

PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE. — *Infectivité et effectivité de souches de Frankia isolées de nodules de Casuarina equisetifolia et d'Hippophaë rhamnoides*. Note (\*) de Daniel Gauthier, Hoang Gia Diem et Yvon Dommergues, présentée par Roger Buvat.

Deux souches d'actinomycète (DII et G2) isolées de nodules de *Casuarina equisetifolia*, mais incapables d'initier la nodulation chez la plante hôte (*C. equisetifolia*), sont capables d'initier la nodulation chez *Hippophaë rhamnoides*. L'activité réductrice d'acétylène (ARA) spécifique des nodules de *H. rhamnoides* induits par DII et G2 est sensiblement la même que l'ARA spécifique des nodules de *H. rhamnoides* inoculé soit avec une souche (H13) isolée de nodules de *H. rhamnoides*, soit avec des nodules broyés de la même plante. Ces résultats confirment que les souches DII et G2 sont bien des *Frankia* et indiquent que ces souches sont à la fois infectives et effectives quand la plante hôte est *Hippophaë rhamnoides*.

*Two strains of actinomycete isolated from nodules of Casuarina equisetifolia (DII et G2), were unable to initiate nodulation in the host plant (C. equisetifolia), but could nodulate Hippophaë rhamnoides. The specific acetylene reduction activity (ARA) of the nodules formed by DII and G2 on H. rhamnoides was similar to that of nodules obtained by inoculation of H. rhamnoides with a strain (H13) isolated from H. rhamnoides or with crushed nodules from the same plant. These results confirm that strains DII and G2 are Frankia and indicate that they are not only infective but also effective when the host plant is Hippophaë rhamnoides.*

Dans une publication précédente, nous avons rapporté l'isolement de deux souches d'actinomycète (DII et G2) à partir de nodules de *Casuarina equisetifolia* [1]. Nous avons admis alors que ces souches appartenaient au groupe des *Frankia* en raison (1) de leur morphologie et notamment de la présence d'hyphes, de vésicules et de sporanges caractéristiques des actinomycètes symbiotiques des non-légumineuses fixatrices d'azote [1], (2) de leur capacité à réduire l'acétylène *in vitro* ([1], [2]). Cependant, il nous avait été alors impossible d'obtenir des nodules sur *Casuarina equisetifolia* par inoculation avec les souches DII et G2. Étant donné ces résultats, nous avons tenté de vérifier si les souches DII et G2 étaient capables d'induire la nodulation chez une autre non-légumineuse fixatrice d'azote, en l'occurrence *Hippophaë rhamnoides*. Cette étude nous a amené à comparer les souches DII et G2 avec une souche que nous avons isolée à partir de nodules de *H. rhamnoides*.

**MATÉRIEL ET MÉTHODES.** — *Souches de Frankia.* — Rappelons que la souche DII a été isolée à partir de nodules de *Casuarina equisetifolia* récoltés dans le parc de Hann à Dakar (Sénégal) [1]. Nous avons effectué l'isolement et réalisé la culture de cette souche sur le milieu QMOD [3]. La souche G2 a été isolée et cultivée de la même manière à partir de nodules de *C. equisetifolia* provenant de Guadeloupe [1]. Nous avons isolé la souche H13 à partir de nodules d'*Hippophaë rhamnoides* récoltés dans la région de Mens (Isère, France). Nous avons réalisé ce dernier isolement en utilisant la méthode de dilution utilisée antérieurement [1], en remplaçant le milieu QMOD par le milieu sans azote suivant (g/l) :  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  : 1,0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  : 0,1;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  : 0,01;  $\text{FeSO}_4$  : 0,01; succinate de sodium : 1,2;  $\text{MoO}_4\text{Na}$ ,  $2\text{H}_2\text{O}$  : 0,005;  $\text{SO}_4\text{Mn}$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  : 0,025;  $\text{SO}_4\text{Zn}$ ,  $7\text{H}_2\text{O}$  : 0,007;  $\text{SO}_4\text{Cu}$ ,  $5\text{H}_2\text{O}$  : 0,001 25;  $\text{SO}_4\text{Co}$ ,  $7\text{H}_2\text{O}$  : 0,001 4;  $\text{BO}_3\text{H}_3$  : 0,000 3. Le pH a été ajusté à 6,8.

*Culture des plantes-hôtes.* — Les graines de *Casuarina equisetifolia* et d'*Hippophaë rhamnoides* ont été traitées à l'acide sulfurique concentré pendant 2 mn puis rincées abondamment à l'eau stérile. Après germination sur eau gélosée (5 jours), les plantules ont été placées à raison de 4 à 6 dans des enveloppes de polyester (17 cm × 16 cm) comportant une mèche en papier [4] et contenant environ 50 ml de solution nutritive de Hoagland [5] sans azote diluée au seizième et ajustée à pH 5,4. Nous avons placé les plantes dans une chambre de culture à 28°C sous un éclairage de 7 000 lx. Tous les 3 à 5 jours nous avons ajouté dans les enveloppes une quantité suffisante de solution nutritive de façon à ce que le volume de cette solution reste constant.

*Inoculation d'Hippophaë rhamnoides.* — Nous avons inoculé les plants de *H. rhamnoides* âgés de 10 jours en injectant, dans chaque enveloppe, 1 ml de suspension de culture de *Frankia* ou de broyat de nodules. Nous avons préparé la suspension de *Frankia* à partir de cultures de 15 jours, que nous avons centrifugées, lavées et homogénéisées stérilement dans une fiole contenant un barreau aimanté. Pour obtenir les broyats de nodules, nous avons broyé au mortier 1 g de nodule que nous avons ensuite resuspendu dans 100 ml d'eau stérile.

