le sol gratté sur quelques centimètres sous un grand *Acacia albida* en pleine feuillaison avait laissé apparaître des centaines de petits nodules coralloïdes et de couleur rose. Dans la zone sahélienne, il fallait donc rechercher les nodules ailleurs, c'est-à-

Par la suite, à partir des nodules récoltés sur le terrain ou obtenus *in vitro* au laboratoire, nous avons isolé sur milieu de culture et purifié de nombreuses souches de bactéries⁽¹⁾. Les souches isolées d'*A. senegal* et d'*A. raddiana* appartiennent toutes au genre *Rhizobium*, caractérisé par une croissance rapide en culture pure; celles d'*A. albida* sont des *Bradyrhizobium*, bactéries à croissance lente regroupant la majorité des *Rhizobium* tropicaux. Les bactéries d'*A. seyal* appartiennent soit aux *Rhizobium*, soit aux *Bradyrhizobium*. De même, d'après les résultats des inoculations par les souches isolées des quatre espèces d'*Acacia*, on constate qu'*A. senegal* et *A. raddiana* ne forment de nodules qu'avec les souches de *Rhizobium* isolées chez ces deux espèces, qu'*A. albida* n'est colonisé que par les *Bradyrhizobium* et qu'un grand nombre des souches appartenant aux *Rhizobium* et aux *Bradyrhizobium* sont capables de produire des nodules chez *A. seyal*, bien que ces derniers ne soient pas tous fixateurs d'azote⁽²⁾.

SÉLECTION ET GÉNIE GÉNÉTIQUE AU RENDEZ-VOUS DE LA FIXATION D'AZOTE

Dans ces conditions, comment peut-on améliorer la fixation d'azote par ces arbres? Tout d'abord, il est possible de sélectionner les souches de *Rhizobium* les plus performantes pour chaque espèce. Dès maintenant, au Sénégal, grâce au MIRCEN (Microbial Resource Center) dirigé par Mamadou Gueye à l'ISRA, les groupements villageois peuvent se procurer, à un prix modique, de l'inoculum pour ensemercer les pépinières d'acacias et stimuler ainsi leur croissance. Ensuite, on peut envisager que des souches issues de manipulations génétiques, en particulier au niveau des gènes de spécificité de la nodulation, pourront encore augmenter la fixation d'azote.

C'est ainsi que, en liaison avec le laboratoire INRA-CNRS de Toulouse, nous développons un programme conjoint portant sur la caractérisation des signaux bactériens inducteurs de la nodulation de ces acacias⁽³⁾. Synthétisés et mélangés à l'inoculum bactérien, ces molécules pourraient augmenter considérablement la nodulation de ces arbres (voir *La Recherche* de juillet-août 1990, p. 942).

Mais l'amélioration des rendements de la fixation de l'azote passe aussi par la sélection de l'autre partenaire de la symbiose: la plante. Chez les végétaux cultivés, les chercheurs étudient actuellement des mutants de soja et de pois ayant une plus grande aptitude à noduler ou à fixer l'azote, même en présence de nitrates, inhibiteurs de la nodula-

En coupe, ces nodules montraient une coloration rouge due à la présence de leghémoglobine, protéine transportée d'oxygène synthétisée conjointement par la plante hôte et le micro-organisme symbiotique. L'emploi de la méthode de réduction de l'acétylène — la réduction biologique de l'azote atmosphérique en ammoniac est catalysée par un complexe enzymatique, la nitrogénase, capable de réduire également l'acétylène en éthylène — révéla une forte activité fixatrice d'azote dans les nodules. Quelques jours plus tard, de nombreux nodules plus petits furent découverts par Mamadou Dione (ISRA-DRPF) et Marc Neyra sur les racines de plusieurs *Acacia senegal* adultes.

En revanche, les racines superficielles de l'*Acacia albida* de la zone sahélienne n'en portaient pas. A première vue, il n'y avait là rien de surprenant puisque, pendant la saison des pluies, cette espèce, contrairement aux autres acacias, ne porte pas de feuilles; or les bactéries ne peuvent vivre sans les sucres produits dans les feuilles par la photosynthèse. De même, pendant la saison sèche et malgré la présence des feuilles, la sécheresse des horizons supérieurs

dire plus profondément, au niveau de la nappe.

