

Rapport de mission d'appui dans le cadre de la convention
DAE 3/88/117 CIRAD-Forêt/ONF/Région-REUNION
du 11 au 21 janvier 1994

Etude des symbioses forestières fixatrices d'azote au sein
du "programme d'expérimentations forestières et
agroforestières à la Réunion"

Didier LESUEUR

Laboratoire commun CIRAD-Forêt/ORSTOM
de Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales
de NOGENT/MARNE

CIRAD-Forêt
Département Forestier du CIRAD
45bis, Avenue de la Belle Gabrielle
94736 NOGENT/MARNE Cedex
(France)
Septembre 1994

Rapport de mission à la Réunion du 11 au 21 Janvier 1994

**Etude des symbioses forestières fixatrices d'azote au sein
du "programme d'expérimentations forestières et
agroforestières à la Réunion".**

Didier LESUEUR

Objet de la mission

Les principaux objectifs de cette mission sont :

- Compléter par des observations sur le terrain, les différents travaux qui ont déjà été effectués sur le problème du dépérissement des *Casuarina equisetifolia* à la Réunion, et plus particulièrement dans le domaine forestier de l'Etang-Salé afin de pouvoir faire une synthèse globale et élaborer un programme de recherche pour un stage qui sera consacré à cet aspect.

- Améliorer la fixation symbiotique de l'azote et la qualité du fourrage produit par les légumineuses arborescentes utilisées en agroforesterie sur les Hauts de l'Ouest par une approche microbiologique. Il s'agit essentiellement de prélever, au sein des différents dispositifs mis en place, des nodules sur les espèces de légumineuses les plus importantes à la Réunion, ceci afin de pouvoir piéger et isoler au BSFT (Laboratoire commun CIRAD-Forêt/ORSTOM de Biotechnologie des Symbioses Forestières Tropicales) à Nogent/Marne, les souches de rhizobium qu'ils contiennent et estimer leur efficacité symbiotique.

Remerciements

Je remercie très sincèrement mon collègue Jacques Tassin, Ingénieur de Recherche du CIRAD-Forêt à La Réunion, et tous ses collaborateurs pour l'excellente organisation de la mission que j'ai effectuée en leur compagnie.

Je suis également très reconnaissant à l'Office National des Forêts, et en particulier à messieurs Régis Michon, Directeur Régional adjoint, et Pierre Sigala pour avoir accepté de participer activement aux discussions qui ont eu lieu au sujet du dépérissement du filao sur l'île.

Je remercie également mes collègues du CIRAD et plus particulièrement messieurs Serge Quilici et Jean-Claude Girard, respectivement Ingénieur de Recherche au CIRAD-FLHOR et au CIRAD-CA, pour nous avoir si gentiment accueillis dans leur laboratoire afin de répondre aux questions que nous nous posions dans les domaines de l'entomologie et de la phytopathologie.

Déroulement de la mission

(lors des différentes réunions ou entretiens auxquels j'ai participé pendant cette mission, j'ai toujours été accompagné par Monsieur Jacques Tassin du CIRAD-Forêt-Réunion).

- **Mercredi 12 janvier :**
 - * Arrivée à l'aéroport de Saint-Denis-Gillot à 13h20.
 - * Réunion à 15h00 avec messieurs Régis Michon (Directeur Régionale adjoint) et Pierre Sigala de l'ONF. Les discussions ont porté sur le programme de la mission, et sur l'appui technique éventuel que pouvait nous fournir l'ONF.
 - * Trajet Saint-Denis-Saint-Pierre.

- **Jeudi 13 janvier :**
 - * Réunion avec messieurs Clain (Technicien Forestier ONF) et Payet (Agent Technique ONF) du groupe technique de l'Étang-Salé et messieurs Tassin et Rivière (Technicien CIRAD-Forêt). Nous avons fait le point sur le problème du dépérissement des *C. equisetifolia* à l'Étang-salé. Des observations ont été faites, à la fois en pépinière et sur un certain nombre de parcelles expérimentales, en particulier les parcelles 218 et 210 (parcelle où un test d'inoculation sur 2 provenances de *C. equisetifolia* a été mis en place en 1990 par messieurs Y. Roederer, Y. Prin et Y. Dommergues, en collaboration avec l'ONF.
 - * Visite de la station CIRAD des colimaçons où ont été mis en place des essais agroforestiers avec des *Calliandra calothyrsus*, des *Leucaena diversifolia*, des géraniums, et trois espèces de légumineuses herbacées de couverture (Trèfle du Kenya, Lotier et arachide).

- **Vendredi 14 janvier :**
 - * Entretien à 9h00 avec madame Marylène Hoarau de la Cellule LOcale pour l'Environnement (CLOE) de Saint-Denis.
 - * Entretien avec monsieur Jean-Pierre Arnaud de la DIREN de Saint-Denis.

- * Retour à Saint-Pierre afin d'établir un programme de mission définitif et définir les principaux axes d'investigation qui allaient être abordés.
- **Samedi 15 janvier :** * Déracinement de deux *C. equisetifolia* sur la parcelle 210 qui est située à l'intérieur du domaine forestier de l'Etang-Salé, ceci afin d'observer et d'évaluer l'ancrage du système racinaire d'un individu sain, et d'un individu en voie de dépérissement.
* Observations sur d'autres parcelles de *C. equisetifolia* situées sur le littoral de l'Etang-Salé.
- **Dimanche 16 janvier :** * Prélèvements de nodules sur les deux espèces de Tamarin des Hauts (*Acacia heterophylla* et *Sophora denudata*) dans une zone allant de Tampon jusqu'à la Plaine des Cafres (Sud/Sud-est de l'île).
- **Lundi 17 Janvier :** * Entretien avec monsieur Gilles Mandret, chercheur au CIRAD-EMVT. Cette entrevue a eu pour but essentiel d'expliquer rapidement le travail qui était initié sur la microbiologie des rhizobiums de *Calliandra calothyrsus* et de *Leucaena diversifolia*, et de savoir s'il était intéressé pour participer à de futurs essais sur l'effet de l'inoculation avec rhizobium sur la fixation d'azote, la production de biomasse et la qualité du fourrage produit par ces deux espèces de légumineuses arborées.
* Récoltes de nodules sur les légumineuses arborées rencontrées à la pépinière ONF de Saint-Paul, dans les parcelles d'essai situées au Rocher des Colimaçons et à Piton Saint-Leu.
- **Mardi 18 janvier :** * Récoltes avec monsieur Jacques Gauvin (Technicien forestier ONF du groupe technique de Saint-Paul) de nodules sur les différentes provenances de *Calliandra calothyrsus* et de *Leucaena diversifolia* testées dans le dispositif agroforestier de la station des Colimaçons.
* Entretien avec messieurs Dominique Valk et Frantz Limier, respectivement Directeur et Conseiller scientifique du Conservatoire et Jardin Botanique National de Mascarin.

Ces deux personnes nous ont présentés leurs futurs programmes scientifiques, et nous ont fait visiter leur laboratoire qui est en cours d'aménagement.

- **Mercredi 19 janvier :** * Réunion à la pépinière de l'Etang-Salé avec différents responsables et techniciens de l'ONF (Régis Michon; Pierre Sigala; Jean-Michel Decoud, Chef de division sud; Raymond Clain; Jean-Jacques Morel, Agent technique du groupe technique de l'Etang-Salé; Jean-Pierre Halluin, Technicien forestier du groupe technique des Avirons; Michel Payet, Technicien forestier du groupe technique de Saint-Paul; Jean-Yves Etienne, Agent technique du groupe technique de Saint-Paul). Le but de cette réunion était de faire le point sur les différentes investigations que nous avons menées au cours de la mission sur le problème du dépérissement du *C. equisetifolia*. Après quelques observations en pépinière, nous avons visité plusieurs parcelles expérimentales situées à la sortie de l'Etang-Salé (parcelles 201 et 203).
* Recensement et conditionnement au laboratoire du CIRAD-Forêt/Saint-Pierre des différents échantillons de nodules qui ont été prélevés au cours de la mission.

