5.3 JACHERE ET MICRO-ORGANISMES DES CYCLES N ET C

Jean-Luc CHOTTE[1], Joël FARDOUX[1], Alexia SCHWARTZMAN[2], Christine CHASTRUSSE[1], Robin DUPONNOIS[1], Marc NEYRA[1], Lucille JOCTEUR MONROZIER[2]
1.ORSTOM, Sénégal, 2. Laboratoire d'Ecologie Microbienne du Sol, Université Claude Bernard Lyon I, France.

Introduction

Les micro-organismes du sol jouent un rôle essentiel dans les processus de décomposition de la matière organique et la minéralisation de l'azote, principal élément nutritif pour les végétaux. L'impact des facteurs du milieu sur l'activité des microorganismes a été très largement documenté. Des études ont porté sur les effets de la température et du pH sur la croissance bactérienne (Dommergues et Mangenot, 1970), l'influence du potentiel de l'eau sur la physiologie des microorganismes (Griffin, 1981) ou les processus de décomposition de la matière organique (Sommers *et al.*, 1981), l'influence de la porosité sur la minéralisation de l'azote (Linn and Doran, 1984), les effets des colloïdes minéraux sur la décomposition des composés organiques (Martin and Haider, 1986) ou l'écologie des microorganismes (Stotzky, 1986).

Les études ont été conduites dans différents systèmes à jachère des communautés villageoises de Sonkorong (département de Nioro du Rip) et de Saré Yorobana (département de Kolda). Il s'agit de préciser l'impact de l'âge et des modes de gestion des jachères sur l'abondance des microorganismes et la diversité des principaux groupes microbiens impliqués dans les processus de transformation de la matière organique.

La biomasse microbienne totale (J. Fardoux et J. L. Chotte)

Il s'agit, dans ce travail de comparer les niveaux de biomasse microbienne sous jachère et sous cultures et d'évaluer l'impact de ces pratiques paysannes sur leurs variations saisonnières.

Matériel et méthodes

L'étude de la biomasse microbienne totale a été réalisée dans des jachères âgées de 18 ans (Saré Yorobana) et de 19 ans (Sonkorong), anthropisées ou mises en défens (Sonkorong). Pour chaque site, une parcelle témoin sous cultures est étudiée (Tableau 5.3-1). Le sol est de type ferrugineux tropical lessivé.

Tableau 5.3-1 : Situations retenues pour l'étude de la biomasse microbienne totale

Site	Parcelle	Transect	Nom	Traitement	Culture abandonnée en	Age de la Jachère en 1996	en défens depuis
Sonkorong	P4	T7A	**J19A.So**	Anthropisé	1977	19 ans	
Sonkorong	P4	T9D	**J19D.So**	en défens	1977	19 ans	1988
Sonkorong	Près de P4	T14	**C.So**	Culture			
Saré Yorobana	P5	T5	**J18.Sy**		1978	18 ans	
Saré Yorobana		T7	**C.Sy**	Culture			

Le plan d'échantillonnage est strictement identique à celui adopté dans l'étude des peuplements de nématodes phytoparasites. Pour les situations en jachère (J19A.So, J19D.So et J18.Sy), 16 prélèvements espacés de 1,50m sont réalisés dans l'horizon 0-10 cm le long d'un transect identique à chaque date d'échantillonnage. Pour les situations cultivées, 10 prélèvements sont effectués au hasard dans la parcelle. Les prélèvements de sol ont été réalisés toutes les 3 semaines entre mars et novembre 1996, c'est à dire en fin de saison sèche, au cours de l'hivernage et en début de saison sèche.

La biomasse microbienne a été mesurée par la méthode de fumigation-extraction (Amato et Ladd, 1988) sur des échantillons de sol frais. Les résultats sont exprimés en µg C g^{-1} sol. Pour comparer les situations entre elles et ainsi estimer les effets du mode de gestion des terres sur la biomasse microbienne, l'humidité des sols est exprimée en pourcentage de la capacité de rétention mesurée (pF 2,2) en condition de laboratoire. Les résultats de biomasse C (µgC g^{-1} sol) sont ensuite présentées en fonction de ces valeurs regroupées selon les classes suivantes :

