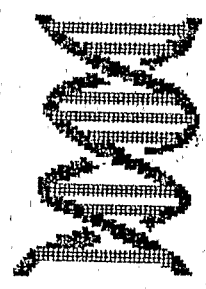
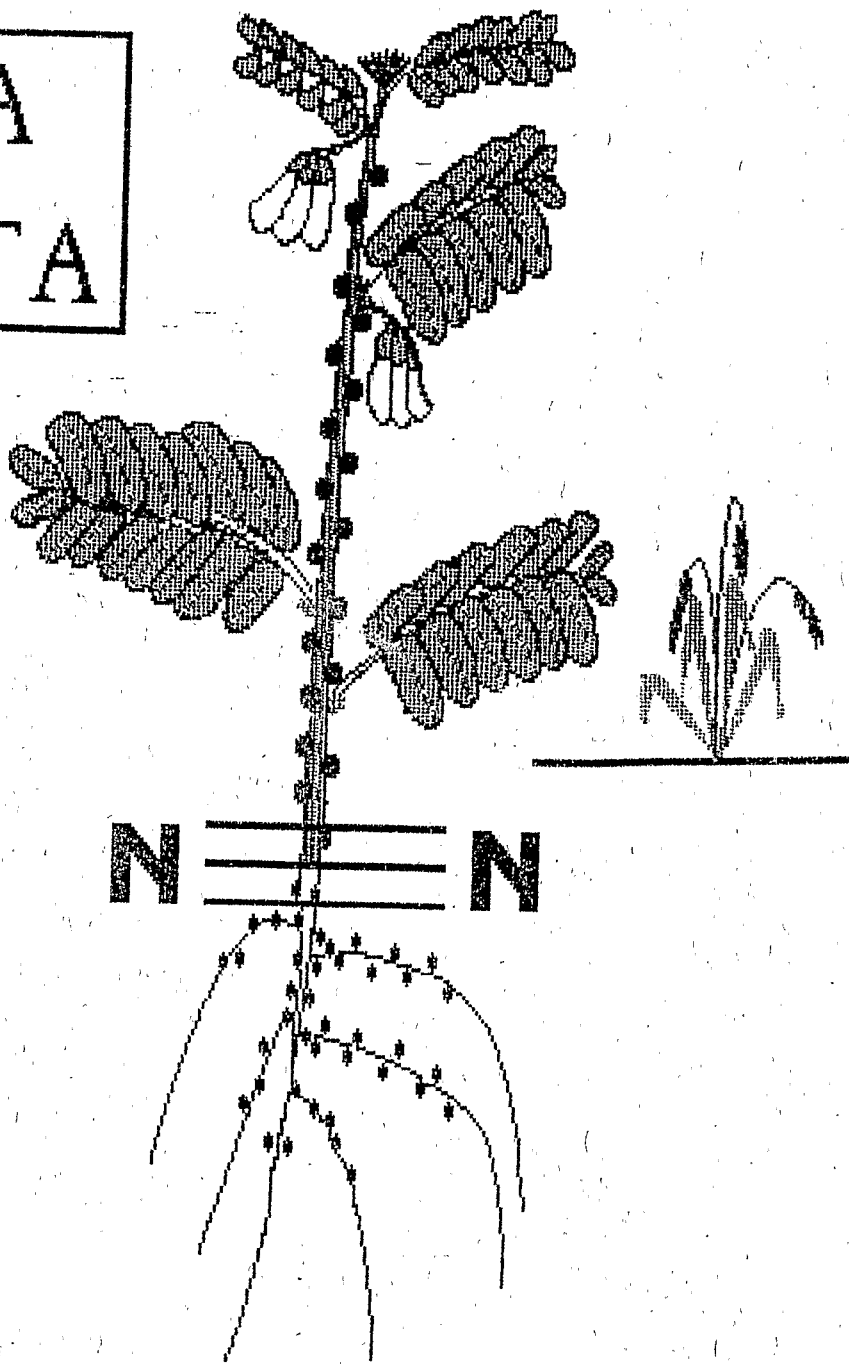