TABLEAU

*Nodulation d'Hippophaë rhamnoides par différents inoculums*

Inoculums	Pourcentage de plants nodulés	Nombre de nodules par plante nodulée	ARA spécifique ( $\mu\text{moles C}_2\text{H}_4/\text{h/g}$ poids sec de nodules)
Témoin non inoculé. ....	0 (10)	0	0
Souche isolée d' <i>Hippophaë rhamnoides</i> :			
H13. ....	100 (12)	2,2 $\pm$ 1	50 $\pm$ 23
Nodules broyés d' <i>Hippophaë rhamnoides</i> . ....	100 (12)	3,2 $\pm$ 1,5	40 $\pm$ 32
Souches isolées de <i>Casuarina equisetifolia</i> :			
DII. ....	66 (44)	3 $\pm$ 0,8	66 $\pm$ 28
G2. ....	50 (8)	3 $\pm$ 2,6	n.d.
Nodules broyés de <i>Casuarina equisetifolia</i> . ....	61 (12)	1,7 $\pm$ 0,8	n.d.

Entre parenthèses : nombre de plantes testées; n. d. : non déterminé.

Nous avons dénombré les nodules 5 semaines après l'inoculation. Nous avons déterminé leur activité réductrice d'acétylène par chromatographie en phase gazeuse [6], 2 mois après l'inoculation.

**RÉSULTATS ET DISCUSSION.** — Une expérience complémentaire a confirmé les résultats antérieurs [1], à savoir que la nodulation de *Casuarina equisetifolia* ne pouvait être induite par les souches DII et G2, alors qu'elle était obtenue facilement avec les broyats de nodules de *C. equisetifolia*.

Le tableau résume les résultats de l'essai d'inoculation d'*Hippophaë rhamnoides* par cinq types d'inoculum. Les plantes témoins n'ont pas été nodulées, ce qui indique qu'il n'y a eu aucune contamination dans notre dispositif expérimental. Tous les plants de *H. rhamnoides* inoculés par la souche H13 (isolée de nodules de *H. rhamnoides*) et par le broyat de nodules de *H. rhamnoides* ont été nodulés. Le pourcentage de plants nodulés a été seulement de 50 et 66 % lorsque l'inoculation a été effectuée avec les souches G2 et DII (isolées à partir de nodules de *Casuarina equisetifolia*). Les ARA spécifiques ont été sensiblement les mêmes quelle que soit l'origine des inoculums.

En conclusion, si jusqu'à présent nous n'avons pu obtenir la nodulation de *Casuarina equisetifolia* par inoculation avec les souches DII et G2, nous avons, par contre, obtenu la nodulation d'*Hippophaë rhamnoides* avec ces souches. Les nodules ainsi formés réduisant l'acétylène, c'est-à-dire fixant l'azote, les souches DII et G2 sont donc non seulement infectives mais aussi efficaces vis-à-vis d'*Hippophaë rhamnoides*. Pour expliquer l'échec de la nodulation de *Casuarina equisetifolia* avec DII et G2, nous émettons l'hypothèse que cette

nodulation pourrait être obtenue seulement dans des conditions particulières, par exemple en présence de microorganismes associés (helpers) comme l'ont suggéré Knowlton et coll. [7].

Si nous admettons avec Akkermans et Roelofsen [8] que *Casuarina equisetifolia* et *Hippophaë rhamnoides* appartiennent à deux groupes d'inoculation croisée différents, nous devons supposer que DII et G2 seraient des souches à large spectre, telles qu'il en existe chez le genre *Rhizobium*, ou qu'*Hippophaë rhamnoides* serait une non-légumineuse fixatrice d'azote peu spécifique.

(\*) Reçue le 9 juillet 1981, acceptée le 21 septembre 1981.

- [1] D. GAUTHIER, H. G. DIEM et Y. DOMMARGUES, *Appl. Environm. Microbiol.*, 41, 1981, p. 306.
- [2] J. D. TIEPKEMA, W. ORMEROD et J. G. TORREY, *Nature*, 287, 1980, p. 633.
- [3] M. LALONDE et H. E. CALVERT, in (J. C. GORDON, C. T. WHEELER et D. A. PERRY, éd., *Symbiotic Nitrogen Fixation in the Management of Temperate Forests*, Forst Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis, 1979, p. 95.
- [4] F. E. PORTER, I. S. NELSON et E. K. WOLD, *Crops and Soils*, 18, 1966, p. 10.
- [5] D. R. HOAGLAND et D. I. ARNON, *Calif. Agric. Expt. Sta.*, 1950, Cir. 347.
- [6] R. W. HARDY, R. D. HOLSTEN, E. K. JACKSON et R. C. BURNS, *Plant Physiol.*, 43, 1968, p. 1185.
- [7] S. KNOWLTON, A. BERRY et J. G. TORREY, *Can. J. Microbiol.*, 26, 1980, p. 971.
- [8] A. D. L. AKKERMANS et W. ROELOFSEN, in *Proceedings of the Phytochemical Society of Europe*, W. D. P. STEWART and J. R. GALLON, éd., Academic Press, London, 1980, p. 279.

O.R.S.T.O.M./C.N.R.S., Laboratoire de Microbiologie du Sol, B.P. n° 1386, Dakar, Sénégal.