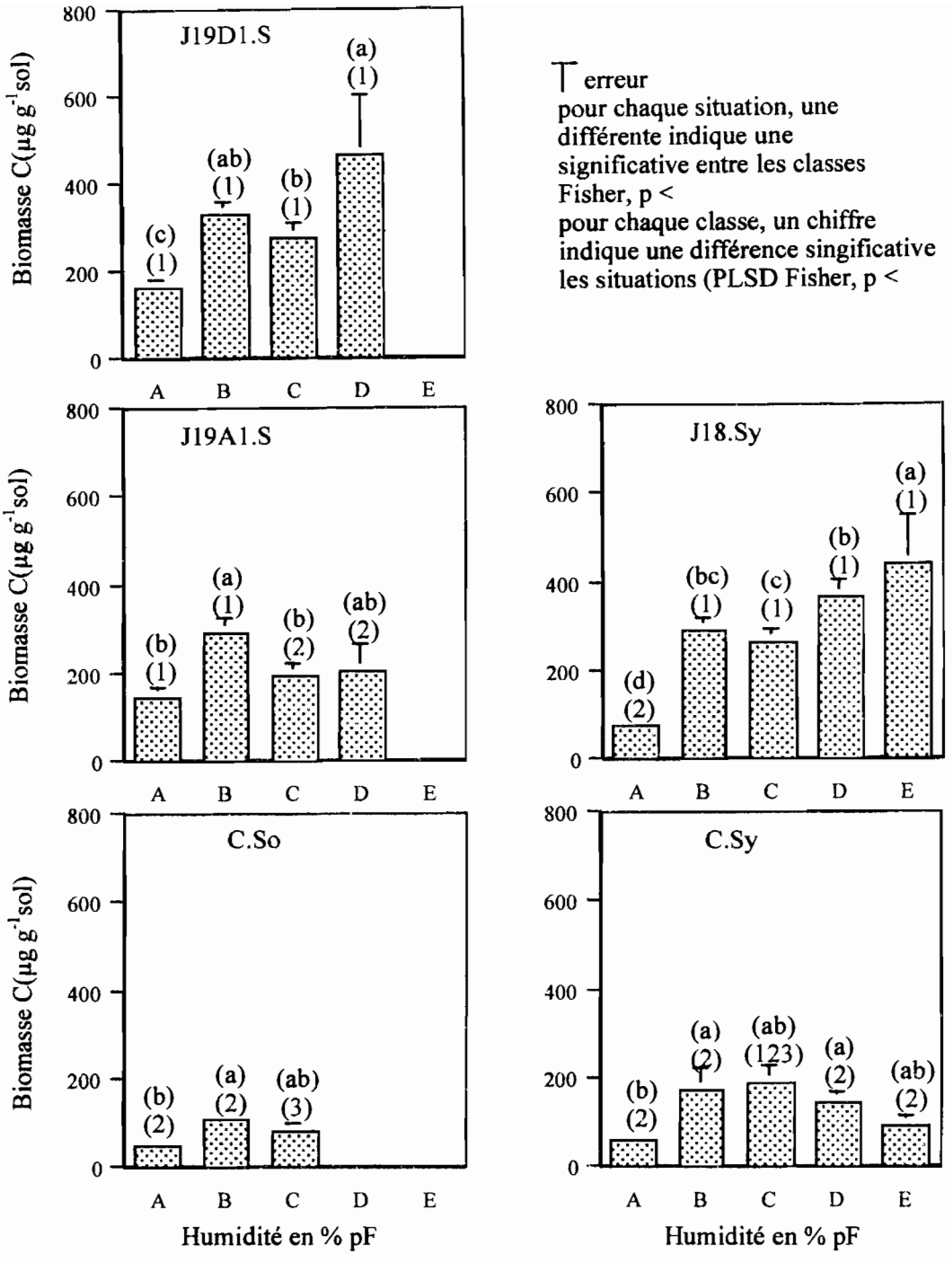
- Humidité pondérale en % de la capacité de rétention < 50%,
- 50% < < 100%,
- 100% < < 150%
- 150% < < 200%,
- > 200%.

Résultats

A l'exception de la situation C.Sy, les valeurs les plus élevées de biomasse C ont été mesurées pour des valeurs d'humidité du sol comprises entre 50% et 100% de la capacité de rétention (Figure 5.3.-1). A ce potentiel, la biomasse C des situations en jachère est plus élevée que celle des situations sous culture. Pour la situation J18.Sy, la valeur la plus élevée de biomasse C est obtenue pour des humidités du sol supérieures à 200%. Comme pour cette situation, la biomasse C augmente avec l'humidité du sol dans la situation J18D.So, alors que pour les sols sous cultures (C.Sy et C.So) et la jachère de 19 ans anthropisée (J19A.So) le phénomène inverse est observé. Dans ces situations, la saturation en eau de la porosité totale, en créant des conditions anaérobies, provoque la disparition des microorganismes. A l'opposé sous jachère, la biomasse microbienne tend à augmenter avec l'humidité. Ces conditions anaérobies ne sont donc pas atteintes dans ces sols probablement en raison d'une macroporosité importante créée par les macroorganismes et les racines. L'augmentation de l'humidité des sols de ces situations (J18.Sy et J19D.So) se traduit par la colonisation de nouveaux sites devenus accessibles aux microorganismes. Les résidus végétaux, abondants dans ces situations sous jachère et localisés dans la macroporosité, pourraient représenter ces nouveaux sites.

Conclusion

Les résultats de la campagne de mesure de la biomasse microbienne, réalisée dans diverses situations de jachère au Sénégal, indiquent que la biomasse C des situations sous jachère est supérieure à celle des situations sous culture et que la réponse des micro-organismes aux variations saisonnières d'humidité des sols semble être influencée par les caractéristiques physiques des sols et l'abondance des résidus végétaux. En effet, pour les sols sous cultures, l'augmentation de l'humidité du sol se traduit par une diminution de la biomasse microbienne. La saturation en eau de la porosité totale, en créant des conditions anaérobies, provoque la disparition des micro-organismes. En revanche, sous jachère, la biomasse microbienne tend à augmenter avec l'humidité. Ces conditions anaérobies ne sont donc pas atteintes dans ces sols, probablement en raison d'une macroporosité importante crée par les micro-organismes et les racines. L'augmentation de l'humidité des sols des situations se traduit par la colonisation de nouveaux sites devenus accessibles aux micro-organismes. Les résidus végétaux, abondants dans ces situations sous jachères et localisées dans la macroporosité, pourraient représenter ces nouveaux sites.