SESBANIA ROSTRATA

C
T
A

I
S
R
A

L
G
G
O
R
S
T
O
M



N E E N

RECHERCHES FONDAMENTALES ET APPLICATIONS A L'AGRICULTURE
FUNDAMENTAL RESEARCH AND AGRICULTURAL APPLICATIONS

5-8 JANVIER 1988 - DAKAR - SENEGAL

ORSTOM Fonds Documentaire
N° : 30.918 ep1
08 NOV. 1990

LISTE DES PARTICIPANTS

EUROPE

- T. BISSELING (HOLLANDE) Agricultural University, Dept. of
Molecular Biology, Transitorium
De Dreijen II. BC, WAGENINGEN
Tél. . 8370 82640
- F. DE BRUIJN (REPUBLIQUE FED. ALLEMAGNE) Max Plank Institut Fur
Zuchtforschung D5000 KOLN 30,
Tél. : 02 21 50 62 1
- S. DANSO (AUSTRIA) Joint FAO/IAEA Division Wagramstrasse
5, P.O. Box 100, A-1400 VIENNA.
Tel : (222) 2360-0,
Télex : 1-12645
- M. DARTHENUCQ (BELGIQUE) Commission des Communautés Européennes
DG 12, Rue de la Loi 200 B 1049, BRUXELLES
Tél. : 235 11 11
Télex : COMEU B 21827
- R. DELLERE (HOLLANDE) Centre Technique de Coopération Agricole
et Rurale, BP.380 - 6700 AJ WAGENINGEN
Tél. : 83 80 20 484
Télex : 30169
- J. DENARIE (FRANCE) INRA-CNRS, Laboratoire de Biologie
Moléculaire, BP.27 - 31326 CASTANET-TOLOSAN
Tél. : 61 28 50 28
- N. DESNOUES (FRANCE) Institut Pasteur, 28, rue du Dr. ROUX,
75015 PARIS.
TÉL. : (1) 45 68 80 00 poste 7655
- Y. DOMMARGUES (FRANCE) BSSFT (CTFT-ORSTOM) - 45 bis avenue de la
Belle Gabrielle
94736 NOGENT-sur-MARNE Cédex
Tél. : (1) 48 73 32 95 poste 306
Télex CETEFO 211085 F

- C. ELMERICH (FRANCE) Unité de Physiologie Cellulaire,
Institut Pasteur 28, rue du Dr. Roux,
75724 PARIS Cedex 15,
Tél. : (1) 45 68 88 17
Télex : Pasteur 250 609 F
- M. GILLIS (BELGIQUE) Faculteit Der Wetenschappen, Laboratorium
voor Microbiologie en microbiele
genetica - K.L. Ledeganckstraat 35 B 9000 GENT
Tél. : 22 78 21
- U. HOLSTERS (BELGIQUE) Rijksuniversiteit Gent. Laboratorium
Genetika, Ledeganckstraat 35 B 9000 GAND.
Tel. : 22 78 21
- U. HILGERT (REP. FED. ALLEMAGNE) Max Plank Institut Fur
Zuchtforschung D5000 KOLN 30,
Tél. : 02 21 50 62 1
- M. IACCARINO (ITALIE) Istituto Internazionale di Genetica
e Biofisica, via Marconi 10 - 80125
NAPOLI
Tél. : (081) 61 92 24
Téléfax : (081) 636 123
- J.C.G. OTTOW (REP. FED. ALLEMAGNE) Institut fur Mikrobiologie und
Landeskultur. Justus - Liebig - Universitat.
Senckenbergstrasse 3 D 6300, GIESSEN
- P. RATET (REP. FED. ALLEMAGNE) Max Plank Institut Fur
Zuchtforschung D5000 KOLN 30,
Tél. : 02 21 50 62 1
- J. RIGAUD (FRANCE) Laboratoire de Biologie Végétale; Faculté
des Sciences, 06034 NICE CEDEX
Tél. : (93) 52 99 38
- G. RINAUDO (FRANCE) ORSTOM - 213, rue la Fayette, 75480 PARIS
CEDEX 10
Tél. (1) 48.03.77.77
Télex : 214 627 F
- M. SAGNE (FRANCE) Université des Sciences et Techniques du
Languedoc. Place E. Bataillon -
34060 MONTPELLIER CEDEX.
Tél. : (67) 63 91 44 poste 536
- A. SASSON (FRANCE) UNESCO - CEU/CAB Unesco, 7, Place
de Fontenoy 75700 PARIS.
Tél. (1) 45 68 12 41 poste 42/43

G. VAN DEN EEDE (BELGIQUE) Rijksuniversiteit Gent, Laboratorium
Genetika, Ledeganckstraat 35, B 9000 GAND
Tél. : (32) - (91) 20 01 95

M. VAN MONTAGU (BELGIQUE) Rijksuniversiteit Gent, Laboratorium
Genetika, Ledeganckstraat 35, B 9000, GAND
Tél. : (32) - (91) 20 01 95
Télex : 11995 GENGEN

AMERIQUE

- N. CHUA (U.S.A) The Rockefeller University Laboratory of
Plant Molecular Biology, 1230
York Avenue,
NEW YORK, 10021-6399
Tél. : (212) 570-8126
Télex : 710 581 4146
- B. LUDWIG (U.S.A) University of California, Dept.of Molecular
Biology, Massachusetts General Hospital,
BOSTON, MA - 02114
Tél. : 1 - 617 - 726 - 5946
- H. TRINH (U.S.A) The Rockefeller University, Laboratory of plant
Molecular Biology 1230 York Avenue,
NEW-YORK 10021-6399.
Tél. : (212) 570-8126
Télex : 710 581 4146