Des prélèvements, effectués jusqu'à trente-quatre mètres, à quelques mètres du pied d'un *Acacia albida* de la région de Louga (deux cents kilomètres au nord de Dakar) avec deux géologues de l'université de Dakar, Cheikh Beycaye Gaye et Jean-François Aranyosy, furent inoculés stérilement au laboratoire à de jeunes *A. albida*. Dix jours plus tard, l'un d'entre nous, Nicolas Dupuy, vit apparaître des nodules sur les racines des plantules mises en contact avec les échantillons prélevés dans la nappe, révélant ainsi, pour la première fois, la présence de *Rhizobium* à une telle profondeur. Fait plus étonnant encore, ces bactéries apparaurent vivre en plus grand nombre au niveau de la nappe que dans les horizons supérieurs du sol⁽¹⁾. Un deuxième forage effectué dans le centre du Sénégal a confirmé cette découverte. Toutefois, les difficultés d'observation des racines à vingt ou trente mètres de profondeur ne nous ont pas permis, jusqu'à présent, de vérifier l'existence de nodules profonds sur les racines des *Acacia albida* adultes.

(1) N. Dupuy et B. Dreyfus, *Applied and Env. Microbiol.*, sous presse, 1991.
 (2) B. Dreyfus et Y. Dommergues, *Applied and Env. Microbiol.*, 41, 97, 1981.
 (3) P. Lerouge et al., *Nature*, 344, 781, 1990.
 (4) G. Duc et A. Messager, *Plant Sci.*, 60, 207, 1989.
 (5) G. Caetano Anollés et P.M. Gresshoff, *Plant Sci.*, 71, 69, 1990.
 (6) Y.K. Gassama et E. Duhoux, *Bull. IFAN, C.A.D* série A, 47, 1988.

tion^(4,5). Pour les arbres, avant d'utiliser des mutants, il est préférable d'exploiter la variabilité naturelle au sein des populations. Par exemple, l'*Acacia albida* montre une forte variabilité de sa capacité à fixer l'azote selon les individus : inoculés avec la même souche de *Bradyrhizobium*, certains fixent beaucoup d'azote, alors que d'autres, pourtant issus des graines du même arbre, nodulent sans en fixer. Aussi, afin de pouvoir multiplier les individus performants, plusieurs équipes ont entrepris des travaux de culture *in vitro*, de multiplication végétative et de clonage des différentes espèces d'acacia (voir « La culture des plantes en éprouvette » dans *La Recherche* de novembre 1984).

Cependant, la fixation de l'azote n'est évidemment pas le seul critère de sélection. Ainsi, chez l'*Acacia senegal*, c'est la production de gomme arabique, variant entre zéro et dix kilogrammes par an suivant les individus, qui est déterminante. Dans ce cas, le caractère « production de gomme » ne s'exprime et n'est sélectionnable qu'à l'âge adulte. Or l'arbre a alors souvent perdu la capacité de se multiplier végétativement ; on peut lui faire réacquiescer cette capacité par l'emploi de techniques de rajeunissement, comme le bouturage,

le drageonnage, ou le « greffage en cascade ». Les nouveaux bourgeons ainsi obtenus constituent la source du matériel végétal rajeuni nécessaire au clonage d'un individu. Chez l'*Acacia senegal*, les équipes de l'ISRA et du Centre technique forestier tropical (CTFT), associées aux généticiens de l'ORSTOM, viennent ainsi d'obtenir, par bouturage horticole en cascade, les premiers résultats de rajeunissement d'arbres adultes gros producteurs de gomme arabique.

DES TECHNIQUES ARBORICOLES POUR ÉLARGIR LA RÉPARTITION DES ACACIAS SAHÉLIENS

De plus, la micropropagation de sujets adultes d'*Acacia albida* à partir de la multiplication de bourgeons axillaires de drageons a été obtenue par Yaye Kane Gassama, de l'université de Dakar, en collaboration avec le laboratoire CTFT-ORSTOM de Nogent-sur-Marne, dirigé par Emile Duhoux⁽⁶⁾. Pour notre part, nous avons développé de façon originale chez les acacias une technique de microgreffage, expérimentée à l'origine pour le rajeunissement des conifères (fig. 2).