- A : < 50%
- B : 50% Š < 100%,
- C : 100% Š <150%,
- D : 150% Š < 200%,
- E : □200%.

Figure 5.3-1 : Biomasse microbienne (µgCg-1sol) dans les différentes situations selon le taux de saturation en H2O exprimé en pourcentage de l'humidité à, pF2,2

Les bactéries diazotrophes (A. Schwarztman, L. Jocteur Monrozier et J. L. Chotte)

L'objectif de ce volet est de mesurer dans deux jachères, respectivement âgée de 3 et 19 ans, l'activité potentielle de fixation non symbiotique de l'azote et de comparer, pour ces deux situations la distribution des bactéries diazotrophes dans les différents habitats microbiens des sols.

Matériel et méthodes

Les situations étudiées sont les jachères de 3 et 19 ans en défens de Sonkorong (**J19D.So** et **J3D.So**).

Un échantillon de sol (horizon 0-10 cm) non perturbé a été prélevé en mars 96 et conservé en l'état à l'obscurité en chambre froide. Le sol est fractionné selon la méthode décrite par Chotte *et al.* (1994). Cette méthode permet d'isoler 5 fractions : les résidus végétaux libres, les fractions > 2000 µm, 50-2000 µm, 2-50 µm constituées de particules minérales et organiques (figurées ou humifiées) agrégées et enfin la fraction des argiles dispersées 0-2 µm.

Les bactéries fixatrices libres d'azote du genre *Azospirillum* sont isolées sur milieu solide Nfb RC. La mesure de l'activité potentielle de fixation de l'azote est réalisée selon la méthode de l'ARA (Activité Réductrice d'Acétylène). Ces caractérisations sont effectuées sur les fractions conservées à l'état frais. Les souches bactériennes constituant la collection d'*Azospirillum spp* sont hybridées avec des sondes radiomarquées pour l'étude de leur diversité. Les sondes utilisées ont été décrites par Kabir *et al* (1994). Les sondes utilisées ont pour cible l'ARN ribosomal 16S. Ce sont des oligonucléotides, au nombre de trois : Al, Ai et Aba, respectivement spécifiques d'*A. lipoferum*, *A. irakense* et *A. brasilense/A. amazonense*. Le protocole d'hybridation des colonies est celui décrit par Sambrook *et al* (1989). Les témoins positifs et négatifs proviennent de la collection du laboratoire d'Ecologie microbienne du sol (Lyon, France).

Résultats

Distribution pondérale des fractions

La fraction pondéralement la plus abondante est la fraction 50-2000 µm (Figure 5.3-2). Dans la jachère récente protégée (J3D.So) cette fraction représente environ 70% du poids du sol total. Cette proportion est significativement plus faible dans la jachère ancienne (J19D.So = 46%). Pour ces deux situations, la fraction 50-2000 µm obtenue lors de l'analyse mécanique représente respectivement 64% (Jr.D) et 55% (Ja.D) du poids du sol total. Les argiles dispersées (0-2 µm) sont les plus abondantes dans la situation J3D.So (11% du poids du sol total) que dans la situation J19D.So (2% du poids du sol total). Cette quantité est respectivement équivalente et significativement inférieure aux argiles granulométriques obtenues lors de l'analyse mécanique dans chaque situation. Contrairement aux autres fractions, les fractions 2-50 µm et > 2000 µm sont les plus abondantes dans la jachère ancienne protégée. Elles représentent, en pourcentage du poids du sol total, respectivement 23% dans J19D.So et 12% dans J3D.So ; 29% dans J19D.So et 7% dans J3D.So. Il est important de remarquer qu'il n'existe pas de graviers > 2000 µm dans les sols. La fraction > 2000 µm est donc constituée d'agrégats.

Distribution des bactéries libres fixatrices d'azote

Le nombre totale de bactéries libres fixatrices d'azote dans les deux situations J3D.So et J19D.So n'est significativement pas différent. Il est respectivement égale à 9,14 10^6 et 40,8 10^6, soit 30% et 60% de la totalité des bactéries cultivables sur milieu TSA. La comparaison entre ces situations de la distribution des microorganismes libres fixateurs dans les différentes fractions n'est pas significative (Figure 5.3-3). Les bactéries associées aux résidus végétaux libres représentent moins de 1% de l'ensemble de bactéries fixatrices. Celles dispersées avec les argiles correspondent à plus de 50% (respectivement 60% et 70%).