AFRIQUE

AFRIQUE DU NORD

A. EL BASSEL (EGYPTE) Faculté d'Agriculture FAYOUM Cairo
University, FAYOUM.
Tél. : 3479762
Télex : 92768 ORSCM UN

AFRIQUE ANGLOPHONE

K. MULONGOY (NIGERIA) Microbiologist IITA, Oyo Road PMB,
5320 IBADAN
Tél. : 400 300
Télex : DTS IBA NG 20311 (Box 015)

K.O. AWONAIKE (NIGERIA) University of Ife, Institute of
Agricultural Research and Training,
Moor Plantation, P.M.B. 5029 IBADAN
Tél. : 41 28 61

M. SALEMA (TANZANIE) Sokoine University, Dpt. of Pedology
BP. 3008, CHUO KIKUU

AFRIQUE FRANCOPHONE

A. MOUDIONGUI (CONGO) Université Claude Bernard Lyon I,
Ecologie Microbienne Bât. 405
69622 VILLEURBANNE, France

J. PANDZOU (CONGO) Centre de Recherches Agronomiques,
BP. 28, LOUDIMA
Tél. : 91 51 03

M. B. OSSENI (COTE D'IVOIRE) IRFA/CIRAD, BP. 1740
ABIDJAN 01
Tél. : 32 13 09

Ph. VERNIER (COTE D'IVOIRE) IDESSA BP. 635, BOUAKE

T.H. BAH (GUINEE) Direction Préfectorale de l'Agriculture
LABE
Tél. : 51 02 70

M. LAHBIB (MALI) Ecole Normale Supérieure, BP. 241, BAMAKO
Tél. : 22 21 89

K. TOMEKPE (TOGO) Ecole Supérieure d'Agronomie BP. 1515
LOME

N. SANGINGA (ZAIRE) IAEA/FAO, Wagramerstrasse 5, PO.Box 200,
A. 1400 VIENNE (AUTRICHE)
Tél. : (222) 2360 0
Télex. : 1-12645

AFRIQUE LUSOPHONE

M. Jacinto RODRIGUES-DIAS (GUINEE BISSAU) DEPA CENEMAC MDRP
CP : 71, BISSAU
Tél. : 21 44 38

MADAGASCAR

M. Roland FETIARISON, (MADAGASCAR) Laboratoire Pédologie FOFIFA
BP. 144
101, ANTANANARIVO

Mme Lala RAKOTOVAO (MADAGASCAR) Ministère de la Recherche
Scientifique et Technologique pour le
Développement, DARSE, BP. 4258.
101, ANTANANARIVO.
Tél. : 217 06
Télex : 22539 MRSTD / MG

R. RABEZANDRINA, (MADAGASCAR) F.I.S. Département d'Agriculture
Etablissement Sup. des Sciences Agronomiques
B.P 175 ANTANANARIVO.
Tél. : 217 06
Télex : 22539 MRSTD/MG

ASIE

Mme YAO HUI QUING (REP. de CHINE) Institute of Soil Science
Academia Sinica, P.O. Box n. 821
NANKING

O.P. MEELU (INDE) Punjab Agricultural University, LUDHIANA 141004
Tél. : 22960 poste 317

B.M.S. BASNET (NEPAL) Department of Agriculture
c/o P.P. Gorkhaly, Director General
Harihar Bhawan, Pulchowk, LALITPUR
Tél. : 5-21356

J.K. LADHA (PHILIPPINES) IRRI, P.O. Box 933, MANILA
Tél. : 88 48 69
Télex : (ITT) 45365 RICE INST PM

S.A. KULASOORIYA (SRI LANKA) University of Peradeniya / The Hebrew
University of Jerusalem, Dept. of Biochemistry
the Weizmann Institute.
REHOVOT 76100 ISRAEL.
Télex : 381300 WIX IL

M. RAHMAN (BANGLADESH) DACCA University Microbiology Department
Télex : 65642 DORMET BJ

Mme I.M. SAMARAKOON (SRI LANKA) Institute of Fundamental Studies
Hantana Road KANDY
Tél. : (08) 32002
Télex : 21700 IFS CE

Mme S. ARUNIN (THAILANDE) Department of Land Development, Pahon
Yotin Road, Bangkok, BANGKOK 10900.
Télex : 5795546

INVITES OFFICIELS

Moctar TOURE Directeur Général de l'ISRA DAKAR
Ph. TENNESON Directeur Général de l'ORSTOM PARIS
I. NDOYE Ministère du Plan et de la Coopération
 Direction de la Recherche Scientifique DAKAR
Henri DIARRA ADRAO BP. 96, SAINT-LOUIS
F. GANRY CNRA, BAMBEY.