- **Jeudi 20 janvier :** * Visite du laboratoire de Phytopathologie du CIRAD-CA/Saint-Pierre avec son responsable, monsieur Jean-Claude Girard, et discussion sur le problème du dépérissement du *C. equisetifolia*.
* Discussion avec monsieur Amat (Chef de division ouest, ONF) sur le problème du dépérissement du *C. equisetifolia*.
* Visite du laboratoire de Biologie Végétale de l'Université de Saint-Denis avec monsieur Hippolyte Kodja, maître de conférence et chercheur dans ce laboratoire.
* Retour pour Paris à 21h45.

- **Vendredi 21 janvier :** * Arrivée à l'aéroport d'ORLY à 12h00.

Problème du dépérissement du Filao (*Casuarina equisetifolia*)

Position du problème.

Les *C. equisetifolia* plantés en bordure du littoral, notamment dans la forêt domaniale de l'Étang-Salé située sur la côte ouest de l'île, présentent des symptômes de dépérissement. Ce problème est très important pour l'île de La Réunion car il est bien connu que *C. equisetifolia* est une des essences ligneuses les mieux adaptées aux conditions spécifiques régnant en zone littorale (en particulier les embruns et à la salinité). Cependant, le plus souvent, on assimile à tort les problèmes de dépérissement du *C. equisetifolia* avec le phénomène naturel du vieillissement des arbres. C'est pourquoi il est nécessaire de bien distinguer les deux phénomènes.

Vieillessement des plantations de C. equisetifolia.

Ce phénomène est particulièrement marqué dans le domaine forestier de l'Étang-Salé. En effet, on y observe de nombreux arbres âgés de 15-20 ans au feuillage réduit, et à l'aspect malingre. Une des explications que proposent les forestiers est que les *C. equisetifolia* ont été plantés sur le littoral à une trop forte densité (environ 1100 individus par hectare). Selon eux, cette densité excessive à laquelle viennent s'ajouter une forte sécheresse qui sévit depuis bientôt 8 ans à La Réunion, et les contraintes physiques qu'infligent les cyclones qui frappent régulièrement l'île, finissent par épuiser et faire vieillir prématurément les *C. equisetifolia* du littoral.

Dépérissement des plantations de C. equisetifolia.

Cette fois-ci, il s'agit de phénomènes observés sur des individus de moins de 10 ans. En effet, les forestiers nous ont fait part du fort taux de mortalité qui était observé dans les jeunes plantations de *C. equisetifolia*. C'est la raison pour laquelle monsieur Y.R. Dommergues s'est intéressé à ce problème au cours des deux missions qu'il a effectuées à La Réunion (Dommergues, 1989; Prin et Dommergues, 1990). C'est à la suite de ces deux missions qu'il avait retenu plusieurs hypothèses pouvant expliquer ce phénomène de dépérissement proprement dit. Il s'agissait :



Parcelle côtière de *Casuarina equisetifolia* en voie de dépérissement dans le domaine forestier de l'Etang-Salé.



Observations du système racinaire de jeunes *Casuarina equisetifolia* sur une parcelle non irriguée, en compagnie de plusieurs responsables et techniciens de l'ONF.

- D'attaques de pathogènes qui peuvent être, soit de type pourridiés comme l'*Armillariella mellea* ou le *Clytocybe tabescens*, soit d'insectes de la famille des Coléoptères comme le *Coelosterna scabrator*, soit des bactéries phytopathogènes comme le *Pseudomonas solanocearum*.

- Problèmes de carences minérales, notamment en P ou en oligoéléments tels que le Mo et B qui font souvent défaut dans les sols de La Réunion.

- Mauvaise décomposition de la litière qui en s'accumulant bloquerait le cycle des éléments biogéochimiques et/ou provoquerait un phénomène d'allélopathie. D'ailleurs Prin et Dommergues (1990) ont suggéré que la non décomposition de la litière de *C. equisetifolia* dans certains sites pouvait être attribuée à des facteurs climatiques particuliers comme une forte sécheresse associée à une chaleur excessive et/ou à l'absence de décomposeurs (microfaune et micro-organismes).

- Mauvaise adaptation de la provenance locale de *C. equisetifolia*.

Plusieurs essais ont été réalisés afin de confirmer ou non ces différentes hypothèses. C'est ainsi que des échantillons d'arbres en voie de dépérissement ont été analysés afin de détecter la présence éventuelle de *Pseudomonas solanocearum*. Les différentes recherches qui ont été effectuées par le laboratoire de phytopathologie du CIRAD-CA/Saint-Pierre n'ont décelé la présence d'aucun germe de ce type.

L'hypothèse selon laquelle la provenance locale ou "filao pays" serait mal adaptée aux conditions climatiques et édaphiques du littoral réunionnais n'a pas été vérifiée. En effet, les résultats qui ont été obtenus lors d'un essai de comportement avec la provenance locale et une provenance sénégalaise (parcelle 210 de la forêt de l'Étang-Salé), ont montré que même si dans les premiers mois, la croissance et la nodulation de la provenance sénégalaise étaient supérieures à celles des "filao pays", on constatait trois ans après, qu'il n'y avait plus aucune différence entre les deux provenances testées, que ce soit en terme de croissance (hauteur), ou de survie au sein de la parcelle.

Nouvelle hypothèse de travail : problèmes liés à la sécheresse.

Au travers de ce que nous venons de voir, il nous est apparu nécessaire de réorienter nos recherches, ceci afin de déterminer quelles étaient les véritables causes du dépérissement du *C. equisetifolia* à La Réunion. C'est pourquoi nous avons cherché à déterminer si ce phénomène n'était pas en partie lié à la sécheresse qui sévit à La Réunion depuis bientôt 8 ans, tout en n'excluant pas des problèmes de carences minérales (des études sont en cours mais nous ne disposons pas encore des résultats). C'est au travers des travaux de Yadav (1981) que nous nous sommes intéressés à la morphologie du système racinaire de *C. equisetifolia*. En effet, cet auteur a montré que suivant le

développement de la racine, la croissance de cette dernière variait énormément, et que dans certains cas, il avait constaté qu'un système racinaire insuffisamment développé provoquait la mort des arbres. C'est dans le but de savoir si le dépérissement des *C. equisetifolia* avait un lien avec le développement du système racinaire de la plante que deux *C. equisetifolia* situés dans la parcelle 210 de la forêt de l'Etang-Salé ont été déracinés, dont un qui semblait être sain, et un autre qui était en voie de dépérissement. Comme on peut le voir en annexe, on constate que le développement du système racinaire de ces deux arbres est très réduit. Ce dernier est composé d'un chevelu racinaire superficiel (0 à 20 cm de profondeur), puis de racines latérales qui assurent l'ancrage de l'arbre dans le sol (10 à 20 cm en dessous du chevelu racinaire), et enfin d'un très court pivot dont l'extrémité atrophiée se termine par quelques racines à caractère pivotant de faible diamètre (à une profondeur d'environ 50 cm). Il semble que l'absence d'un véritable pivot soit due au fait que ce dernier ait formé après repiquage de la plante dans le sachet, une crosse dont la principale conséquence est l'arrêt de la croissance de la racine et la formation d'un moignon d'où partent les quelques petites racines à caractère pivotant décrites précédemment. De plus, l'arrosage systématique dont bénéficient les jeunes plants de *C. equisetifolia* pendant l'année qui suit leur mise en place dans les parcelles forestières, n'est pas propice à la formation et au développement d'un pivot. En effet, la plante ainsi arrosée ne développe pas un véritable système racinaire pivotant pour aller chercher l'eau en profondeur puisqu'on lui fournit l'eau dont elle a besoin. Mais lorsque l'arrosage est supprimé, l'absence de pivot est durement ressentie par la plante qui est brusquement confrontée au problème de déficience hydrique. De ce fait, les *C. equisetifolia* sont soumis à un stress hydrique très marqué. Tout ceci contribue à la fragilisation des plantes de *C. equisetifolia*, ce qui facilite les attaques par des insectes foreurs. Ainsi, lors des différentes visites que nous avons effectuées sur les parcelles de *C. equisetifolia* de la zone, nous avons noté qu'une forte mortalité des arbres était souvent liée à un fort pourcentage d'attaques de foreurs. Après en avoir discuté avec des entomologistes du CIRAD-FLHOR (S.Quilici et F.Antoine), ces derniers nous ont confirmé que pour eux, ces attaques n'étaient vraisemblablement pas la cause première du dépérissement des *C. equisetifolia*, mais découleraient plutôt d'une fragilisation des arbres par un stress hydrique qui en affaiblissant les arbres les rendrait moins résistants à des attaques de ce type. Cette fragilisation des *C. equisetifolia* se traduit donc par de multiples attaques d'insectes foreurs, d'où une forte mortalité au sein des parcelles. Nous avons également effectué des observations dans les parcelles situées à la sortie de l'Etang-Salé en direction de Saint-Pierre, où des jeunes *C. equisetifolia* sont irriguées pendant la première année qui suit leur installation. Nous n'y avons constaté aucune attaque d'insectes foreurs. En revanche, sur les parcelles plus âgées (mais moins de 10 ans), situées juste de l'autre côté de la route, on a relevé des traces d'attaques d'insectes foreurs sur la plupart des arbres morts ou en voie de dépérissement. Ces observations sont des