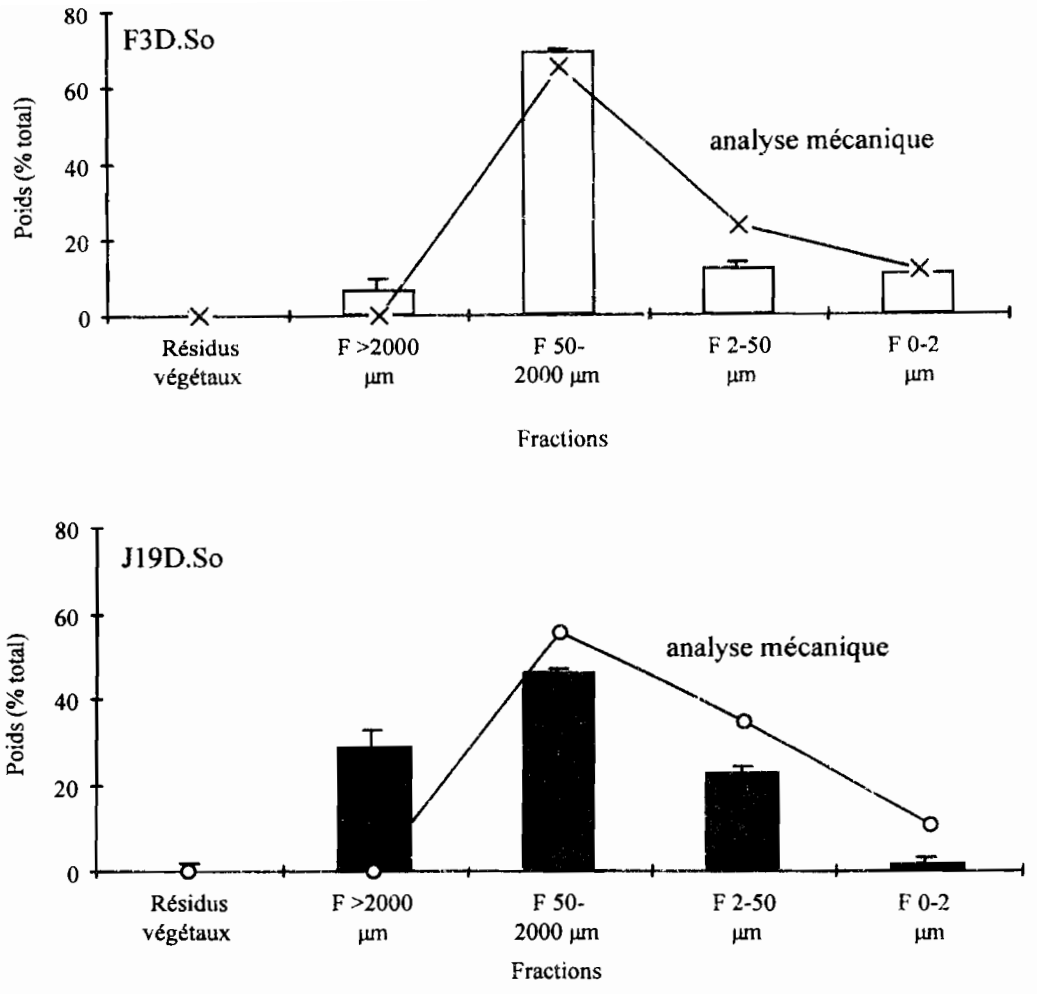


Figure 5.3-2 : Distribution pondérale des fractions

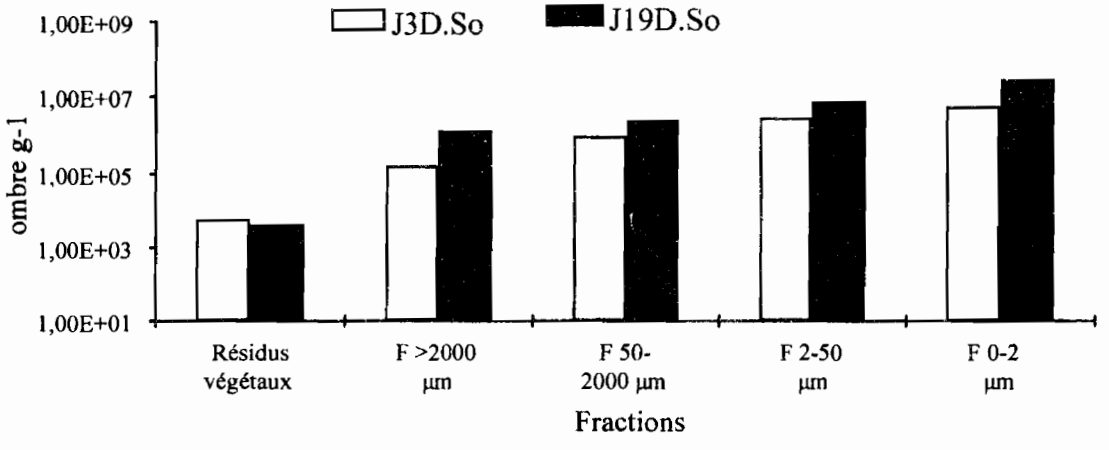


Figure 5.3-3 : Distribution des bactéries libres fixatrices d'azote dans les différentes fractions granulomètriques.

