

LA NODULATION CAULINAIRE CHEZ AESCHYNOMENE

Dr. Didier ALAZARD

Laboratoire de microbiologie , ORSTOM - Dakar - Sénégal

Emile DUHOUX

BSSFT /ORSTOM /CTFT - Nogent /Marne - France

RESUME

Plusieurs espèces de légumineuses tropicales du genre Aeschynomene présentent, comme Sesbania rostrata, la particularité de porter des nodules fixateurs d'azote à la fois sur leurs racines et sur leur tige. A ce jour, 15 espèces d' Aeschynomene à nodulation caulinaire ont été décrites.

Une étude de la spécificité de nodulation des souches de Rhizobium isolées de différentes espèces d'Aeschynomene a permis de distinguer 3 groupes d'inoculation croisée parmi les espèces d'Aeschynomene.

Les espèces d'Aeschynomene nodules caulinaires sont caractérisées par la présence sur leur tige de sites de nodulation prédéterminés. Ces sites de nodulation sont constitués par des ébauches racinaires adventives. Chez Aeschynomene afraspera, l'infection par le Rhizobium spécifique a lieu directement dans les cellules corticales situées au fond de la cavité annulaire dégagée autour du primordium racinaire. L'infection se propage par divisions successives des cellules infectées, formant un méristème nodulaire puis le nodule. Le processus d'infection ne fait pas intervenir de poils absorbants ni de cordons d'infection.

Les Rhizobium spécifiques isolés des nodules caulinaires des plantes de deux des groupes d'inoculation croisés présentent des propriétés exceptionnelles. En effet, ce sont les seuls Rhizobiums à croissance rapide capables de fixer l'azote atmosphérique in vitro en cultures gélosées ou en cultures liquides sous des faibles tensions d'oxygène (0.5 %).

Sur le plan des applications agronomiques, les potentialités de fixation d'azote considérables (50 g N fixé / m² / 60 jours) d'A. afraspera ou d'A. nilotica permettent leur utilisation en riziculture irriguée. Des essais en microparcelles

ont permis de doubler les rendements en riz. Enfin, la fixation d'azote par les nodules caulinaires est faiblement inhibée par l'azote combiné du sol.

INTRODUCTION

La nodulation caulinare chez une espèce d'*Aeschynomene*, *A. aspera*, fut pour la première fois observée il y a soixante ans par un botaniste danois (HÄGERUP, 1928).

On connaît aujourd'hui 15 espèces d'*Aeschynomene* à nodules caulinaires (ALAZARD, 1985). Cette propriété est donc beaucoup plus fréquente dans le genre *Aeschynomene* que dans les autres genres où ce phénomène a été décrit, *Sesbania* et *Neptunia*, qui ne comprennent chacun qu'une seule espèce à nodules caulinaires, *Sesbania rostrata* et *Neptunia oleracea*.

Le genre *Aeschynomene* est distribué principalement dans les régions tropicales d'Afrique, d'Amérique et d'Asie. Il appartient, comme *Arachis* et *Stylosanthes*, à la tribu des *Aeschynomeneae*. Il comprend environ 160 espèces dont la moitié sont des espèces hydrophytes (KRETSCHMER et BULLOCK, 1979).

La caractéristique commune des plantes à nodules caulinaires est la présence sur leur tige de sites de nodulation prédéterminés. Ces sites de nodulation sont toujours constitués d'un primordium racinaire, dont le stade de développement varie suivant l'espèce considérée. La potentialité racinaire du primordium a été confirmée expérimentalement ; les sites de nodulation immergés dans l'eau donnent naissance à une racine qui s'allonge (DUHOUX et DREYFUS, 1982 ; ALAZARD et DUNOIX 1987).