PARTICIPANTS LOCAUX

Mme Aminata BADIANE CNRA BAMBEY
Mme M. M. BARRETO Faculté des Sciences DAKAR
M. Mamadou GUEYE ISRA BAMBEY
Mme Fatou GUEYE Faculté des Sciences DAKAR
M. Matengue DIACK ISRA DJIBELOR
M. Mabèye SYLLA ISRA DJIBELOR

PARTICIPANTS ORSTOM

B. DALMAYRAC Représentant de l'ORSTOM au Sénégal
D. ALAZARD
G. BESANCON
J.P. COLONNA
P. DE LAJUDIE
B. DREYFUS
Y. GILLON
J.M. LEBLANC
A. PARISELLE

JOURNALISTES

C. ALLAIS : La Recherche
V. TARDIEU : Libération
C. NOUAILLES : Biofutur
P. COLLEN : A.F.P. DAKAR

PROGRESS IN PLANT GENETIC ENGINEERING.

M. VAN MONTAGU

Laboratorium voor Genetica, Rijksuniversiteit Gent &
Plant Genetic Systems N.V.
B-9000 Gent (Belgium)

Plant genetic engineering started with the discovery of the Ti plasmids of Agrobacterium and with their development into efficient and reliable gene vectors. These plasmids can mediate the specific transfer and integration of the constructed DNA segment into the DNA of a large variety of plants. For many species it is possible to regenerate a transformed plant cell into a normal and fertile plant. The newly inserted DNA is then inherited in a Mendelian fashion. To follow and analyze this gene transfer appropriate marker genes had to be constructed. Such markers were obtained as hybrid or chimeric genes by linking plant regulatory sequences to bacterial (or mammalian) coding sequences. These chimeric marker genes allowed the direct selection of the transformed cells as well as the identification of the molecular signals determining the tissue or organelle specificity of gene expression in plants. This work showed that it was possible to stably introduce one of several new genes into plants and hence to construct plants engineered for new traits.

It rapidly became clear that the limiting factor was the inavailability of genes which could confer the phenotypes identified by the plant breeders. Insufficient research activity in plant molecular biology still limits the progress in gene isolation. We are however convinced that the many demonstrations of the efficiency with which transgenic plants can now be constructed will stimulate enough this fundamental research to overcome this barrier. The continuous improvement of the technologies, as exemplified by the development of microsequence methods, confirms our optimism (Bauw *et al.*, 1987).

Meanwhile it was already possible to construct a series of plants with economically valuable traits, such as insect resistance, herbicide resistance, or increased nutritional value.

One of the first commercially important results has been the construction of a tobacco plant synthesizing its own insecticide. This was obtained by introduction of the gene for the Bacillus thuringiensis 130 K protein and its expression in an adult plant at a high enough level to protect the plant against the larvae of Lepidoptera (48fte *et al.*, 1986; Vaeck *et al.*, 1987).

Obtaining herbicide-resistant plants was another important goal. Several laboratories reported the construction of herbicide-tolerant plants. We engineered an enzyme in plants which modifies the herbicide into an inactive form. In this way, we obtained tobacco, tomato, and potato plants completely resistant to the total herbicide phosphinotricin (Basta[®], Hoechst) (De Block *et al.*, 1987) and phosphinotricilalanilalanine (Biolaphos[®] Meiji). This work shows that it would be possible to replace the more toxic herbicides by those which are safer for the environment.

Storage proteins containing an increased methionine content have been identified (Ampe et al., 1986) or constructed and we hope that leguminous plants, like black beans or soybeans, with increased nutritional value will be available in the near future.

Very promising results have been obtained with the engineering of gene-transfer which confirms virus resistance and already other constructions seem feasible in the very near future

References

- Ampe, C., Van Damme, J., De Castro, L., Sampaio, M., Van Montagu, M., and Vandekerckhove, J. (1986). The amino acid sequence of the 2S sulphur-rich proteins from seeds of Brazil nut (Bertholletia excelsa HBK). Eur. J. Biochem. 159, 597-604.
- Bauw, G., De Loose, M., Inzé, D., Van Montagu, M., and Vandekerckhove, J. (1987). Alterations in the phenotype of plant cells studied by NH₂-terminal amino acid sequence analysis of proteins electroblotted from two-dimensional gel-separated total extracts. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 4806-4810.
- Höfte, H., De Greve, H., Seurinck, J., Jansens, S., Mahillon, J., Ampe, C., Vandekerckhove, J., Vanderburggen, H., Van Montagu, M., Zabeau, M., and Vaëck, M., (1986). Structural and functional analysis of a cloned crystal protein of Bacillus thuringiensis berliner 1715. Eur. J. Biochem. 161, 273-280.
- Vaëck, M., Reynaerts, A., Höfte, H., Jansens, S., De Beukeleer, M., Dean, C., Zabeau, M., Van Montagu, M., and Leemans, J. (1987). Insect resistance in transgenic plants expressing modified Bacillus thuringiensis toxin genes. Nature (London) 328, 33-37.