Fixation potentielle libre d'azote : contribution des bactéries des différentes fractions

La fixation potentielle libre d'azote s'élève respectivement à 0,8 kg N ha^{-1} et 6 kg N ha^{-1} dans la jachère de 3 ans et celle de 19 ans (Figure 5.3-4). La mesure des activités potentielles dans chaque fraction révèle que l'augmentation de l'activité de fixation libre entre la jachère de 3 ans et celle de 19 ans est principalement due aux bactéries localisées dans les fractions > 2000 µm et 50-2000 µm. En effet 45% et 40% du gain de fixation est respectivement enregistré dans les fractions > 2000 µm et 50-2000 µm.

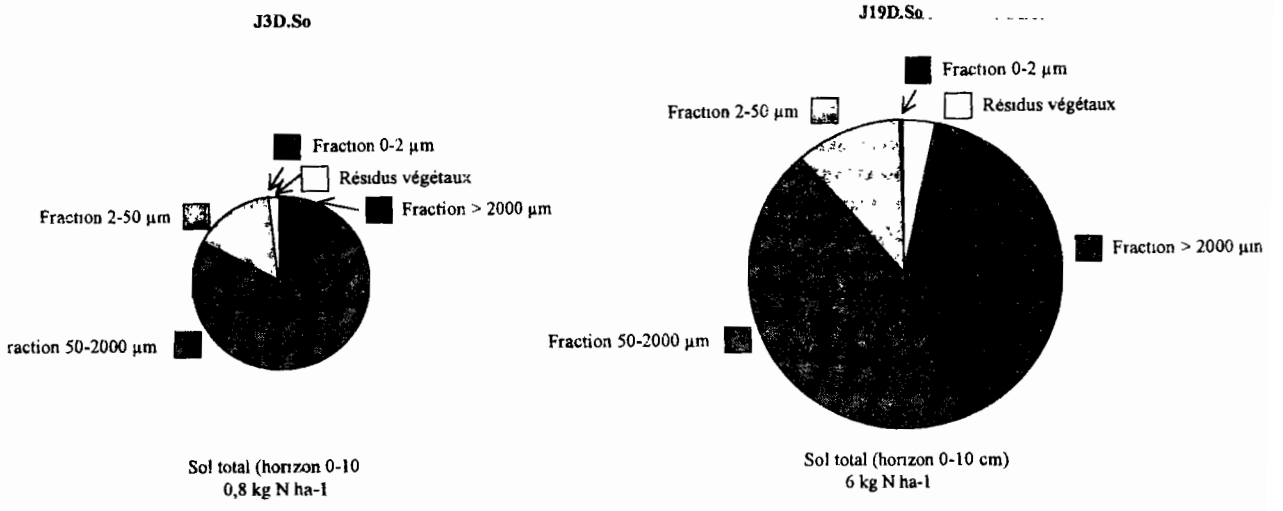


Figure 5.3-4 : Activité potentielle de fixation de l'azote (% de l'activité du sol total) des différentes fractions granulomètriques

Distribution des bactéries du genre Azospirillum

Le nombre total de bactéries du genre *Azospirillum*, calculé à partir de la somme des fractions, est respectivement égale à 1.14 10^5 et 1,42 10^5 pour J3D.So et S19D.So. Elles représentent respectivement 1% et 0,3% des bactéries fixatrices totales. Ces bactéries sont légèrement plus abondantes dans le sol de la jachère la plus âgée. Cependant cette différence n'est pas significative. De la même façon, la distribution de ces bactéries dans les différentes fractions du sol J3D.So n'est significativement pas différente de celle enregistrée pour J19D.So (Figure 5.3.-5). Les résidus végétaux sont la fraction la plus faiblement colonisée. Ils abritent moins de 20 bactéries par g de sol, soit moins de 1% des bactéries totales. La fraction la plus riche est la fraction des argiles dispersées qui concentrent plus de 80% du nombre total de bactéries. Les bactéries associées aux autres fractions représentent de 1% à 10% de la population totale.

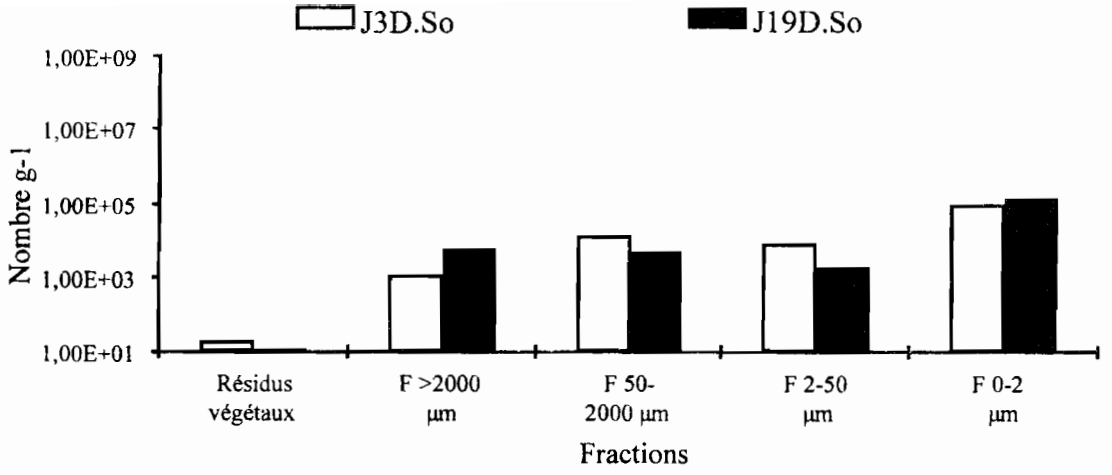


Figure 5.3-5 : Distribution des bactéries du genre Azospirillum dans les différentes fractions granulomètriques