Au Sénégal, différentes espèces d'*Aeschynomene* poussent spontanément, chaque année, autour des mares permanentes ou temporaires pendant la saison des pluies. Les espèces le plus fréquemment rencontrées sont : *A. afraspera*, *A. americana*, *A. crassicaulis*, *A. elephroxylon*, *A. indica*, *A. schimperi*, *A. sentiva* et *A. tambacoundensis*. Excepté *A. afraspera*, chez qui la nodulation caulinare naturelle est fréquente et abondante, les autres espèces portent généralement des nodules caulinaires seulement sur la partie basse de leur tige, périodiquement soumise à l'immersion.

Les résultats présentés ici portent sur différents aspects de la symbiose entre *Rhizobium* et *Aeschynomene* :

- la spécificité de cette symbiose

- la structure anatomique des sites de nodulation

- le potentiel fixateur d'azote d'*A. afraspera* et son utilisation comme engrais vert

- la structure et le développement des nodules caulinaires chez *A. afraspera*
- enfin, la fixation d'azote *in vitro* par les *Rhizobium* d'*Aeschynomene*.

CLASSIFICATION DES AESCHYNOMENE EN FONCTION DE LA SPECIFICITE D'HÔTE ET DE LA STRUCTURE DES SITES DE NODULATION

Une étude de la spécificité de nodulation de 15 souches de *Rhizobium* isolées à partir de nodules de tige ou de racine de quelques espèces d'*Aeschynomene* a permis de distinguer 3 groupes d'inoculation croisée dans le genre *Aeschynomene* (Tableau 1a, en annexe).

Le premier groupe de plantes comprend les espèces

A. americana, *A. crassicaulis*, *A. elaphroxylon*, *A. falcata*, *A. fluminensis*, *A. histrix*, *A. pfundii* et *A. villosa*. Ce groupe est peu spécifique puisqu'il renferme également *Arachis hypogaea*, *Stylosanthes guyanensis* et *Macroptilium atropurpureum*, plante test du groupe cowpea. Ces espèces ne portent généralement pas de nodules sur leur tige. Seules *A. elaphroxylon* et *A. pfundii* portent des nodules à la base de leur tige lorsque celle-ci est immergée dans l'eau. *A. crassicaulis* est une herbe qui flotte à la surface de l'eau, et dans ces conditions, des nodules sont formés sur sa tige au point d'émergence des racines adventives.

Le second groupe comprend seulement 2 espèces

A. afraspera et *A. nilotica*. Ces 2 espèces très voisines se caractérisent par une nodulation caulinaire abondante, facilement réalisée expérimentalement par simple vaporisation d'une suspension diluée d'une culture de *Rhizobium* spécifique (Figure 1, en annexe).

Le troisième groupe comprend les espèces suivantes

A. ciliata, *A. denticulata*, *A. evenia*, *A. indica*, *A. rudis*, *A. scabra*, *A. sensitiva* et *A. tambacoundensis*. Ce groupe d'inoculation croisée de plantes est très spécifique. Excepté la souche ORS 320, les souches de *Rhizobium* isolées des plantes de ce groupe n'induisent des nodules qu'avec les autres plantes de ce même groupe.

Toutes ces plantes portent des nodules caulinaires lorsqu'elles sont inoculées par vaporisation d'une culture de *Rhizobium* spécifique (Figure 1b, en annexe). Cependant, la nodulation est très dispersée et nettement moins abondante que chez *A. afraspera* ou *A. nilotica*.

Chez les espèces d'*Aeschynomene* à nodules caulinaires, il n'y a pas de spécificité de nodulation entre la tige et les racines. Toutes les espèces d'*Aeschynomene* à nodules caulinaires forment des nodules à la fois sur leur

tige et sur leurs racines, lorsqu'elles sont inoculées avec la même souche de *Rhizobium*.

A chaque groupe de plantes correspond une structure de site de nodulation différente, qui détermine l'accessibilité du site pour le *Rhizobium* et par conséquent, la fréquence de la nodulation caulinaire dans le groupe de plantes considéré (ALAZARD et DUHOUX, 1988a).