CTA - ISRA - LGG - ORSTOM

SESBANIA ROSTRATA

RECHERCHES FONDAMENTALES
ET
APPLICATIONS A L'AGRICULTURE

FUNDAMENTAL RESEARCH
AND
AGRICULTURAL APPLICATIONS

RESUMES / ABSTRACTS

DAKAR: ORSTOM, Décembre 1987

ORSTOM Fonds Documentaire

N° :

Cote :

COMMANDITAIRES/SPONSORS

ont contribué à la tenue de ce Colloque,
par leur généreux soutien financier:

This colloque is made possible through
the generous support of the following:

Centre technique de Coopération Agricole et Rurale (CTA)

Ministère Français des Affaires Etrangères

Ministère Français de la Coopération

Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement
en Coopération (ORSTOM)

Laboratorium voor Genetica, Gent

Fondation Internationale pour la Science (FIS)

International Society for Plant Molecular Biology

Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA)

SESSION 1
MOLECULAR GENETICS
OF AZORHIZOBIUM

REMERCIEMENTS/AKNOWLEDGEMENTS

ont gracieusement fourni temps et énergie à l'organisation de ce Colloque. Nous leur en sommes infiniment reconnaissants.

We are extremely grateful to the following individuals who have devoted time and energy to undertake various responsibilities in the preparation of this event:

Air Afrique
Air France
Didier ALAZARD
Amadou BA
Mr. BETH
Amy CISSE
Jean-Paul COLONNA
Philippe DE LAJUDIE
Baidy LY
Pap NDIAYE
Saer NDIAYE
Mme. NIVON
Antoine PARISELLE
Mme. ROYNARD
Amadou SENE
Doudou SO
Pierre T. SOUSSOU
Fatou TOURE

et tous ceux que l'on a pu oublier.

and all others whom we may have omitted

PROGRAMME / PROGRAM

Lundi 4 Janvier / Monday, January 4

2.00 - 9.00 pm Accueil des participants /
Welcome and Reception
7.30 pm Cocktail d'ouverture / Opening cocktail

Mardi 5 janvier / Tuesday, January 5

9.00 am ** SESSION D'OUVERTURE / OPENING SESSION

Allocutions : * Monsieur le Ministre du Développement Rural
* Monsieur le Directeur Général de l'ISRA
* Monsieur le Directeur Général de l'ORSTOM
* Monsieur le Directeur du CTA
* Monsieur le Directeur du laboratoire de
Génétique de l'Université de Gand

9.30 am ** SESSION 1 : MOLECULAR GENETICS OF AZORHIZOBIUM

Président / Chair : M. VAN MONTAGU, RIJKSUNIVERSITEIT, GENT, BELGIUM.

9.30 - 9.40 am Chairman's Remarks
9.40 - 10.10 am B. DREYFUS, ORSTOM, DAKAR, SENEGAL:
The Sesbania rostrata-Azorhizobium
symbiosis.
10.10 - 10.40 am M. GILLIS, RIJKSUNIVERSITEIT, GENT,
BELGIUM: Phenotypic and genotypic
studies on tropical rhizobia
leading to the characterization of
Azorhizobium caulinodans.
10.40 - 11.00 am Pause café / Coffee break.
11.00 - 11.30 am J. DENARIE, INRA, FRANCE: Rhizobium
meliloti genes controlling symbiotic
properties.
11.30 - 12.00 am C. ELMERICH, INSTITUT PASTEUR,
PARIS, FRANCE: Identification of
Nitrogen Fixation Genes in Azorhi-
zobium caulinodans ORS 571.
12.00 - 12.30 am M. HOLSTERS, RIJKSUNIVERSITEIT,
GENT, BELGIUM: Nodulation genes of
Azorhizobium caulinodans ORS 571.

2.20 pm * SESSION 2 : REGULATION OF N₂-FIXATION

Président / Chair : C. ELMERICH, INSTITUT PASTEUR,
PARIS, FRANCE.

2.20 - 2.30 pm Chairman's Remarks
2.30 - 3.00 pm M. IACCARINO, IIGB, NAPLES, ITALIA:
Regulation of Nitrogen metabolism

- 3.00 - 3.30 pm in Rhizobium leguminosarum.
R. A. LUDWIG, UNIVERSITY OF CALIFORNIA, SANTA CRUZ, USA: Regulation of Azorhizobium ORS 571 N₂-Fixation.
- 3.30 - 4.00 pm F. DE BRUIJN, MAX PLANCK-INSTITUT, KOLN, RFA: Molecular Genetics of N₂-Fixation by Azorhizobium caulinodans ORS 571 in the free-living state and in nodules induced on Sesbania rostrata.
- 4.00 - 4.30 pm Pause café / Coffee break.
- 4.30 - 5.00 pm J. RIGAUD, UNIVERSITE DE NICE, FRANCE: Oxygen Protection and Oxygen Requirement for C₂H₂ reduction by Sesbania nodules and bacteroids.
- 5.00 - 6.00 pm Discussions of Sessions 1 and 2.