Diversité des Azospirillum sp

L'identification porte sur 16 des 20 isolats. Les isolats issus du sol sous jachère ancienne (J19D.So) et de ses fractions répondent majoritairement à la sonde Aba, ceci dans toutes les fractions sauf dans la fraction 0-2 µm. La dominance d'*A. brasilense/amazonense* est très claire. Il faut noter la très faible proportion d'*A. irakense*. Dans le sol sous jachère plus récente (J3D.So), les isolats répondent aux trois sondes dans la plupart des fractions, indiquant une plus grande diversité des souches.

La jachère ancienne provoque, en modifiant l'environnement, la sélection d'un type d'espèce génomique et la disparition d'un autre. Kabir *et al* (1994) ont obtenu des résultats semblables en comparant deux sols sous cultures de riz, où la diversité spécifique d'*Azospirillum* est réduite, à un sol nu où la diversité est élevée. Les auteurs ont attribué cette sélection à l'influence de la plante.

Conclusion

L'effet de l'âge de la jachère sur l'organisation du sol est illustré par l'apparition de macro-agrégats > 2000 µm qui sont pondéralement prés de deux fois plus abondants que dans la jachère de 3 ans. L'importance de l'organisation du sol sur les activités des microorganismes telluriques est confirmé dans ce travail. En effet, les résultats obtenus indiquent que le gain de fixation libre d'azote enregistré dans la jachère la plus ancienne est en grande partie dû aux bactéries associées à ces macro-agrégats. Elles trouvent dans ces habitats microbiens les conditions physico-chimiques favorables à leur activité. L'étude de la diversité génotypique d'une partie de ces bactéries (*Azospirillum*) montre une diminution de la diversité dans la jachère la plus ancienne.

Les bactéries cellulolytiques (C. Chastrusse, J.L. Chotte, J. Fardoux, R. Duponnois, M. Neyra)

Introduction

Les organismes cibles de ce travail sont les cellulolytiques. Il s'agit de préciser leur localisation et leur diversité dans un sol en jachère (J19D.So).

Matériel et méthodes

Le mode d'échantillonnage, de conservation et de fractionnement du sol sont identiques à ceux adoptés pour l'étude des bactéries diazotrophes.

La carbone et l'azote organique du sol total et des fractions ont été mesurées selon la méthode Walkey and Black et la méthode Kjeldhal. Les dosage sont effectués en colorimétrie en flux continu (Technicon II).

Les bactéries cellulolytiques sont isolées sur un milieu de base Nfb modifié (d'après Day and Döbereiner 1976) comportant un antifongique, la cycloheximide. La seule source de carbone apporté à ce milieu est de la cellulose raffinée à 5 % selon la méthode de Thomas-Bauzon *et al.* (1990 et 1995). Au bout de 10 jours, les Unités bactériennes Formant des Colonies (CFU) sont dénombrées à la loupe binoculaire, en faisant la distinction entre les colonies filamenteuses et non filamenteuses. L'activité cellulolytique des souches est révélée par coloration au rouge Congo (2,5%). La diversité des bactéries cellulolytiques a été réalisée sur les souches isolées du milieu sélectif Nfb à cellulose raffinée. Elle a été effectuée par la méthode RFLP sur l'ADN codant pour l'ARN16S, après amplification par PCR. Cette caractérisation a porté uniquement sur les bactéries filamenteuses.

Résultats

Distribution du carbone et de l'azote organiques dans les différentes fractions (Figure 5.3-6)

La teneur en C et N organique du sol non fractionné est respectivement égale à 9,34 mgC g-1 sol et 0,64 mgN g-1 (C/N = 14). La distribution pondérale des fractions est équivalente à celle obtenue lors de l'étude des bactéries diazotrophes.

Les composés organiques qui contribue le plus au stock de C du sol sont ceux associés à la fraction 50-2000 µm. En effet, cette fraction concentre près de 40% du C du sol non fractionné. La valeur du C/N des composés organiques associés à cette fraction est égale à celle des résidus végétaux (23). Le C des micro-agrégats 2-50 µm et des macro-agrégats > 2000 µm représente respectivement 22% et 15% du C du sol total. Les résidus végétaux contribuent pour 15% au C du sol. Les composés organiques dispersés avec les argiles représentent 8% du C du sol total.