A. afraspera et *A. nilotica* qui, dans la nature, portent en abondance des nodules sur leur tige présentent la structure la plus évoluée (Figure 2a, en annexe). Chez ces espèces, le site de nodulation est constitué d'un dôme épidermique proéminent et d'un primordium racinaire très développé dont l'apex est simplement recouvert par une couche de cellules épidermiques aplaties. Une cavité annulaire est dégagée entre la base du primordium racinaire et les tissus corticaux de la tige. Le degré d'humidité de l'air, très élevé durant la saison des pluies dans les régions tropicales, est généralement suffisant pour lever la dormance d'une partie des sites de nodulation chez ces espèces d'*Aeschynomene*.

Enfin le troisième groupe de plantes représenté par *A. elaphroxylon* est caractérisé par la structure la moins évoluée (Figure 2c, en annexe). Le primordium racinaire est inclus dans les tissus corticaux de la tige. L'immersion de la tige est nécessaire pour que le primordium racinaire se développe suffisamment afin de pouvoir être infecté par le *Rhizobium*.

La présence de poils absorbants n'a jamais été observée au niveau des sites de nodulation de tige chez les différentes espèces d'*Aeschynomene*.

Il est remarquable que la classification des *Aeschynomene* en fonction de la structure anatomique des sites de nodulation coïncide avec la classification établie en fonction de la spécificité d'hôte des plantes pour les souches de *Rhizobium*.

LA SYMBIOSE ENTRE RHIZOBIUM ET AESCHYNOMENE AFRASPERA

Potentiel fixateur d'azote et application agronomique

Parmi les espèces d'*Aeschynomene* à nodules caulinaires, *A. afraspera* et *A. nilotica* se caractérisent par une nodulation caulinaire abondante, une croissance rapide et une production de biomasse importante, lorsque les conditions climatiques sont convenables. Leur potentiel fixateur d'azote est très élevé. Tout d'azote fixé par plante après 10 semaines de culture, dont la majeure partie provient de la fixation d'azote par les nodules caulinaires (ALAZARD et DUHOUX 1987).

De plus, dans une perspective d'utilisation agronomique, il a été montré que la nodulation et la fixation de l'azote par les nodules de tige d'*A. afraspera* n'était que faiblement inhibée par la présence d'azote combiné dans le sol (BECKER et al., 1986).

Cette propriété constitue un avantage supplémentaire aux légumineuses à nodules caulinaires par rapport aux autres légumineuses.

Structure et développement des nodules caulinaires chez *A. afraspera*

Les nodules sur les tiges d'*A. afraspera* sont visibles 3 jours après l'inoculation et suffisamment développés pour être efficaces, 10 jours plus tard (Figure 1a, en annexe). Ils ont une forme hémisphérique, leur cortex est chlorophyllien et le tissu central qu'ils renferment est coloré en rouge par la léghémoglobine. En coupe longitudinale ils présentent le plus souvent deux zones distinctes de tissu infecté situées de part et d'autre de la vascularisation du primordium racinaire.

L'infection par les *Rhizobiums* a lieu directement dans les cellules corticales situées au fond de la cavité annulaire dégagée autour du primordium racinaire (ALAZARD et DUHOUX, 1988b). Ces cellules, lorsqu'elles sont infectées, augmentent de taille et s'allongent. Elles renferment des *Rhizobiums* inclus en grand nombre dans des membranes enveloppes. Elles dégénèrent ensuite et constituent une trace d'infection qui s'infiltre en profondeur entre les cellules corticales sous-jacentes jusqu'à une zone où un méristème est formé. Les cellules méristématiques sont toutes infectées. Les *Rhizobiums* qu'elles contiennent sont inclus dans leur propre membrane pér bactéroïde. Le nodule se développe ensuite par division successive des cellules infectées.

Ce mode d'infection et de développement du nodule ne fait intervenir ni poils absorbants, ni cordon d'infection. Il se rapproche de celui chez *Arachis* (CHANDLER, 1978) et chez *Stylosanthes* (CHANDLER et al., 1982).

