

Présence de *Bradyrhizobium* sous *Acacia albida*

N. Dupuy et B. Dreyfus¹

Résumé

Des échantillons de sol pris sous *Acacia albida* au Sénégal ont révélé que d'importantes populations de *Bradyrhizobium* vivaient jusqu'à 30-35 m de profondeur, c'est-à-dire jusqu'au niveau des nappes phréatiques. 67 souches de *Bradyrhizobium* ont été isolées à partir des sols de surface et de profondeur. L'étude de leurs capacités symbiotiques a montré que plusieurs souches de profondeur pouvaient fixer l'azote très activement en association avec *Acacia albida*.

Introduction

Jusqu'à présent on a admis que l'amélioration des sols sous *Acacia albida* était liée à son pouvoir fixateur d'azote. On a observé une nodulation abondante sur les racines des *Acacia albida* poussant dans les rizières de Casamance, Sénégal (pluviométrie annuelle 1000 mm). Par contre, en zone sahélienne (pluviométrie annuelle < 1000 mm) on a pratiquement jamais trouvé de nodules sur les racines d'arbres adultes. La question se pose alors de savoir si *A. albida* fixe effectivement l'azote dans les zones arides.

Pour répondre à cela, deux approches sont considérées. La première consiste à rechercher la présence de nodules sur les systèmes racinaires ainsi que l'existence de populations de *Rhizobium* spécifiques dans la rhizosphère. La deuxième approche consiste à mesurer l'azote fixé par la méthode de marquage isotopique. Cet article présente les études utilisant la première approche. Deux forages ont été effectués sous des *A. albida* adultes en vue d'étudier la répartition des populations de *Rhizobium* spécifiques dans les profils. Ensuite un prélèvement de souches de *Rhizobium* de surface et de profondeur a été constituée et leur aptitude à fixer l'azote déterminée.

Matériel et méthodes

Méthode d'échantillonnage

Deux forages ont été effectués grâce à une tarière légère à main sur laquelle sont vissées au fur et à

mesure de la descente en profondeur des tiges d'aluminium de 1,5 m de longueur (Dormer's engineering, South Murwillumbah, N.S.W. 2484, Australie). Un premier forage, effectué à Louga (200 km au nord de Dakar), à une distance de 8 m d'un pied d'*A. albida* isolé, atteignait la nappe phréatique à 34 m de profondeur. Un deuxième forage situé entre deux *A. albida* distants de 5 m et atteignant la nappe phréatique à une profondeur de 16,5 m, a été réalisé dans la région de Bambey, au coeur du Bassin arachidier du Sénégal. Des échantillons de sols ont été prélevés à différentes profondeurs (Tableau 1), conservés au froid et ramenés au laboratoire pour numérotation des *Rhizobium* capables de noduler *A. albida*.

Densité de *Rhizobium* dans les échantillons de sol

La densité de *Rhizobium* dans les échantillons de sol a été estimée par la technique du nombre le plus probable (Brockwell 1980). Les graines d'*A. albida* ont été stérilisées dans l'acide sulfurique concentré pendant une heure puis lavées plusieurs fois à l'eau stérile et enfin mises à germer en boîte de Pétri sur eau gélosée (0,8%) pendant 48 h. Les racines des jeunes plantes ainsi obtenues ont été introduites dans des tubes à essai contenant du milieu Jensen, la partie aérienne restant à l'air libre. Les jeunes plantes ont été placées en chambre de culture puis après 5 jours, elles ont été inoculées avec 1 mL d'une dilution de sol. Pour chaque dilution on a compté le nombre de tubes laissant apparaître une nodulation après 4 semaines de culture. Les témoins non inoculés non pas nodulé.

1. Département de microbiologie. Institut française de recherche scientifique pour le développement en coopération (ORSTOM), B.P. 1386, Dakar, Sénégal.

Dupuy, N. et Dreyfus, B. 1993. Présence de *Bradyrhizobium* sous *Acacia albida*. Pages 145-147 in *Faidherbia albida* dans les zones tropicales semi-arides d'Afrique de l'Ouest: comptes rendus d'un atelier, 22-26 avril 1991. Niamey, Niger (Vandenbeldt, R.J. et Renard, C., eds.). Patancheru, A.P. 502 324, Inde: Institut international de recherche sur les cultures des zones tropicales semi-arides; et Nairobi, Kenya: Centre international de recherche en agroforesterie.

Tableau 1. Aptitude à fixer l'azote de souches de *Rhizobium* isolées d'échantillons du sol prélevés à des profondeurs différentes sur deux sites au Sénégal, 1990.