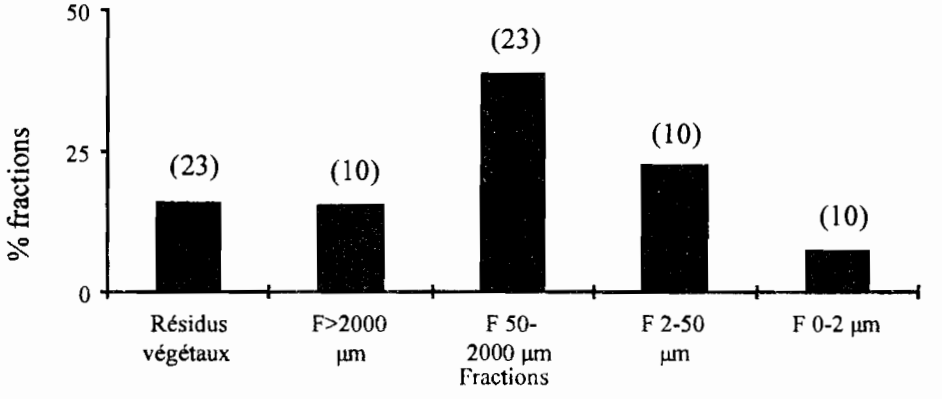


Figure 5.3-6 : Distribution du carbone (% de la somme des fractions) dans les différentes fractions granulomètriques. (entre apraenthèses les valeurs C/N)

Distribution des bactéries cellulolytiques

Les bactéries cellulolytiques non filamenteuses (Nfil) sont plus abondantes que les filamenteuses (Fil). Dans le sols non fractionné, leur nombre est respectivement égale à 7,94 10^6CFU g^{-1} sol et 0,93 10^6 CFU g^{-1} sol. Le nombre de colonies de bactéries non filamenteuses des différentes fractions varie entre 0,18 10^6 CFU g^{-1} sol (F 0-2 µm) et 4,67 10^6 CFU g^{-1} sol (F 2-50 µm) (Figure 5.3.-7). Les microorganismes de cette fraction représentent près de 60% des cellulolytiques non filamenteux totaux. La distribution des bactéries cellulolytiques filamenteuses est plus homogène. Leur nombre varie entre 7 10^5 CFU g^{-1} sol (Résidus végétaux) et 25 10^5 CFU g^{-1} sol (F 2-50 µm). Près de 60% des bactéries filamenteuses se distribuent également dans les fractions 50-2000 µm et 2-50 µm.

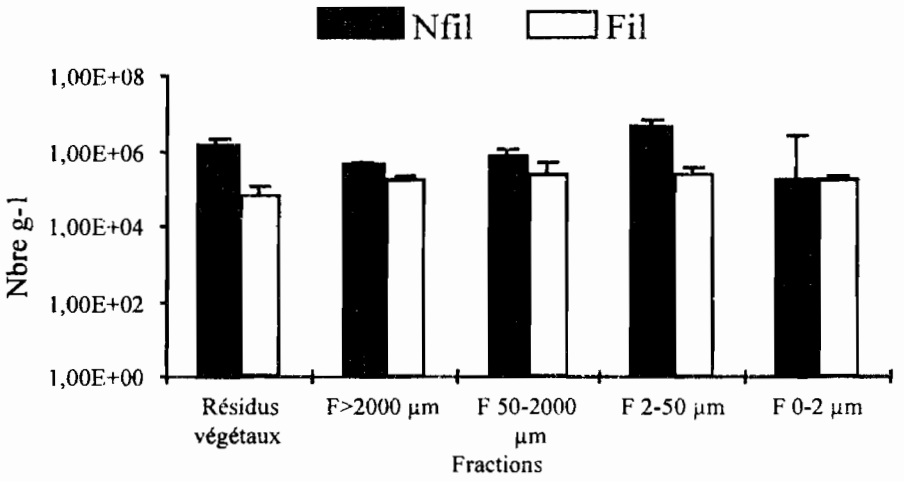


Figure 5.3-7 : Distribution des bactéries cellulolytiques non filamenteuses (NFil) et filamentauses (Fil) dans les différentes fractions du osl de la jachère de 19 ans (J19D.So).

Diversité des bactéries cellulolytiques

L'analyse de la diversité a porté sur des souches isolées de chaque fractions de sol. La rareté des colonies de bactéries associées aux résidus végétaux a rendu impossible cette étude sur cette fraction. Par ailleurs, seules les bactéries filamenteuses ont été retenues; dans la mesure où nous n'avons visualisé quasiment aucune plage de lyse chez les bactéries Nfil. La digestion par les enzymes Hae III et Msp I a révélé respectivement 13 et 6 profils génotypiques différents sur les 44 souches analysées. Ces profils sont souvent proches, les différences ne portant que sur un nombre restreint de fragments. Certains de ces profils sont dominants. Avec Hae III, 3 des 13 profils regroupent plus de 50% des souches. Avec Msp I, l'homogénéïté est encore plus forte. Dans ce cas, près de 90% des souches présentent le même profil.

Dans ce sol de jachère âgée de 19 ans, la classe d'agrégat la plus favorable aux micro-organismes cellulolytiques semble être la classe 2-50 µm. En effet, ces micro-agrégats sont riches en carbone et azote organiques et en bactéries cellulolytiques.

Les études de diversité génotypiques sont à élargir et à approfondir. Cependant, les premiers résultats montrent une faible diversité génotypique chez les bactéries cellulolytiques filamenteuses.