Il correspond à un caractère plus primitif de ces plantes par rapport à celles chez qui l'infection fait intervenir les poils absorbants (SPRENT et al., 1987). Ce dernier processus est mieux connu car il concerne les espèces de légumineuses à graines et fourragères, souvent des zones tempérées, les plus étudiées.

En conclusion, les *Aeschynomene*, dont le mode de développement des nodules se fait par simple division successive des cellules infectées, pourraient constituer un excellent matériel pour les études de la symbiose *in vitro*.

Par l'intermédiaire de protoplastes ou de cals infectés, ou de cellules du tissu central mises en culture, il est permis d'espérer pouvoir élucider certains facteurs qui contrôlent la symbiose et le processus de fixation d'azote *in vivo*.

PHYSIOLOGIE DES *RHIZOBIUM* D'*AESCHYNOMENE*

La plupart des souches de *Rhizobium* isolées des groupes de plantes des types *A. afraspera* et *A. indica* sont des souches à croissance rapide. En culture liquide, leur temps de doublement varie entre 4 et 6 heures. En revanche, comme les *Bradyrhizobium*, genre qui regroupe la majorité des souches tropicales à croissance lente, les souches d'*Aeschynomene* alcalinisent leur milieu de culture et présentent une flagellation subpolaire.

Les résultats préliminaires d'une étude de taxonomie numérique fondée sur l'examen de 221 caractères morphologiques, physiologiques et nutritionnels de souches de *Rhizobium* d'*Aeschynomene* comparées à des souches de *Rhizobium* et de *Bradyrhizobium* typiques montrent que les souches isolées d'*Aeschynomene* possèdent des caractéristiques de chacun des deux groupes. Ceci est à rapprocher des travaux de STOWERS et EAGLESHAM (1983) qui ont proposé de classer la souche BT Ai1 isolée de nodules caulinaires d'*A. indica* dans un groupe de *Rhizobium* intermédiaire entre les *Rhizobium* "sensu stricto" et les *Bradyrhizobium*. Plus récemment, CHAKRABARTI et al. (1986) sont arrivés à la même conclusion avec une souche isolée d'*A. aspera* L. (BICC 608).

Une propriété remarquable de nombreuses souches de *Rhizobium* isolées de nodules caulinaires d'*A. afraspera* ou d'*A. indica* est d'être capable d'exprimer leur nitrogénase *in vitro*, aussi bien en culture gélosée qu'en culture liquide sous de faibles tensions d'oxygène.

Ce n'est qu'en 1975 (KURZ et LA RUE ; TJEPKEMA et EVANS ; Mc COMB et al. ; PAGAN et al. ; KEISTER) que la fixation d'azote *in vitro* a été mise en évidence chez certaines souches de *Bradyrhizobium*, en particulier les souches 32H1 et CB756. Mis à part quelques exceptions, la souche *Rhizobium cowpea* IHP100 (BENDER et al., 1986) ou celle de *Rhizobium trifolii* 0403 "traité avec 16 mM de succinate (URBAN et al., 1986), la fixation d'azote non symbiotique est réduite au seul genre *Bradyrhizobium*.

Les souches ORS322 et ORS315 isolées de nodules caulinaires d'*A. afraspera* ont été comparées aux souches *Bradyrhizobium* CB756 et *Azorhizobium caulinodans* ORS571.

La fixation d'azote *in vitro* a été estimée par la mesure de l'activité réductrice d'acétylène des souches cultivées en milieu faiblement gélosé en tubes à essai.

Les activités réductrices d'acétylène des souches ORS322 et ORS315 sont du même ordre de grandeur que celle de la souche ORS571 et très supérieures à celle de la souche CB756 (Figure 3, en annexe). De plus, les souches d'*Aeschynomene*, comme celle *Sesbania rostrata*, ne nécessitent pas la présence d'une source d'azote combiné pour déréprimer leur nitrogénase.