arguments supplémentaires en faveur du rôle prépondérant que semble avoir le stress hydrique dans le phénomène du dépérissement de *C. equisetifolia* à l'Etang-Salé.

Quelles sont les solutions envisageables pour limiter le dépérissement du filao

Nous venons de voir que l'absence d'un système racinaire pivotant semblait être la cause principale de la forte mortalité des *C. equisetifolia* âgés de moins de 10 ans dans la forêt domaniale de l'Etang-Salé. Il est donc nécessaire de prendre certaines précautions au stade de la pépinière, ceci afin de permettre au système racinaire de bien se développer et d'assurer pleinement les fonctions qui sont les siennes.

- La première disposition à prendre est d'effectuer les repiquages des jeunes plantules dans les sachets le plus tôt possible après la germination, ceci afin d'éviter les risques de formation de crosses racinaires identiques à celles qui ont été observées chez les jeunes plants qui ont été déterrés à la pépinière de l'Etang-Salé. Sinon, le risque est que l'on aboutira à la formation d'un système racinaire mutilé, équivalent à celui que nous avons décrit chez les arbres de *C. equisetifolia* que nous avons déterrés dans la parcelle 210, et qui, par conséquent, sera incapable de fournir à la plante tous les apports hydriques et minéraux dont elle a besoin. Monsieur Amat (Chef de Division Ouest, ONF) nous a suggéré l'utilisation en pépinière d'un dispositif de type Root-Trainier qui est particulièrement adapté pour permettre une bonne croissance du système racinaire. Ce dispositif est décrit en détail par Josiah & Jones (1992).

- La deuxième précaution qui peut être prise concerne le substrat utilisé pour la culture des jeunes *C. equisetifolia* en sachet. Nous avons pu constater que outre la présence de crosse racinaire, les jeunes plants de la pépinière étaient tous très fortement nodulés, ce qui est un argument supplémentaire pour écarter définitivement une éventuelle cause symbiotique dans le phénomène de dépérissement du *C. equisetifolia*. Cette importante nodulation découle de l'apport de tourbe dans le substrat utilisé en pépinière. Cependant, l'utilisation de ce mélange semble avoir quelques inconvénients car lors de la visite des parcelles 104 et 105 que nous avons effectuée avec différentes personnes de l'ONF, nous avons observé chez des individus morts que le système racinaire des plantes n'était pas sorti de la motte de substrat contenu dans le sachet. L'utilisation d'un substrat plus sableux et un arrosage plus approprié pourrait certainement mieux faciliter la colonisation du sol par les racines des jeunes *C. equisetifolia*.

- En ce qui concerne les conséquences de l'arrosage systématique qui est pratiqué au cours de l'année qui suit la mise en place de jeunes plants de *C. equisetifolia*, elles semblent être assez controversées car en tout état de cause, il inhibe la formation d'un pivot, dispositif racinaire tout à fait adapté pour aller chercher en profondeur l'eau

dont a besoin la plante, au profit d'un système racinaire fasciculé totalement inefficace lorsque la plante est soumise à un fort stress hydrique. C'est pourquoi nous proposons que les plantations se fassent au début de la saison des pluies, mais que si cette dernière tarde à venir, les jeunes plants mis en place soient arrosés comme ils le sont actuellement, cet arrosage étant immédiatement arrêté une fois que les pluies commencent.

- De par la nature même du sol de la forêt domaniale de l'Etang-Salé (sable noir) et de la température élevée qui y règne, il est possible que l'on ait un échauffement du sol sur une profondeur d'environ 30 cm. Cet échauffement peut venir s'ajouter aux autres facteurs déjà cités soupçonnés de fragiliser les plants de *C. equisetifolia*. Afin de limiter ce phénomène d'échauffement, on peut envisager l'utilisation d'une plante de couverture adaptée à ce type d'écosystème comme par exemple "l'herbe à tortue" qui ne devrait pas rentrer en compétition avec *C. equisetifolia* étant donné ses faibles exigences en eau, mais qui au contraire, en limitant l'échauffement du sol, réduirait l'évaporation de l'eau contenu dans ce dernier.

Conclusion

Nous avons fait figurer sur la Figure 1 (en annexe), l'ensemble des causes qui peuvent être à l'origine du dépérissement de ces plantes sur l'île de La Réunion. Comme nous l'avons déjà indiqué, le problème du dépérissement de *C. equisetifolia* à l'Etang-Salé semble être au moins en partie d'ordre technique au stade de la pépinière (repiquage précoce de jeunes semis dans les sachets). A partir de cet élément, différentes investigations peuvent être menées : problème de carence minérale, plus grande sensibilité vis-à-vis d'insectes foreurs, très forte compétition pour l'eau suite à une surdensité dans les plantations... Afin d'approfondir nos investigations, un stage de plusieurs mois va être consacré à ce thème, ce qui laisse penser que nous devrions disposer dans un avenir assez proche de nouveaux éléments de réponse, et ainsi mieux définir les causes exactes du dépérissement du filao à La Réunion.

Etant donné que le coup de mise en place de parcelles forestières est assez élevé, on peut s'interroger sur l'utilisation systématique de *C. equisetifolia* pour reforester systématiquement un certain nombre de parcelles de la forêt domaniale de l'Etang-Salé. C'est pourquoi, nous serions tenté de préconiser *C. equisetifolia* uniquement en proche bordure du littoral, car elle reste une espèce de choix pour ce type d'écosystème, mais qu'en revanche, dans les zones moins exposées aux embruns, on envisage l'utilisation d'autres essences adaptées au site telles que *Khaya senegalensis*, *Acacia cyanophylla*,... qui ne poseraient pas de problème de dépérissement.



Aspect du système racinaire d'un arbre de *Casuarina equisetifolia* âgé de 2 ans en voie de dépérissement dans le domaine forestier de l'Etang-Salé.



Aspect du système racinaire d'un arbre sain de *Casuarina equisetifolia* âgé de 2 ans dans le domaine forestier de l'Etang-Salé.