Mercredi 6 janvier / Wednesday, January 6

9.30 am ** SESSION 3 : MOLECULAR GENETICS OF SESBANIA ROSTRATA

Président / Chair : F. DE BRUIJN, MAX PLANCK-INSTITUT, KOLN, RFA

- 9.00 - 9.10 am Chairman's Remarks.
- 9.10 - 10.00 am T. BISSELING, WAGENINGEN AGRICULTURAL UNIVERSITY, THE NETHERLANDS: Nodulins involved in early stages of Legumes-Rhizobium interactions.
- 10.00 - 10.20 am P. DE LAJUDIE, ORSTOM, DAKAR, SENEGAL: Nodulins in Sesbania rostrata.
- 10.20 - 10.40 am Pause café / Coffee break.
- 10.40 - 12.00 am Discussions / Poster session

2.00 pm ** SESSION 4 : TISSUE CULTURE AND PLANT REGENERATION

Président / Chair : NAM-HAI CHUA, ROCKEFELLER UNIVERSITY, NEW-YORK, USA.

- 2.00 - 2.10 pm Chairman's Remarks.
- 2.10 - 2.40 pm TRINH HANH, ROCKEFELLER UNIVERSITY, NEW YORK, USA: Sesbania tissue culture: plant regeneration and formation of nodule-like structures in vitro.
- 2.40 - 3.00 pm M. SAGNE, UNIVERSITE DU LANGUEDOC, MONTPELLIER: La culture in vitro de Sesbania rostrata : multiplication,

- organogenèse, et isolement des protoplastes.
- 3.05 - 3.20 pm M.M. BARETTO, FACULTE DES SCIENCES DE DAKAR, SENEGAL: Plasticité morphogénique des sites de nodulation de tige chez Sesbania rostrata.
- 3.20 - 3.40 pm A. MOUDIOUNGUI, UNIVERSITE DE LYON I FRANCE: Etude structurale de nodules caulinaires de Sesbania rostrata induits en présence d'Azote combiné.
- 3.40 - 4.00 pm Discussions.
- 4.00 - 4.20 pm Pause café / Coffee break

4.20 pm ** SESSION 5 : AGRICULTURAL APPLICATIONS

Président / Chair : MOKTAR TOURE, DIRECTEUR GENERAL ISRA, SENEGAL.

- 4.20 - 4.30 pm Chairman's Remarks.
- 4.30 - 5.00 pm Y. DOMMERGUES, ORSTOM/CTFT, NOGENT, FRANCE: Avenir des Légumineuses à nodules caulinaires en agronomie tropicale.
- 5.00 - 5.30 pm J.K. LADHA, IRRI, PHILIPPINES: Sesbania rostrata as green manure for lowland rice: N₂ fixation, Rhizobium inoculation and survival, rice growth and N balance studies.
- 5.30 - 6.00 pm G. RINAUDO, ORSTOM, UNIVERSITE DE LYON I, FRANCE: Fixation d'azote par les légumineuses à nodules de tige: approche écologique et utilisation comme engrais vert.

Jeudi 7 Janvier / Thursday, Janvier 7

8.30 am ** SESSION 5 (suite) : AGRICULTURAL APPLICATIONS

Président / Chair : J.K. LADHA, IRRI, PHILLIPINES

- 8.30 - 8.40 pm Chairman's Remarks.
- 8.40 - 8.55 pm YAO HUI QIN, ACADEMIA SINICA, NANJING, CHINA: Sesbania rostrata as green manure for amelioration of salt-affected soils.
- 8.55 - 9.10 am S.A. KULASOORIYA, UNIVERSITY OF PERADEYANA, SRI LANKA: Growth and nitrogen fixation in Sesbania rostrata under flooded and non-flooded conditions.
- 9.10 - 9.25 am B.M.S. BASNET, DEPT. OF AGRICULTURE, LATITPUR, NEPAL: Sesbania rostrata, a source of nitrogen farming in Nepal.

- malgache.
- 3.00 - 3.15 pm A. PARISELLE, ORSTOM, DAKAR, SENE-
GAL: Rôle nématocide du Sesbania
rostrata.
- 3.15 - 3.30 pm K. MULONGOY, IITA, IBADAN, NIGERIA:
Use of Sesbania rostrata in alley
cropping systems.
- 3.30 - 3.45 pm N. SANGINGA, JOINT FAO/IAEA PRO-
GRAM, VIENNA, AUSTRIA: Nodula-
tion pattern and cross-inoculation
of Sesbania rostrata with some
nitrogen-fixing trees in Nigeria.
- 3.45 - 4.00 pm , Pause café / Coffee break
- 4.00 - 6.00 pm **GENERAL DISCUSSIONS, RECOMMANDATIONS**
- Présidents / Chairs : * Y. DOMMERGUES, CNRS-ORSTOM,
NOGENT, FRANCE
* M. VAN MONTAGU, RIJKSUNI-
VERSITEIT, GENT, BELGIUM.