Origine	Profondeur (m)	Aptitude à fixer l'azote ¹				Nombre d'isolats	
		E	TB	B	P		
Louga	0.5	1	3	2	2	8	
	2.5	0	3	1	0	4	
	5.0	0	0	1	1	2	
	17.5	0	2	1	1	4	
	24.0	0	1	0	1	2	
	27.5	1	0	0	0	1	
	28.5	0	0	1	1	2	
	30.0	0	0	2	0	2	
	32.0	1	0	0	1	2	
	33.5	0	0	2	0	2	
	34.0	0	0	2	0	2	
	Total	2	9	12	7	31	
	Diokoul	0.5	0	1	0	0	1
		2.5	0	0	1	0	1
4.0		0	0	1	0	1	
11.5		0	0	1	0	1	
14.0		0	0	2	0	2	
Total	0	1	5	0	6		
Casamance	Surface	0	8	5	3	16	
N. Sénégal	Surface	1	4	8	1	14	

1. Répartition des isolats en fonction de leur aptitude à fixer l'azote.
E = excellente, >9 μ moles hr⁻¹; TB = très bonne, 6-9 μ moles hr⁻¹;
B = bonne, 3-6 μ moles hr⁻¹; P = pauvre, <3 μ moles hr⁻¹.

Isolement des souches

Les nodules formés ont été stérilisés dans une solution de HgCl₂ à 0,1% pendant 3 min, lavés à l'eau distillée stérile 6 à 7 fois, puis broyés dans une goutte d'eau à l'aide d'une baguette de verre stérile. L'isolement des souches de *Rhizobium* a été effectué sur milieu YMA suivant la procédure de Vincent (1970).

Evaluation de la capacité à fixer l'azote

Après ablation des parties aériennes, le milieu de culture liquide a été éliminé et les tubes fermés avec un bouchon à jupe. L'acétylène a été injecté dans le tube (à raison de 10% du volume) et la réduction d'acétylène a été mesurée par chromatographie en phase gazeuse suivant la méthode de Hardy et al. (1968) après 30 min d'incubation à 28°C. L'activité du *Rhizobium* est restée linéaire pendant 90 min. Les souches ont été réparties en quatre classes en fonction des résultats des essais de réduction d'acétylène.

Résultats

Distribution de *Rhizobium* en fonction de la profondeur

Contrairement à ce que l'on pouvait attendre, la densité des populations de *Rhizobium* est maximale (Tableau 2) au niveau de la plus grande profondeur mesurée (Louga). De plus, certaines zones intermédiaires (7-14 m à Louga, 6-10 m à Diokoul) renferment moins d'un *Rhizobium* par gramme de sol à travers les profils étudiés. Les populations de *Rhizobium* sont moins nombreuses à Diokoul qu'à Louga probablement parce que le sol de Diokoul est beaucoup plus argileux que celui de Louga. Il est en effet probable que les conditions de multiplication et de développement de *Rhizobium* soient plus favorables dans les sols dunaires sableux de Louga.

Tableau 2. Répartition de la densité de *Rhizobium* (no. sol g⁻¹) associé à *Acacia albida* dans deux profils de sol au Sénégal, 1990.

Louga		Diokoul	
Profondeur (m)	<i>Rhizobium</i> densité	Profondeur (m)	<i>Rhizobium</i> densité
Surface	68	Surface	<1
0,50	1271	0,50	22
2,55	91	2,50	22
5,05	159	4,00	51
7,55	<1	6,00	<1
11,05	<1	8,00	<1
14,05	<1	10,00	<1
17,65	91	11,50	27
21,05	<1	14,00	76
24,05	37	16,50	27
27,55	12	Nappe phréatique	
28,65	119		
30,05	22		
32,05	24		
33,55	344		
34,00	1323		
Nappe phréatique			

Caractéristiques des souches de *Rhizobium*

Sur les 67 souches isolées, toutes sauf deux (ORS167, ORS173) ont montré une croissance lente sur milieu YMA et peuvent ainsi être considérées comme des *Bradyrhizobium*. A Louga, 11 souches sur 31 ont été classées comme effectives ou très effectives selon leur capacité à fixer l'azote, deux souches très effectives (ORS130 et ORS136) ont été isolées à 27,5 et 32

m de profondeur. Par contre à Diokoul, aucune souche effective n'a été isolée sous 0,5 m.