Récoltes de nodules sur des légumineuses arborées utilisées dans des haies fourragères anti-érosives

Bilan de la situation actuelle

Sur les Hauts de l'île de La Réunion, le CIRAD-Forêt, en collaboration avec d'autres départements du CIRAD (CIRAD-CA, CIRAD-EMVT, CIRAD-FLHOR), a mis en place chez différents exploitants agricoles des haies de légumineuses arborées fourragères telles que *Calliandra calothyrsus*, *Leucaena leucocephala* et *Leucaena diversifolia*. Ces haies présentent un double avantage : elles permettent de limiter l'érosion des sols qui est très importante lors de la saison des pluies, et elles fournissent également du fourrage aux troupeaux de caprins des agriculteurs.

Dans le but d'améliorer le rendement de ces haies vives, nous nous sommes intéressés aux souches de rhizobium avec lesquelles ces différentes espèces sont capables de s'associer pour fixer l'azote atmosphérique. Si les souches de rhizobium de *L. leucocephala* ont déjà fait l'objet d'un certain nombre de travaux, en revanche, on ne dispose que de peu d'information concernant les souches de *L. diversifolia* et de *C. calothyrsus*. Lorsque l'on consulte le catalogue de souches de rhizobium du NifTAL (Halliday & Somasegaran, 1984), on s'aperçoit que seules 4 ou 5 souches de *Rhizobium* de *C. calothyrsus* sont disponibles, et qu'aucune souche de rhizobium de *L. diversifolia* n'est répertoriée. Pour compenser le faible nombre de souches de rhizobium de collection de *C. calothyrsus*, le NifTAL (Macqueen, 1993) préconise l'utilisation d'un cocktail de souches de rhizobium (TAL 583, TAL 1145, TAL 1770, TAL 1806 et TAL 1887) qui bien que n'étant pas spécifiques de cette espèce, semblent être effectives avec *C. calothyrsus*. Mais au travers des résultats qui ont été obtenus au Kenya par l'ICRAF, l'inoculation des jeunes plants de *C. calothyrsus* avec ce cocktail de souches n'a pas entraîné une nette amélioration de la croissance de la plante-hôte.

Objectif du travail initié sur les rhizobiums de légumineuses fourragères arborées.

Au sein des essais qui ont été mis en place à la Réunion et en Nouvelle-Calédonie par le CIRAD-Forêt, et au Kenya par l'ICRAF, nous avons décidé de récolter des nodules sur les racines des principales espèces de légumineuses fourragères arborées, dans le but d'isoler les souches de rhizobium qu'ils renferment, et d'identifier celles qui seront les plus effectives avec leur plante-hôte respective. Nous prenons le soin de réaliser ces récoltes de nodules dans des sols très différents, ceci afin de disposer de souches de rhizobium adaptées aux différentes conditions de sol que l'on rencontre sous les tropiques.

Récoltes de nodules effectuées au cours de la mission.

La deuxième partie de ma mission a donc consisté à effectuer des récoltes de nodules sur les deux espèces majeures de légumineuses forestières. Il s'agit de *C. calothyrsus* et de *L. diversifolia* qui sont classiquement utilisées en haies vives. Des nodules d'autres espèces ont également été collectés (*Acacia auriculiformis*, *Gliricidia sepium*, *Acacia heterophylla*, *Albizia lebeck*, *Acacia mearnsii*, *Acacia holosericeae*), mais uniquement dans le but de disposer de souches de référence pour pouvoir par la suite évaluer la diversité génétique des souches de rhizobium des deux espèces majeures de légumineuses forestières par rapport aux rhizobiums des autres espèces présentes sur l'île. Les différents prélèvements ont été réalisés dans des stations de recherche, des pépinières et des parcelles expérimentales toutes situées sur la côte ouest de l'île (voir la carte en annexe).

Nous nous sommes tout particulièrement intéressés à la station CIRAD des Colimaçons où travaillent également nos collègues agronomes du CIRAD-CA. Dans cette station, on travaille beaucoup sur le géranium, puisque de cette plante, on en extrait une essence qui rentre dans la composition de nombreux cosmétiques. Le CIRAD-Forêt (Yves Roederer) et le CIRAD-CA (Roger Michellon) ont mis en place des essais au sein desquels ont été associés du géranium ou du maïs, différentes plantes de couverture (lotier, trèfle du Kenya, arachide, kikuyu), et des haies de *C. calothyrsus* ou de *L. diversifolia*. Des analyses de sol ont été effectuées par Roger Michellon à partir d'échantillons prélevés en différents points de la parcelle expérimentale ceci afin d'évaluer l'incidence des caractéristiques du sol sur les critères agronomiques mesurés. Nous avons fait en sorte que les récoltes de nodules soient effectuées aux mêmes endroits que les prélèvements de sol afin de relier les caractéristiques écophysologiques des souches isolées aux sols dont elles sont issues. Etant donné que plusieurs provenances de *C. calothyrsus* ont été testées, nous pourrions évaluer l'incidence de la plante-hôte sur

l'aptitude des rhizobiums indigènes à noduler. De même, nous pourrions également déterminer si les légumineuses annuelles utilisées comme plantes de couverture peuvent modifier le déterminisme génétique des rhizobiums présents dans les nodules de *C. calothyrsus* et de *L. diversifolia* (des nodules de lotier, de trèfle du Kenya, et d'arachide ont également été récoltés afin de comparer les souches de rhizobium qu'ils renferment avec celles qui seront isolées à partir des nodules des deux légumineuses forestières fourragères).

L'ensemble des récoltes de nodules sont présentés dans les tableaux I et II. Dans le tableau III, il y a les caractéristiques des sols de la station des Colimaçons où des nodules ont été prélevés.

Opérations effectuées sur les nodules récoltés.

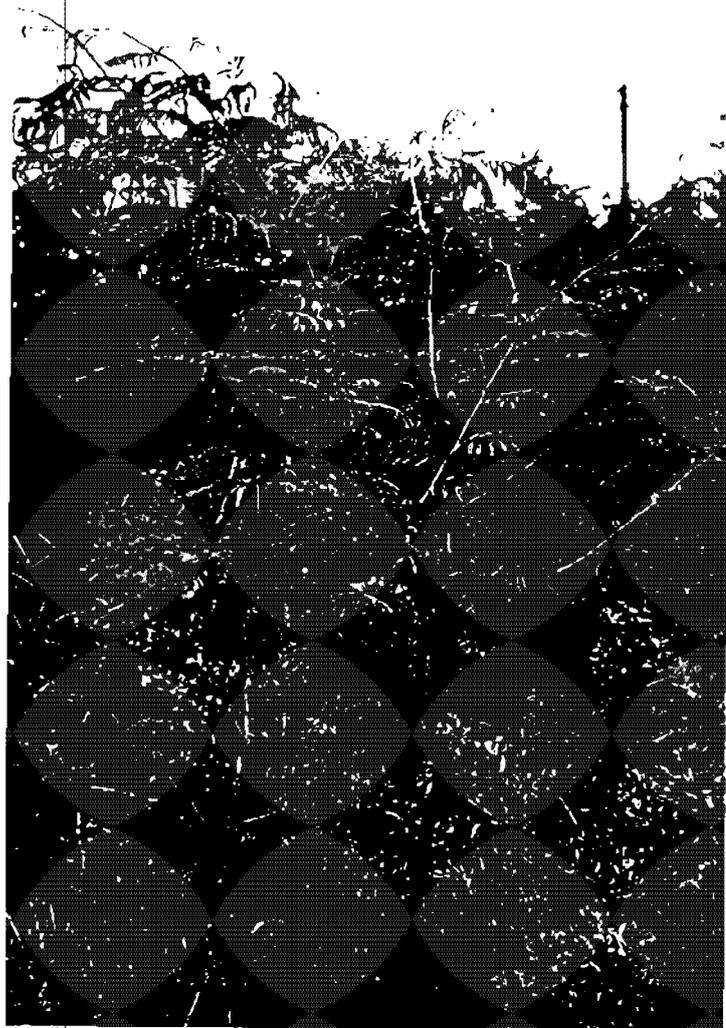
A partir de chaque lot de nodules prélevés, un certain nombre d'investigations vont être menées :

- Réisolement de la souche de rhizobium présente dans les nodules. Pour cela, on écrase les nodules dans de l'eau distillée puis on utilise ce mélange pour inoculer en serre des jeunes plantes des différentes espèces testées. Après 2 mois de culture, les plantes sont déracinées, et les jeunes nodules formées sont prélevés. Après une désinfection de surface (éthanol à 95°C pendant 10 secondes, puis 2 minutes dans HgCl₂ à 0.1%) et plusieurs rinçages dans de l'eau distillée stérile, les nodules sont écrasés dans de l'eau physiologique stérile et le tout est étalé à l'aide d'une anse de platine dans une boîte de Pétri contenant du milieu YEM (Yeast Extract Mannitol). Après plusieurs repiquages, on dispose de cultures pures de rhizobium.