8.00 pm ** CONGRESS BANQUET

Vendredi 8 Janvier / Friday, January 8

8.30 am ** SESSION 6 : PROGRESS IN PLANT ENGINEERING.

Président / Chair : M. HOLSTERS, RIJKSUNIVERSI-
TEIT, GENT, BELGIUM

- 8.30 - 8.40 am Chairman's Remarks
- 8.40 - 9.30 am M. VAN MONTAGU, RIJKSUNIVERSITEIT,
GENT, BELGIUM: Insects and Herbi-
cides resistant plants.
- 9.30 - 10.20 am NAM CHUA, ROCKEFELLER UNIVERSITY,
USA: Expression of coat protein
genes in transgenic plants confers
protection against cucumber mosaic
virus and potato virus X.
- 10.20 - 10.40 am Pause café / Coffee break.
- 10.40 - 11.30 am **GENERAL DISCUSSIONS AND RECOMMANDATIONS**

Présidents / Chairs : ALL CHAIRMEN ASSOCIATED.

11.30 - 12.30 am **SESSION DE CLOTURE / CLOSING SESSION**

2.30 pm **** EXCURSION TO GOREE**

THE SESBANIA ROSTRATA-AZORHIZOBIUM SYMBIOSIS

B. DREYFUS. ORSTOM, BP. 1386 Dakar, Sénégal

Sesbania rostrata can bear nitrogen-fixing nodules both on its roots and stems. Two groups of bacteria are nodulates roots of Sesbania rostrata. One group usually only nodulates roots of Sesbania rostrata and belongs to the genus Rhizobium. The other group including strain ORS571 is able to nodulate both roots and stems of Sesbania rostrata and belongs to the new genus Azorhizobium (see M. Gillis communication). Azorhizobium strains assume a unique position amongst symbiotically nitrogen fixing species, by their ability to grow at the expense of N₂ in pure culture. As Azorhizobium is closely related to Xanthobacter, a nitrogen-fixing, hydrogen-oxidizing bacteria, we studied the derepression of nitrogenase activity by strain ORS571 under chemoautotrophic conditions as compared to that of a Xanthobacter strain. Strain ORS571 showed a high nitrogenase activity in mineral medium under an O₂, CO₂, H₂, N₂ atmosphere, but unlike the Xanthobacter strain, it not show any significant growth.

Sesbania rostrata is characterized by the presence on its stem of predetermined nodulation sites formed by lateral root primordia susceptible to rhizobial infection. Using EMS mutagenesis and M2 family selection we isolated a mutant without lateral root primordia on its stem. This mutant shows no stem-nodulation but normal root-nodulation.

PHENOTYPIC AND GENOTYPIC STUDIES ON TROPICAL RHIZOBIA LEADING TO THE CHARACTERIZATION OF AZORHIZOBIUM CAULINODANS

M. GILLIS, B. DREYFUS and J.L. GARCIA. Laboratorium voor Microbiologie Rijksuniversiteit, Gent, Belgium; ORSTOM, BP. 1386, Dakar, Sénégal; Laboratoire de Microbiologie, ORSTOM, Université de Provence. 13331, Marseille, France.

From nodules on Sesbania rostrata several bacterial strains were isolated by B. Dreyfus. One group, isolated from stem nodules, effectively nodulates the stems and roots of this plant while another group of bacteria appeared to nodulate the roots only. These strains were compared in a numerical analysis of 221 phenotypic features with representative strains of the genera Rhizobium and Bradyrhizobium and with other tropical isolates mostly from Acacia. Phenotypically the stem-and root-nodulating strains appear to be quite different from Rhizobium and Bradyrhizobium. The root-nodulating strains belong to the Rhizobium phenon which consists of 4 subphenon. Representative organisms of the different phenotypic clusters were further studied by comparative gel electrophoresis of whole cell proteins, and by DNA-DNA and

stepwise DNA-rRNA hybridizations. A ^3H - rRNA was prepared from the stem- and root-nodulating strain ORS571 and hybridized with DNA from representative strains of the stem- and root-nodulating phenon and from their possible relatives. The following conclusions were drawn :

- (i). The root-nodulating strains and the strains from Acacia are genuine rhizobia.
- (ii). The stem- and root-nodulating strains constitute a separate rRNA subbranch in rRNA superfamily IV.
- (iii). Their closest relative is the genus Xanthobacter from which they are phenotypically and genotypically sufficiently different to deserve a separate generic rank.
- (iv). Because the feature of free-living nitrogen fixation is quite discriminative, a new genus Azorhizobium is proposed with, up to now, one species Azorhizobium caulinodans.

RHIZOBIUM MELILOTI GENES CONTROLLING SYMBIOTIC PROPERTIES

D. KAHN and J. DENARIE. Laboratoire de Biologie Moléculaire des Relations Plantes-Microorganismes CNRS-INRA, BP. 27, 31326 Castanet-Tolosan Cedex.