Discussion

Jusqu'à présent, il était admis que les populations de *Rhizobium* étaient localisées dans les horizons supérieurs du sol c'est-à-dire à des profondeurs n'excédant pas 1 à 2 m (Alexander 1977). Seule l'équipe de chercheurs animée par Virginia et al. (1986) à la suite des travaux de Felker et Clark (1982) a étudié la distribution de *Rhizobium* dans le sol. Les résultats montrent que les populations de *Rhizobium* sous *Prosopis glandulosa* en Californie peuvent atteindre des densités de $10 \times 10^3 \text{ g}^{-1}$ de sol, à des profondeurs atteignant 4-6 m. Cette étude montre que les *Rhizobium* peuvent vivre en grand nombre (jusqu'à $1,3 \times 10^3 \text{ g}^{-1}$) de sol sous *A. albida* à des profondeurs jamais supposées auparavant.

Jenkins et al. (1987) ont montré qu'il existait deux populations de *Rhizobium* distinctes sous *P. glandulosa* en fonction de la profondeur. En surface, les *Rhizobium* dominant alors qu'en profondeur ce sont les *Bradyrhizobium*. Toutes les souches de *Rhizobium* isolées au cours de cette expérience présentent les caractères de *Bradyrhizobium* à l'exception de deux souches (Jordan 1984).

Mais il n'est pas impossible que les souches de profondeur et celles de surface puissent former deux sous-groupes distincts. Comme les conditions environnementales en profondeur sont relativement constantes, les *Bradyrhizobium* de profondeur présentent des propriétés différentes de celles des souches de surface mieux adaptées aux importantes fluctuations du milieu. Une étude taxonomique fondée sur la comparaison des profils de protéines totales et des caractères nutritionnels est en cours pour vérifier cette hypothèse.

En zone sahélienne, la présence de nodules sur les racines de surface d'*A. albida* est rare. Cette absence de nodules pourrait résulter de l'effet inhibiteur de facteurs limitants du milieu, notamment la sécheresse, et non de déterminants génétiques liés à la plante. Les *A. albida* adultes nodulent abondamment lorsque le sol reste humide, comme c'est le cas des arbres poussant dans les rizières de Casamance. L'absence d'importantes populations de *Rhizobium*

en profondeur en Casamance peut s'expliquer par l'absence d'oxygène ou par la difficulté d'observer les racines à ces profondeurs. La méthode de traçage isotopique naturel peut être utile pour vérifier la fixation de l'azote par *A. albida* en zone sahélienne. Des souches de profondeur particulièrement effectives quant à la fixation de l'azote pourraient être utilisées pour coloniser les systèmes racinaires profonds d'*A. albida*.

Bibliographie

Alexander, M. 1977. Introduction to soil microbiology. 2nd ed. New York, Etats-Unis: J. Wiley & Sons. Pages 21-24.

Brockwell, J. 1980. Experiments with crop and pasture legumes: Principles and practice. Pages 417-488 in Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation (Bergensen, F.J., ed.). New York, Etats-Unis: John Wiley & Sons Ltd.

Felker, P., et Clark, P.R. 1982. Nodulation and nitrogen fixation in 3 m-long phraetophytically simulated soils columns. Plant and Soil 61:297-305.

Hardy, R.W., Holsten, R.D., Jackson, E.K., et Burns, R.C. 1968. The acetylene-ethylene assay for N_2 -fixation: Laboratory and field evaluation. Plant Physiology 43:118-120.

Jenkins, M.B., Virginia, R.A., et Jarrell, W.M. 1987. Rhizobial ecology of the woody legume mesquite (*Prosopis glandulosa*) in the Sonoran Desert. Applied Environmental Microbiology 53:36-40.

Jordan, D.C. 1984. Family III. Rhizobiaceae Conn 1938. Pages 234-244 in Manual of systematic bacteriology, vol.I (Krieg, N.R., et Holt, J.G., eds.). Baltimore, Royaume-Uni: Williams and Wilkins Co.

Vincent, J.M. 1970. A manual for practical study of root-nodule bacteria. IPB Handbook. Oxford, Royaume-Uni: Blackwell Scientific Publications.

Virginia, R.A., Jenkins, M.B., et Jarrell, W.M. 1986. Depth of root symbiont occurrence in soil. Biology and Fertility of Soils 2:127-130.



Faidherbia albida

dans les zones tropicales
semi-arides d'Afrique de l'Ouest.



*Institute international de recherche sur les cultures des zones
tropicales semi-arides
Centre international de recherche en agroforesterie*