- Détermination de l'infectivité et de l'effectivité des souches de rhizobium ainsi isolées. Pour cela, on inocule des jeunes germinations de chaque espèce étudiée à l'aide d'une culture pure en milieu liquide de chacune des souches de rhizobium préalablement isolées. Après plusieurs mois de culture en serre, les plantes sont récoltées afin de déterminer leur nombre et leur poids sec de nodules (infectivité), ainsi que les biomasses de parties aériennes et racinaires. Les mesures de l'activité réductrice d'acétylène (ARA) et la teneur en azote totale dans les parties aériennes seront les critères spécifiques qu'il faudra associer aux critères de croissance pour déterminer si une souche de rhizobium est efficiente ou non avec la plante-hôte en terme de fixation symbiotique de l'azote.

- Etude de l'incidence éventuelle de l'inoculation avec rhizobium sur la qualité du fourrage produit par des légumineuses forestières fourragères. La question que l'on peut se poser est celle de savoir si l'inoculation avec une souche effective de rhizobium peut uniquement améliorer la croissance de la plante, ou s'il est possible également d'enrichir le fourrage produit par la plante (plus fortes teneurs en substances

Jeune arbre (2 ans) de
Calliandra calothyrsus à
la station CIRAD des
Colimaçons.



Jeune arbre (2 ans) de
Leucaena diversifolia à
la station CIRAD des
Colimaçons.

azotées, diminution de la teneur en tanins, ...), un peu à l'image de ce qui a été démontré chez l'arachide (Howell, 1987) et chez *Faidherbia albida* (Laurence, 1991) en termes de composition minérale. Des prélèvements ont déjà été faits sur le terrain à La Réunion et au Kenya (pour ce dernier, nous avons fait en parallèle des récoltes de feuilles et de nodules), mais d'autres analyses foliaires à partir de plantes cultivées en serre sont également prévues.

Résultats obtenus à ce jour.

(uniquement sur les souches de *C. calothyrsus*)

- *Evaluation de la diversité génétique des souches de Rhizobium de C. calothyrsus isolées à La Réunion* : Pour estimer la diversité génétique de ces souches, nous avons effectué une série de tests classiquement utilisés pour ce type d'étude (pour une description détaillée voir Zhang et al., 1991). Aux vues des premiers résultats que nous avons obtenus, il semble que :

* Les 18 souches testées soient toutes des souches de *Rhizobium* car pour chacune d'entre elles, nous avons observé une acidification du milieu de culture au cours de la croissance bactérienne.

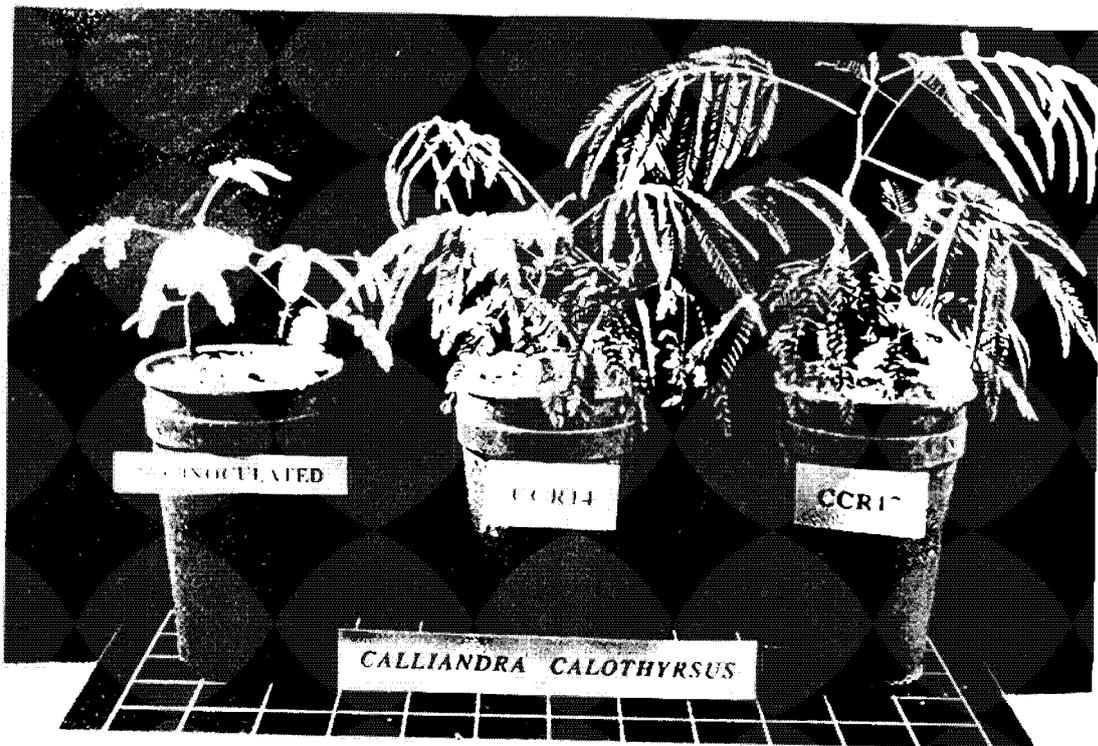
* La souche CCR3 a un profil de résistances intrinsèques aux antibiotiques très différent de celui des autres souches étudiées. En effet, elle s'avère être résistante à la Streptomycine, la Kanamycine, l'Ampicilline et la Tétracycline qui sont 4 antibiotiques très inhibiteurs pour la croissance des autres souches testées (Tab. IV).

* En ce qui concerne la tolérance de ces souches à la salinité et aux métaux lourds, aucune différence notable n'a été constatée entre les souches (Tab. V).

* En terme d'utilisation de différentes sources d'azote, la souche CCR10 est la seule souche capable d'utiliser 15 des 18 acides aminés qui ont été testés (Tab. V).

* En revanche, l'apport de différentes sources de carbone dans le milieu de culture n'a pas permis de distinguer une ou plusieurs souches puisque ces dernières ont toutes manifesté les mêmes exigences carbonées (Tab. V).

Même s'il ne s'agit que de résultats préliminaires, Les souches de *Rhizobium* isolées à partir des nodules de *C. calothyrsus* prélevés à La Réunion ne semblent pas être très différentes les unes des autres. Cependant, d'autres tests plus discriminants comme l'aptitude à noduler différentes espèces de plante-hôte, l'étude des profils électrophorétiques des protéines totales, ... devront être nécessairement réalisés afin de confirmer ou d'infirmer cette apparente absence de diversité génétique au sein de la collection de *Rhizobium* de *C. calothyrsus*.



Expérience d'inoculation de *Calliandra calothyrsus* en serre (après 3 mois): on peut voir l'effet bénéfique de l'inoculation avec les souches CCR sur la croissance des plantes par rapport au lot témoin

Jeunes nodules observés sur les racines d'une plante de *Calliandra calothyrsus* âgée de 3 mois.