On sait que la souche ORS571 possède la capacité unique de croître en utilisant l'azote atmosphérique fixé comme seule source d'azote (DREYFUS et al., 1983). Des expériences ont montré que les souches isolées d'*A. afraspera*

d'*A. indica* cultivées en milieu liquide, sont capables de fixer l'azote *in vitro* sous des faibles tensions d'oxygène (0,5%). Dans ces conditions, leur croissance est faible et se limite à 2 à 3 doublings de la population bactérienne. Que ces souches puissent croître aux dépens de l'azote moléculaire comme seule source d'azote reste à démontrer, et pour cela, il sera sans doute nécessaire de recourir aux conditions de contrôle strictes que peut fournir un chemostat.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

La symbiose caulinaire entre *Rhizobium* et *Aeschynomene* constitue un système fixateur d'azote original et prometteur par les perspectives de recherches qu'il offre : original par le mode de développement des nodules caulinaires qui pourrait conduire à la reconstitution de la symbiose *in vitro*, original par les propriétés physiologiques de certaines souches de *Rhizobium* d'*Aeschynomene*.

En effet, ces souches sont, à ma connaissance, les seules souches à croissance rapide qui fixent aussi activement l'azote *in vitro* sans nécessiter l'apport d'azote combiné.

L'étude génétique et physiologique du processus de fixation d'azote chez ces souches pourrait contribuer à une meilleure compréhension du rôle du microsymbiote dans la fixation symbiotique de l'azote et peut-être à l'amélioration de cette symbiose.

REFERENCES

ALAZARD D. -1985-

Stem and root nodulation in *Aeschynomene* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 50 (3), 732-734.

ALAZARD D. et M. BECKER. -1987-

Aeschynomene as green manure for rice. *Plant Soil*, 101, 141-143.

ALAZARD D. et E. DUHOUX. -1987-

Nitrogen-fixing stem nodules on *Aeschynomene* spp. *Biol. Fert. Soils* 4, 61-66.

ALAZARD D. et E. DUHOUX. -1988a-

Diversity of stem nodulation sites in *Aeschynomene* spp. *J. Plant Physiol.*, 132 (sous presse).

ALAZARD D. et E. DUHOUX. -1988b-

Stem nodule development on *Aeschynomene afraspera*. *J. Exp. Bot.* (soumis pour publication).

BECKER M., D. ALAZARD et J.C.G. OTTOW. -1986-

Mineral nitrogen effect on nodulation and nitrogen fixation of the stem-nodulating legume *Aeschynomene afraspera*. Z. Pflanzenemaehr. Bodenk., 149, 485-491.

BENDER G.L., J. PLAZINSKI et B.G. ROLFE. -1986-

A symbiotic acetylene reduction by a fast-growing cowpea *Rhizobium* strain with nitrogenase structure genes located on a symbiotic plasmid. Appl. Environ. Microbiol., 51 (4), 868-871.

CHAKRABARTI S.K., S.K. MISHRA et P.K. CHAKRABARTTI. -1986-

A note on physiological characteristics and genetic relatedness of a fast-growing *Rhizobium* from stem nodules of *Aeschynomene aspera* L. J. Appl Bacteriol., 60, 463-468.

CHANDLER M.R. -1978-

Some observations on the infection of *Arachis hypogaea* L. by *Rhizobium*. J. Exp. Bot., 29, 749-755.

CHANDLER M.R., R.A. DATE et R.J. ROUGHLEY -1982-

Infection and root-nodule development in *Stylosanthes* species by *Rhizobium*. J. Exp. Bot., 33, 47-57.

DREYFUS B.L., C. ELMERICH et Y.R. DOMMERGUES -1983-

Free-living *Rhizobium* strain able to grow on N as the sole nitrogen source. App. Environ. Microbiol. 45, 711-713

DUHOUX E. et B.L. DREYFUS -1982-

Nature des sites d'infection par le *Rhizobium* de la tige de la légumineuse *Sesbania rostrata* Brem. C.R. Hebd. Séances Acad. Sci. Paris, 294, 407-411.