Conclusions

L'examen de l'ensemble de ces résultats permet de tirer les conclusions suivantes quant aux effets des jachères sur les micro-organismes des cycles C et N. Ces effets sont :

- des effets directs : par apport de substrat carboné dans le système sol-végétation qui stimule le développement des microorganismes. Parmi ces substrats, les plus importants sont les résidus végétaux et les composés solubles impliqués dans les processus d'agrégation,
- des effets indirects : en modifiant les conditions physico-chimiques des sols et tout particulièrement l'organisation des particules minérales et organiques. Dans les jachères anciennes la présence de macro-agrégats > 2000 µm sont pour les micro-organismes du sol de nouveaux sites dans lesquels ils trouvent les conditions favorables à leur activité.

La poursuite de ce travail sera de préciser la nature de ces effets sur les activités et la diversité des micro-organismes et de suivre l'évolution des relations sol-micro-organismes lors de la mise en culture de ces situations. L'objectif est de définir le (s) mode(s) de gestion des jachères qui favorisent les activités microbiennes de transformation des ressources organiques et de libération de l'azote dans des rotations jachère-culture où la durée des jachères est en constante diminution.

Références citées

AMATO, M , LADD J. N , 1988 Essay for microbial biomass based on ninhydrin - reactive nitrogen in extracts of fumigation soils. *Soil Biol. and Biochem.* 20 · 107-114

CHOTTE J L., VILLEMIN G., GUILLORE P., JOCTEUR MONROZIER L 1994. Morphological aspects of microorganism habitats in a vertisol In *Soil Micromorphology· Studies in Management and Genesis,* A J. Ringrose-Voase and G S Humphreys (Eds),. Proc. IX Int. Working Meeting on Soil Micromorphology, Townsville, Australia, July 1992 Developments in Soil Science 22, Elsevier, Amsterdam, pp-395-403.

DAY J M., DÖBEREINER J 1976. Physiological aspects of N_2-fixation by a *Spirillum* from Digitaria roots. *Soil. Biol. Biochem.* 8: 45-50

DOMMERGUES Y., F. MANGENOT., 1970 *Écologie microbienne du sol* Masson et Cie (ed.), Paris. 796 p.

GRIFFIN D.M , 1981. Water potential as a selective factors in the microbial ecology of soils. In. J.F. Parr, Gardner W.R. and Elliott L.F. (eds), Water Potential Relations in Soil Microbiology, SSSA Special Publication N° 9, Madison: pp 141-151.

KABIR MD. M., CHOTTE J.L., RAHMAN M., BALLY R., JOCTEUR MONROZIER L. 1994. Distribution of soil fractions and location fo soil bacteria in a vertisol under cultivation and perenial grass. *Plant and Soil* 163: 243-255.

LINN D M., DORAN J.W., 1984 Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and nontilled soils. *Soil Sci. Soc Am. J.* 48: 1267-1272.

MARTIN J. P., HAIDER K., 1986. Influence of mineral colloids on turnover rates of soil organic carbon In· P M Huang and M. Schnitzer (eds), Interactions of Soil Minerals and Natural Organics and Microbes, SSSA Special Publication N° 17· pp. 283-304.

SAMBROOK J , FRITSH E.F., MANIATIS T.E. 1989 Molecular cloning-a laboratory manual Cold Spring Harbor Laboratory. Cold Spring Harbor. New York. USA.

SOMMER L E., GILMOUR C.M., WILDUNG R.E , BECKS S.M., 1981. The effects of water potential on decomposition processes in soil. In· Water Potential Relations in Soil Microbiology, J.F. Parr, Gardner W.R and Elliott L.F. (eds), *SSSA Special Publication N° 9,* Madison. pp. 97-117.

STOTZKY G., 1986 Influence of soil mineral colloids on metabolic processes. growth, adhesion, and ecology of microbes and viruses In. P.M. Huang and M. Schnitzer (eds), Interactions of Soil Minerals and Natural Organics and Microbes, *SSSA Special Publication* N° 17: pp 305-428

THOMAS-BAUZON D., E. KIFFER, G. JANIN, TOUTAIN F., 1995. Méthodologie de recherche de bactéries cellulolytiques diazotrophes appliquée aux meules de *Sphaerotermes sphaerothorax C R. Acad. Sci Paris. Sciences de la vie, Ecologie* 318·699-707

THOMAS-BAUZON D., E. KIFFER, G. PIZELLE, PETITDEMANGE E . 1990 Fixation d'azote et cellulolyse · activités nitrogénase et/ou cellulose d'organismes fixateurs d'azote et/ou cellulolytiques. Nancy : Presses universitaires

Chotte Jean-Luc, Fardoux Joël, Schwartzman A., Chastrusse Christine, Duponnois Robin, Neyra Marc, Jocteur Monrozier L. (1998).

Jachère et micro-organismes des cycles N et C.

In : Floret Christian (coord.). Raccourcissement du temps de jachère, biodiversité et développement durable en Afrique Centrale (Cameroun) et en Afrique de l'Ouest (Mali, Sénégal) : rapport final.

Dakar : ORSTOM, p. 121-130 multigr.