- *Etude de l'infectivité et de l'effectivité des souches de Rhizobium de C. calothyrsus isolées à La Réunion* : Cette étude consiste à déterminer si la souche est capable d'infecter les racines de la plante-hôte, et de former avec elle une symbiose efficiente. Pour cela, nous avons mesuré 4 paramètres :

- * Le poids sec des parties aériennes des plantes.
- * Le poids sec des parties racinaires des plantes.
- * Le poids sec de nodules.
- * La teneur en azote total dans les parties aériennes des plantes.

A l'exception du dernier paramètre dont je n'ai pas encore les valeurs, les autres paramètres ont été mesurés sur des plantes âgées de 3 mois. Les valeurs sont présentées dans le Tableau VI.

Nous venons de voir que les souches de *Rhizobium* de *C. calothyrsus* ne semblaient pas différer fondamentalement entre elles, que ce soit en termes de tolérance à des métaux lourds ou à la salinité, de résistance intrinsèque aux antibiotiques, ou en aptitude à utiliser différents composés en tant que source de carbone ou d'azote. En revanche, en terme d'infectivité et d'effectivité, on constate que l'on a des effets "souches" très différents d'une souche à l'autre. Ce que l'on doit retenir de cette expérience, c'est que :

- * Toutes les plantes inoculées avec une souche de *Rhizobium* ont eu une croissance significativement supérieure à celle des plantes témoins. En revanche, l'effet bénéfique de l'inoculation sur la croissance des plantes inoculées avec la souche de *Bradyrhizobium* d'*Acacia mangium* Aust 13c est quasi-nulle.

- * Qu'en terme de croissance, nos résultats semblent traduire une grande diversité au sein de la collection de souches de *Rhizobium* testées puisque l'on a 20 traitements statistiquement différents.

- * L'efficacité symbiotique (croissance des plantes) des souches de *Rhizobium* originaires de La Réunion est globalement supérieure à celle des souches de collection testées (TAL 1, TAL 33, TAL 1145R, TAL 1770, TAL 1806). En revanche, en ce qui concerne les poids sec de nodules, on constate que les écarts entre souches sont moins nombreux, et que les valeurs les plus élevées sont obtenues chez les plantes inoculées avec les souches TAL 1 et TAL 33. Ce qui tend à suggérer qu'un poids sec de nodules élevé ne signifie pas obligatoirement que la symbiose étudiée est efficiente, car on sait que l'effectivité spécifique d'un nodule varie suivant l'aptitude du partenaire microbien à stimuler la croissance de la plante-hôte, en permettant surtout une forte activité fixatrice d'azote au sein des nodules.

En conclusion, la première partie de notre étude sur le comportement symbiotique des différentes souches de *Rhizobium* de *C. calothyrsus* originaires de La Réunion a montré que ces souches avaient des caractéristiques symbiotiques très différentes les unes

des autres. Certaines d'entre elles comme CCR17 et CCR20A stimulent de manière très significative la croissance de la plante-hôte (4 à 5 fois plus par rapport aux plantes témoins, Tab. VI). Il sera bien sûr nécessaire de comparer ces valeurs avec celles qui seront obtenues avec les souches originaires du Kenya et de Nouvelle-Calédonie, mais la "suprématie" des souches réunionnaises par rapport aux 2 souches de collection testées (TAL 1 et TAL 33) prouve l'intérêt de notre travail, et la nécessité d'isoler et d'identifier au laboratoire les souches de *Rhizobium* les plus efficaces afin de pouvoir les tester au champ.

Une telle diversité au niveau de l'efficacité symbiotique des souches testées est en opposition avec les conclusions auxquelles nous avons abouties au sujet de la diversité génétique *sensus-stricto* de ces souches, que ce soit en terme de tolérance à des facteurs limitants, ou en termes d'exigences nutritionnelles particulières. Même s'il ne s'agit que de résultats préliminaires, nos travaux soulignent parfaitement les risques que peuvent engendrer des études très poussées sur la biodiversité *sensus-stricto* au sein de différentes espèces de microorganismes symbiotiques sans aucune connexion avec l'aspect symbiotique, car dans ce cas, elles peuvent aboutir à des conclusions erronées.

En collaboration avec nos collègues du CIRAD-EMVT, nous avons commencé à étudier l'incidence des souches de *Rhizobium* sur la qualité du fourrage produit par *C. calothyrsus*. Des études d'inoculation menées en serre, à partir du matériel microbiologique isolé et sélectionné, sont prévues ainsi que des expérimentations sur le terrain dans les trois zones géographiques qui ont été retenues, à savoir La Réunion, le Kenya et la Nouvelle-Calédonie.

PS : En parallèle à cette étude sur les souches de *Rhizobium* de *C. calothyrsus*, des travaux similaires sont actuellement menés au laboratoire et en serre, sur les souches de *Rhizobium* de *L. diversifolia* isolées à partir de nodules également prélevés à La Réunion.

Bibliographie

Dommergues Y.R. 1989. Rapport de mission à La Réunion du 17 au 19 Décembre 1989, CIRAD/ONF, 19 pages.

Halliday J. and Somasegaran P. 1984. The rhizobium germplasm resource at NifTAL. Catalogue of strains, University of Hawaii, USA.

Howell R.K. 1987. *Rhizobium* induced mineral uptake in peanut tissues. *Journal of Plant Nutrition*, 10, 1297-1305.

Josiah S.J. and Jones N. 1992. Root trainers in seedling production : System for Tropical Forestry and Agroforestry. The World Bank/Asia Technical Department/Agriculture Division.

Laurence O. 1991. La symbiose *Faidherbia albida-Bradyrhizobium* : Interactions nutritionnelles entre les deux symbiotes. DESS de Productivité Végétale de l'Université PARIS VII, 29 pages.

Macqueen D.J. 1993. *Calliandra* series *Racemosae* : Taxonomic information, OFI seed collections, Trial design. Oxford Forestry Institute, UK.

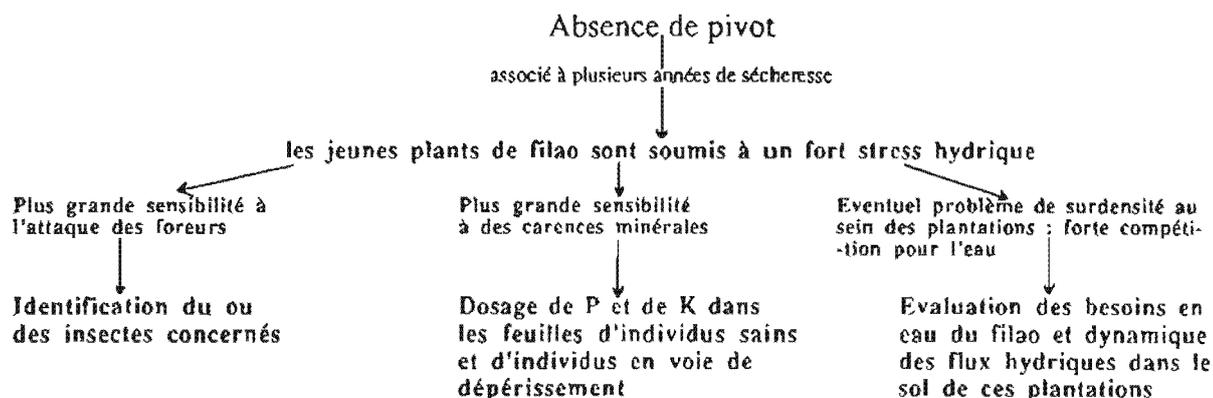
Prin Y. et Dommergues Y.R. 1990. Rapport de mission à la Réunion du 28 mai au 7 juin 1990, CIRAD/ONF/ORSTOM, 18 pages.

Yadav J.S.P. 1981. Soil limitations for successful establishment and growth of casuarina plantations. Proceedings of an International Workshop on Casuarina Ecology Management and Utilization, Eds Midgley SJ, Turnbull JW and Johnston RD, 17-21 August 1981, Canberra, Australia.