HAGERUP O. -1928-

En nygrofil baelplante (*Aeschynomene aspera* L.) med bakterienknolde paa staengelen. Dan. Bot. Ark., 15, 1-19.

KEISTER D.L. -1975-

Acetylene reduction by pure cultures of rhizobia. J. Bacteriol. 123, 1265-1268.

KRETSCHMER A.E. Jr. et R.C. BULLOCK -1979-

Aeschynomene spp. : distribution and potential use. Soil Crop Sci. Soc. Fla. Proc., 39, 145-152.

KURZ W.G.W. et T.A. La RUE -1975-

Nitrogenase activity in rhizobia in absence of plant host. Nature, 256, 407-408.

Mc COMB J.A., J. ELLIOT et M.J. DILWORTH -1975-

Acetylene reduction by *Rhizobium* in pure culture. Nature, 256, 409-410.

PAGAN J.D., J.J. CHILD, W.R. SCOWCROFT et A.H. GIBSON -1975-

Nitrogen fixation by *Rhizobium* cultured on a defined medium. *Nature* 256, 406-407.

SPRENT J.I., J.M. SUTHERLAND et S.M. de FARIA -1987-

Some aspects of the biology of nitrogen-fixing organisms. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, 317, 111-129.

STOWERS M.D. et A.R.J. EAGLESHAM -1983-

A stem-nodulating *Rhizobium* with physiological characteristics of both - and slow-growers. *J. Gen. Microbiol.*, 129, 3651-3655.

TJEPKEMA J.D. et H.J. EVANS -1975-

Nitrogen fixation by free-living *Rhizobium* in a defined medium. *Biochem Biophys. Res. Commun.*, 65, 625-628.

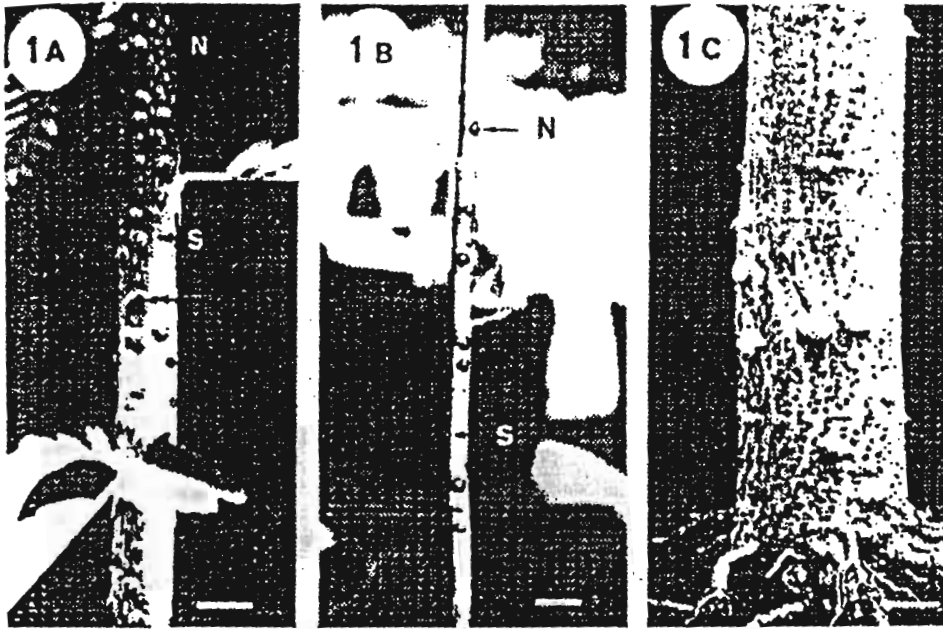
URBAN J.E., L.C. DAVIS et S.J. BROWN -1986-

Rhizobium trifolii 0403 is capable of growth in the absence of combined nitrogen. *Appl. Environ. microbiol.*, 52, (5), 1060-1067.