Nous avons aussi utilisé le microgreffage entre deux espèces différentes

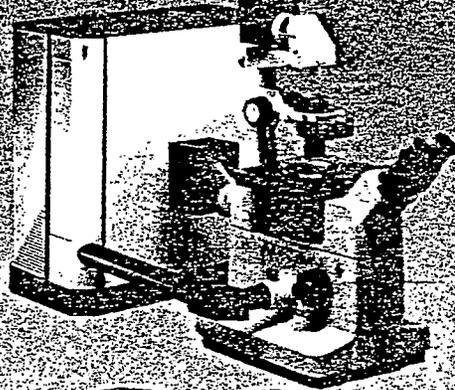
d'acacia. Ainsi, des bourgeons d'*Acacia senegal* ont été microgreffés avec succès *in vitro* sur des germinations d'*Acacia seyal*. Comme ce dernier a une répartition écologique plus large qu'*A. senegal* et utilise les terrains en général peu exploitables pour l'agriculture, l'utilisation en plantations des *A. senegal* greffés sur *A. seyal* pourrait permettre une extension des zones de production de gomme arabique et apporter ainsi un supplément de revenus appréciable aux populations. Cependant, l'impact ou l'échec de cette technique ne seront connus que dans six ou sept ans, au moment où les plants greffés commenceront à produire de la gomme arabique.

Le regain d'intérêt pour les acacias sahéliens ne fait sans doute que commencer. Sur le terrain, des applications sont déjà possibles. Dès maintenant, au sein de l'Observatoire du Sahara et du Sahel récemment créé, des écologistes, des généticiens, des physiologistes, des microbiologistes et des biologistes moléculaires ont décidé de conjuguer leurs efforts sur ces espèces susceptibles de donner un « coup de fouet » salutaire à l'économie sahélienne.

NICOLAS DUPUY, CATHERINE DÉTREZ, MARC NEYRA, PHILIPPE DE LAJUDIE ET BERNARD DREYFUS

Microscope Confocal Temps Réel à Balayage Laser ODYSSEY

BIOLOGIE : LE LASER TEMPS REEL POUR L'EXAMEN DES CELLULES VIVANTES !



Tracor France

A Baker Hughes company

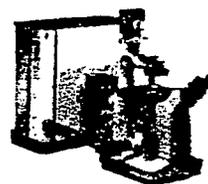
CONCLU pour la Biologie, l'ODYSSEY est un microscope confocal temps réel à balayage laser totalement automatisé. Doté d'un signal vidéo de sortie standard, le système peut s'adapter sur la plupart des microscopes droits ou inverses du marché. L'effort tout particulier apporté à la détection du signal de fluorescence prédestine tout particulièrement l'ODYSSEY à l'étude des cellules vivantes.

3 parties principales : un module de balayage vidéo, un microscope optique conventionnel et un microprocesseur interne gérant toutes les fonctions du système (communicateur avec l'analyseur d'images par liaison Série.)

Au cœur de l'ODYSSEY, le déviateur acousto-optique présente bien des avantages : balayage horizontal rapide (vertical : assuré par miroir galvanométrique), contrôle continu de l'intensité lumineuse (sur 4 ordres de magnitude), obturateur rapide (10 microsecondes) sans vibrations, zoom à éclairage constant, etc.

AUTRES CARACTERISTIQUES :

Laser argon ionisé (457, 488 et 528 nm) ou hélium-neon. Couplage possible avec laser externe. Photomultiplicateurs à fenêtre latérale (sortie prévue par photomultiplicateur externe) 2 canaux de fluorescence (réflexion, et transmission non confocal), Analyseurs d'images 2 ou 3 D.



TRACOR

TRACOR FRANCE
25 rue de Verdun - 21 Partie Montagne Nord
CE 1447 91020 EVRY Cedex
Té: 1 60 75 06 66 Telex Tracor 600 836 Fax 1 60 77 48 36
ODYSSEY est TRACOR SOIT DES MARQUES ASSOCIÉES

SERVICE LECTEUR N° 55