Zhang X., Harper R., Karsisto M. and Lindström K. 1991. Diversity of *Rhizobium* bacteria isolated from the root nodule of leguminous trees. *International Journal of Systematic Bacteriology*, Vol.41, n°1, 104-113.

ANNEXES

DEPERISSEMENT DU FILAO



Proposition

Mise en place d'expériences dont le but sera d'étudier les conséquences des techniques de pépinière et de l'arrosage sur la croissance et la structure du système racinaire des jeunes filao, et de déterminer les effets que cela peut avoir sur leur résistance à la sécheresse.

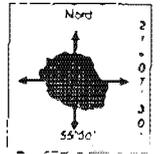
Par le biais de ces expériences, on réalisera :

- * Une approche génétique en utilisant plusieurs provenances de Filao.
- * Une approche symbiotique en étudiant les conséquences de ces modifications du système racinaire sur la nodulation des plantes.
- * Une approche physiologique en étudiant les conséquences de ces modifications du système racinaire sur la résistance des plantes à la sécheresse.
- * Une approche phytopathologique en étudiant la biologie des foreurs sur ces plantes.

Figure I : Schéma récapitulatif sur le problème du dépérissement de *Casuarina equisetifolia* à La Réunion.

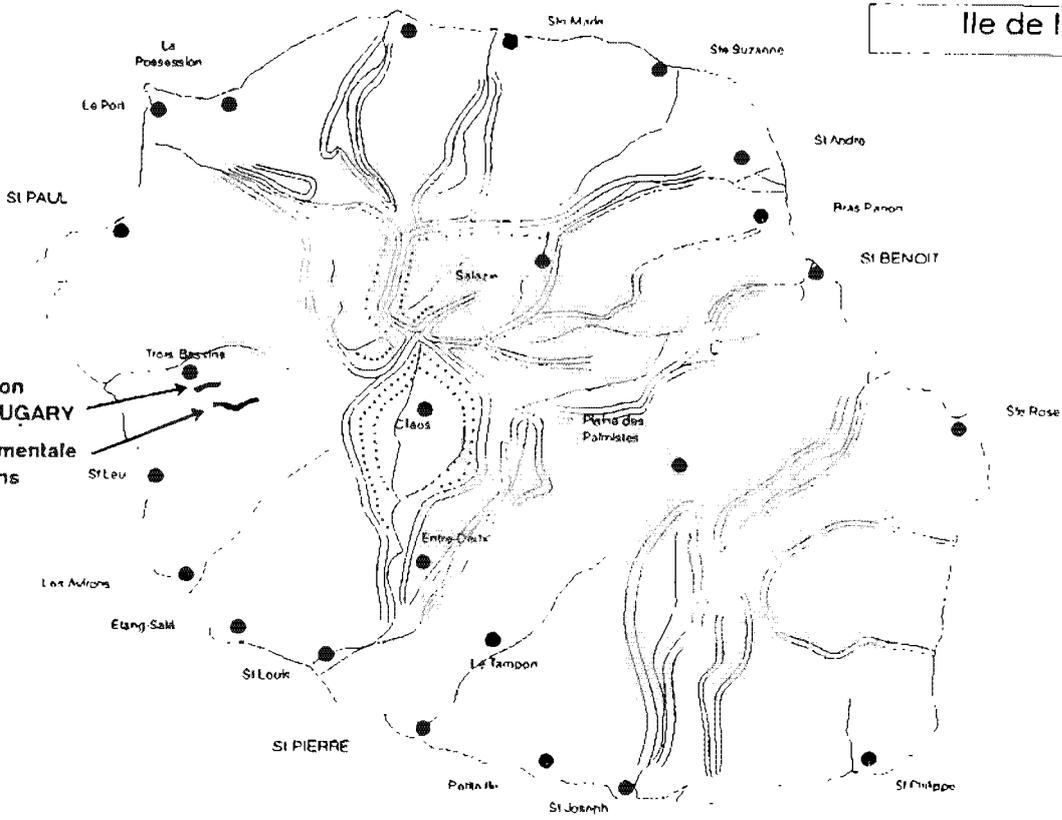
SI DENIS

Ile de la Réunion



10 km

Exploitation
de M. POUGARY
Station expérimentale
des Colimaçons



Fond de carte J.P. JACQUEMOUT-COLLIN

Situation géographique des deux principaux sites d'expérimentation agroforestière
(Station CIRAD de Colimaçons les Hauts et exploitation de M. POUGARY)

Tableau II : Origines des plantes sur lesquelles les prélèvements de nodules ont été effectués dans la station CIRAD des colimaçons (essai haies fourragères/Légumineuses de couverture/culture de géranium ou de maïs).

n° souche	Date de la mise en place	Provenances	Cultures associées
<i>Calliandra calothyrsus</i>			
CCR5	12.05.92	Piedades, Costa Rica lot n° 91/9278N,	Géranium/Arachide
CCR6	"	"	"
CCR7	"	"	"
CCR8	"	San Ramon, Costa Rica lot n° 91/9293N	Géranium/Trèfle
CCR9	"	"	"
CCR10	"	"	Géranium/Lotier
CCR11	"	Kanyosha, Burundi	Géranium/Trèfle
CCR12	"	"	Géranium/Lotier
CCR13	"	"	"
CCR14	-	-	Maïs/Kikuyu
CCR15	-	-	Maïs/Lotier
CCR16	-	-	Maïs/Desmodium
CCR17	-	Suchitepequez, Guatemala lot n° 88/8227N	Géranium/Kikuyu
CCR18	-	"	"
CCR20	-	"	Géranium/Lotier
<i>Leucaena diversifolia</i>			
LDR2	1991	Burundi puis Réunion	Maïs/Kikuyu
LDR3	"	"	Maïs/Lotier
LDR4	"	"	Maïs/Desmodium
LDR5	"	"	Géranium/Kikuyu
Légumineuses de couverture			
Trèfle	12.05.92	-	même zone que CCR9
Lotier	-	-	même zone que CCR19
Arachide	12.05.92	-	même zone que CCR5

Tableau II : Origines des plantes sur lesquelles les prélèvements de nodules ont été effectués dans la station CIRAD des colimaçons (essai haies fourragères/Légumineuses de couverture/culture de géranium ou de maïs).

n° souche	Date de la mise en place	Provenances	Cultures associées
<i>Calliandra calothyrsus</i>			
CCR5	12.05.92	Piedades, Costa Rica lot n° 91/9278N,	Géranium/Arachide
CCR6	"	"	"
CCR7	"	"	"
CCR8	"	San Ramon, Costa Rica lot n° 91/9293N	Géranium/Trèfle
CCR9	"	"	"
CCR10	"	"	Géranium/Lotier
CCR11	"	Kanyosha, Burundi	Géranium/Trèfle
CCR12	"	"	Géranium/Lotier
CCR13	"	"	"
CCR14	-	-	Maïs/Kikuyu
CCR15	-	-	Maïs/Lotier
CCR16	-	-	Maïs/Desmodium
CCR17	-	Suchitepequez, Guatemala lot n° 88/8227N	Géranium/Kikuyu
CCR18	-	"	"
CCR20	-	"	Géranium/Lotier
<i>Leucaena diversifolia</i>			
LDR2	1991	Burundi puis Réunion	Maïs/Kikuyu
LDR3	"	"	Maïs/Lotier
LDR4	"	"	Maïs/Desmodium
LDR5	"	"	Géranium/Kikuyu
Légumineuses de couverture			
Trèfle	12.05.92	-	même zone que CCR9
Lotier	-	-	même zone que CCR19
Arachide	12.05.92	-	même zone que CCR5

Tableau IV : Sensibilité des souches de rhizobium isolées à partir de nodules prélevés à La Réunion vis-à-vis de 6 antibiotiques après 5 jours de croissance sur milieu YEMA.