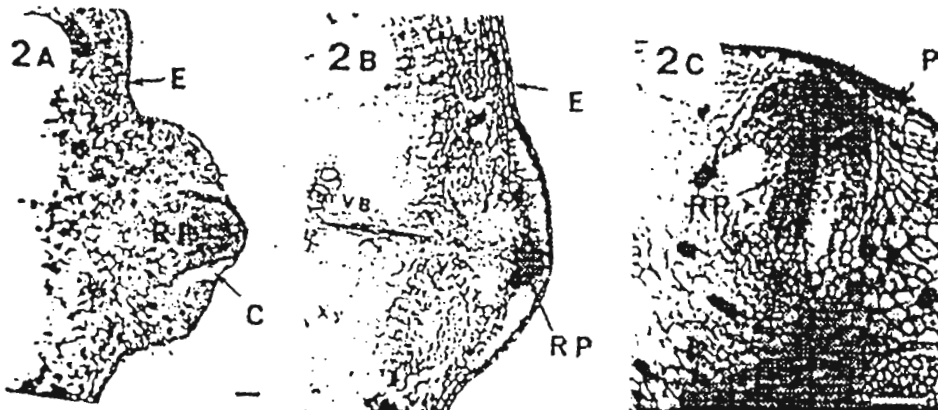
Tableau : Cross-inoculation specificities within the genus *Aeschynomene*.
Strains of *Rhizobium* and hosts of isolation.

Test plants	<i>A. americana</i>	<i>A. pfundii</i>	<i>A. elaphrocyllon</i>		<i>A. afraspera</i>			<i>A. indica</i>		<i>A. sensitiva</i> spp					<i>A. tambacoundensis</i>	<i>Sesbania rostrata</i>
	ORS 301	ORS 302	ORS 304	CRS 326	ORS 303	ORS 322	ORS 315	ORS 306	ORS 310	ORS 318	ORS 319	ORS 320	ORS 328	ORS 330	ORS 334	ORS 571
<i>A. americana</i>	E	B	E	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. crassicaulis</i>	E	B	E	E	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-
<i>A. elaphrocyllon</i>	E	E	E	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. falcata</i>	E	E	E	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. filuminensis</i>	E	E	E	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. histrix</i>	E	E	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. pfundii</i>	E	B	E	E	-	-	-	-	-	-	-	E	-	-	-	-
<i>A. villosa</i>	-	B	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Arachis hypogaea</i>	E	I	-	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Stylosanthes gulanensis</i>	E	E	I	E	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Macroptilium atropurpureum</i>	E	E	E	E	I	I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. afraspera</i>	E	E	E	E	E	E	I	-	-	-	-	E	-	-	-	-
<i>A. nilotica</i>	E	E	E	E	E	E	I	-	-	-	-	E	-	-	-	-
<i>A. ciliata</i>	-	-	-	-	E	E	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>A. denticulata</i>	-	-	-	-	E	E	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>A. evenia</i>	-	-	-	-	E	E	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>A. indica</i>	-	-	-	-	E	E	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>A. pratensis</i>	-	-	-	-	E	I	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>A. rudis</i>	-	-	-	-	E	E	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>A. scabra</i>	-	-	-	-	-	E	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>A. sensitiva</i> ssp1	-	-	-	-	E	E	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>A. sensitiva</i> ssp2	-	-	-	-	I	I	-	E	E	E	E	E	E	E	E	E
<i>A. tambacoundensis</i>	-	-	-	-	-	I	-	E	E	E	E	E	E	E	-	-
<i>Sesbania rostrata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E

E, effective root and stem nodulation; E, effective root nodulation; e, partially effective root and stem nodulation; e, partially root nodulation; I, ineffective root and stem nodulation; I, ineffective root nodulation; - no nodules produced