Plante hôte	n° souche	Antibiotiques*					
		S	C	N	K	Am	Te
<i>Calliandra calothyrsus</i>							
	CCR1	S/I	R	R	S	S	S
	CCR2A	S	R	R	S	S	S
	CCR2B	S	R	R	S	S	S
	CCR3	R	I/R	R	R	R	R
	CCR6	S/I	R	R	S	S	S
	CCR8	I/R	R	R	S	S	S
	CCR9	S/I	R	R	S	S	S
	CCR10	S	R	R	S	S	S
	CCR11	I/R	R	R	S	S	S
	CCR12	S/I	R	R	S	S	S
	CCR13	I	R	R	S	S	S
	CCR14	S	R	R	S	S	S
	CCR17	I	R	R	S	S	S
	CCR18	S	I/R	R	S/I	R	S
	CCR20A	S/I	I/R	R	S	S	S
	CCR20B	I	R	R	S	S	S
	TAL 1	S	I/R	R	S	S	S
	TAL 33	S	R	R	S	S	S
<i>Leucaena diversifolia</i>							
	LDR1	S	R	R	S	S	S
	LDR2	I	I	R	R	S	S
	LDR3A	R	R	R	I/R	R	S
	LDR3B	R	R	R	R	I	S
	LDR4	S	S/I	R	R	-	-
	LDR5	-	-	-	-	-	-
<i>Acacia auriculiformis</i>							
	AAR2	R	R	R	S	S/I	I
	AAR3	R	R	R	I/R	I	R
	AAR4	R	R	R	S	R	R
	AAR5	R	R	R	R	I	I/R
	AAR6	S	R	R	R	R	S
	AAR8	S	R	R	S	S/I	R
<i>Gliricidia sepium</i>							
	GSR1	I	R	R	S	S	S
	TAL 1770	S	R	R	S	S	S
	TAL 1806	S	R	R	S	S	S
<i>Albizia lebeck</i>							
	ALR1	R	R	R	S	R	R

* Streptomycine (S) 10 µg; Chloramphénicol (C) 30 µg; Néomycine (N) 30 µg; Kanamycine (K) 30 µg; Ampicilline (Am) 10 µg; Tétracycline (Te) 30 µg

Tableau V : Résultats des tests biochimiques et métaboliques effectués sur les différentes souches de *Rhizobium* isolées à partir de nodules de *Calliandra calothyrsus* prélevés à La Réunion.

Caractéristiques	Souches de rhizobium																			
	CCR																	TAL		
	1	2A	2B	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	17	18	20A	20B	1	33 Tr ⁽⁹⁾
Urée ⁽³⁾	(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
KNO ₃ ⁽⁴⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl (%) ⁽⁵⁾																				
0	+ ⁽¹⁾	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Métaux lourds ⁽⁶⁾																				
Cu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cd	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ni	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/- ⁽²⁾	-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-
Zn	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ba	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mn	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pb	+	+/-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Al	+/-	-	-	-	+/-	+/-	-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	+/-	+/-	-	-
Hg	+/-	-	-	-	+/-	+/-	-	-	-	-	+	-	-	+/-	+/-	-	-	-	+/-	-
Sources d'azote ⁽⁷⁾																				
DL-Phénylalanine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Isoleucine	-	+	-	+	-	-	-	+/-	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	+
Glycine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-Valine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-Cystéine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-Thréonine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-Leucine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-Serine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-Alanine	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
DL-Méthionine	-	-	-	+/-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-Lysine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-Histidine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
DL-Tryptophane	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-(+)-Asparagine	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DL-Tyrosine	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Glutamine	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Arginine	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Proline	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sources de carbone ⁽⁸⁾																				
Mannitol	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dextrine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Arabinose	-	+/-	-	+	-	+/-	-	+	+/-	-	+/-	+	-	+/-	+/-	+	+	+	+	+
Citrate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glucose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Suite du Tableau V

Caractéristiques	CCR																		TAL		
	1	2A	2B	3	4	6	7	8	9	10	11	12	13	14	17	18	20A	20B	1	33	Tr
Mannose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Myo-inositol	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Acétate de Na	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P.E.G.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycérol	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ribose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Saccharose	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Riboflavine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(1) + signifie que la souche pousse sur le type de milieu de culture testé, et l'invers lorsque l'on a -. Cependant, dans le cas de l'étude sur l'aptitude des souches testées à utiliser différentes sources de carbone et d'azote, nous avons constaté que sur les boîtes de Pétri contenant du milieu sans carbone ou du milieu sans azote, les bactéries étaient capables de croître. Le symbole "+" signifie dans ce cas que la croissance observée dans les différents milieux testés apparaissait visuellement plus importante que celle présente dans les boîtes témoins.

(2) +/- signifie que sur les 5 répétitions qui ont été effectuées pour chaque condition, les bactéries ont poussé sur 2 ou 3 d'entre elles.

(3) Test d'hydrolyse de l'urée.

(4) Croissance en présence de 8% de KNO_3 .

(5) Tolérance au NaCl.

(6) Résistance intrinsèque aux métaux lourds : $ZnCl_2$, 100 $\mu g/ml$; $Pb(NO_3)_2$, 500 $\mu g/ml$; $BaCl_2 \cdot 2H_2O$, 100 $\mu g/ml$; $MnSO_4 \cdot H_2O$, 100 $\mu g/ml$; $NiCl_2 \cdot 6H_2O$, 100 $\mu g/ml$.

(7) Utilisation des acides aminés comme seule source d'azote dans le milieu de culture : pour chaque acide aminé, la concentration finale est de 10mM.

(8) Utilisation de différentes sources de carbone dans le milieu de culture : pour chaque source de carbone testée, la concentration finale est de 0,2%.

(9) Souche de *Rhizobium* isolée à partir de nodules de Trèfle du Kenya prélevés dans la station CIRAD des Colimaçons

Tableau VI: Caractéristiques symbiotiques des différentes souches de *Rhizobium* de *Calliandra calothyrsus* isolées à la Réunion

n° des souches	Poids sec de tiges et de feuilles (g/plante)	Poids sec de racines (g/plante)	Poids sec de nodules (mg/plante)	Azote total ⁽¹⁾ (feuilles et tiges) (g/plante)
Témoin	0,113a	0,110b	0a	-
CCR1	0,392l	0,212m	21,0d	-
CCR2A	0,383h	0,199l	27,0j	-
CCR2B	0,309e	0,179f	25,2h	-
CCR3	0,264c	0,148d	19,1b	-
CCR4	0,427n	0,206m	25,6l	-
CCR6	0,407k	0,240s	25,6ij	-
CCR8	0,307d	0,162e	21,2de	-
CCR9	0,453o	0,235r	27,1k	-
CCR10	0,462p	0,185gh	20,2c	-
CCR11	0,421m	0,214n	24,9h	-
CCR12	0,420l	0,192l	27,3n	-
CCR13	0,486q	0,222p	23,6g	-
CCR14	0,427no	0,227q	28,1n	-
CCR17	0,53s	0,248st	23,7gh	-
CCR18	0,403j	0,172e	22,4e	-
CCR20A	0,500r	0,257t	27,2m	-
CCR20B	0,418l	0,195j	27,2l	-
TAL 1	0,282c	0,177f	37,5no	-
TAL 33	0,363g	0,183g	39,5o	-
TAL 1145R	0,341f	0,191h	18,1b	-
TAL 1770	0,330f	0,197k	19,3bc	-
TAL 1806	0,413k	0,218o	23,1f	-
Aust.13c ⁽²⁾	0,142b	0,102a	0a	-

(1) Ce paramètre est en cours de détermination

(2) Contrairement aux autres souches testées, il s'agit d'une souche de *Bradyrhizobium*.

Pour chaque colonne, les moyennes qui sont suivies par la même lettre ne diffèrent pas significativement entre elles (test de Newman-Keuls, $P \pm 0,05$), les moyennes écrites en gras étant les plus élevées de la colonne.