Figures 1



Figures 2

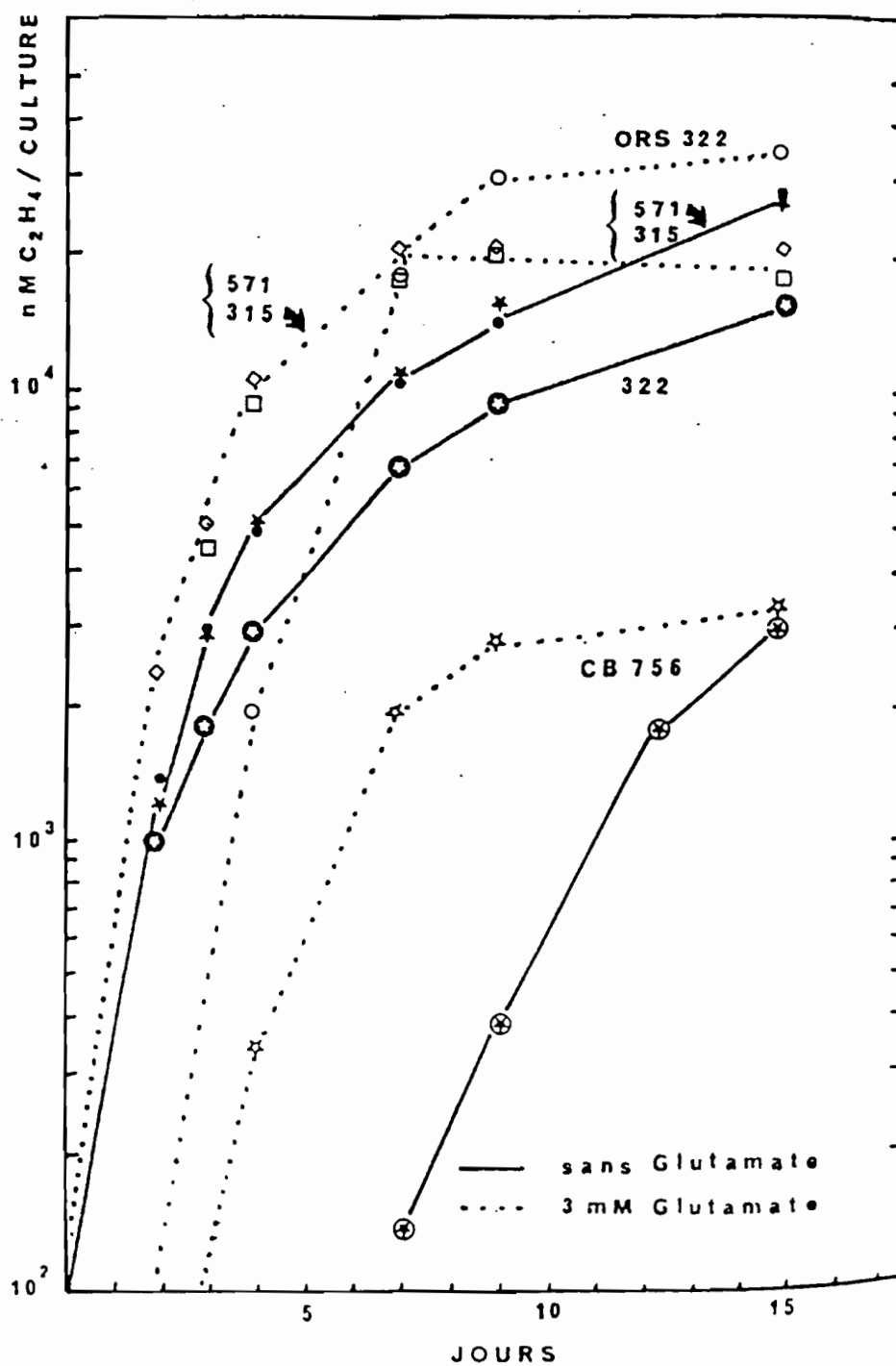


Figure 3

Alazard Didier, Duhoux E. (1989).

La nodulation caulinaire chez *Aeschynomene*.

In : Demarly Y. (ed.) Les légumineuses à graines : Madagascar 1988. Stockholm : FIS, 453-464.

Les Légumineuses à Graines, Madagascar (MDG), 1988/02/22-27.