1. Infection and nodulation

Genes controlling infection and nodulation of alfalfa are spread over around 15 kb of the pSym megaplasmid. One cluster contains two operons (nodD and nodABC) containing genes which were called common nod genes because they seemed to be physically and functionally conserved among Rhizobium species. Another cluster contains at least two operons nodFEG and nodH which are controlling host-specificity.

Genes fusion studies have revealed that the nod genes, common and specific, seem to be part of a regulon involving a consensus sequence in promoter regions (the nod box), activator proteins encoded by nod genes and activated by plant flavonoid signals.

The regulation of nod genes can be host specific since the nodD regulatory activities of various Rhizobium species exhibit a different responsiveness to different sets of plant flavonoids and exudates.

Genes controlling the synthesis of exopolysaccharides and involved in the control of infection have been found on the chromosome (ndv and exo) and on a second megaplasmid (exo). Those genes seem not to require a plant signal for their expression, and can be complemented by Agrobacterium (chromosomal) DNA.

2. Symbiotic nitrogen fixation

The nif region contains genes homologous to the Klebsiella pneumoniae nif genes (nifHDKE, nifAB and nifN).

The nif products encoded by these genes are likely to have the same functions as those of K. pneumoniae. In contrast the fixABCX operon is not related to K. pneumoniae nif genes. It has been suggested that this operon is involved in electron donation to nitrogenase.

Another fix cluster has been identified on pSym at about 200 kb from the nif region. Genetic analysis and the nucleotide sequence of this 12.5 kb region has revealed the presence of (1) the fixGHIY operon which is likely to encode a transmembrane complex including an ATPase and an iron-sulfur protein ; (2) regulatory genes (fixLJ) and (3) a duplicated region of 5 kb containing at least two operons.

In the symbiotic state transcription of the nif region requires the NifA and NtrA products as in K. pneumoniae. However transcription of the regulatory gene nifA is not controlled by ntrC in R. meliloti.

The fixLJ operon is required for the microaerophilic free-living as well as for the symbiotic expression of nifA and of operons in the new fix region. Thus, this two component regulatory operon plays a key role in the control of symbiotic nitrogen fixation.

IDENTIFICATION DES GENES IMPLIQUES DANS LA FIXATION DE L'AZOTE CHEZ AZORHIZOBIUM CAULINODANS ORS571

C. ELMERICH, F. NOREL, A. KUSH, P. DENEFFLE, N. DESNOUES et A. KAMINSKI. Unité de Physiologie Cellulaire, Département des Biotechnologies, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France.

La souche d'Azorhizobium caulinodans ORS571, isolée à partir de tiges de la légumineuse Sesbania rostrata, possède la propriété exceptionnelle pour un Rhizobium de se développer ex planta aux dépens de l'azote moléculaire. Cette propriété a été exploitée pour étudier la biochimie et la génétique de la fixation de l'azote en utilisant les techniques applicables aux fixateurs libres.

La nitrogénase a été purifiée à partir de cellules cultivées en fermenteur. Les propriétés physicochimiques des deux protéines de la nitrogénase sont voisines de celles des enzymes purifiés à partir d'autres fixateurs d'azote. La nitrogénase de la souche ORS571 est soumise in vivo au phénomène de "switch-off" après addition d'ammoniac au milieu de culture. Le phénomène est dû, comme chez les bactéries photosynthétiques, à une inactivation de la protéine 2 alors que la protéine 1 demeure pleinement active.

Deux régions portant des gènes nif ont été caractérisées. La première contient nifHDK, nifE et un quatrième gène non identifié. La seconde contient une autre copie de nifH, les gènes fixABC et un nouveau gène nif. La séquence nucléotidique des deux copies de nifH a été établie. Les

deux gènes ne diffèrent que par six nucléotides et un seul acide aminé. De plus, en amont du codon d'initiation de chaque gène, on a trouvé des séquences qui s'alignent sur les consensus établis pour les promoteurs nif. Des souches délétées de l'une ou l'autre des deux copies sont Nif⁺ Fix⁺, ce qui suggère que les deux gènes sont fonctionnels ex planta and in planta, bien que leur niveau d'expression soit différent.

NODULATION GENES OF AZORHIZOBIUM CAULINODANS ORS571

M. HOLSTERS, G. VAN DEN EEDE, K. GOETHALS, K. TOMEKPE, M. GAO and E. MESSENS. Laboratorium voor Genetica, Rijksuniversiteit Gent, B-9000 Gent (Belgium).

By random Tn5 mutagenesis two nodulation regions were identified in the ORS571 genome. They contain functions that are essential for stem as well as for root nodulation of Sesbania rostrata. Clones corresponding to these Nod loci were isolated; physical maps were constructed and by site-specific mutagenesis and homogenotization of mutations in ORS571 the essential nod genes were delimited.

Nod locus 1 presents many similarities with the common nodABC region of the fast-growing rhizobia. This conclusion is based on DNA homology studies, sequencing data, and the use of lacZ fusions to determine the regulation of expression and the direction of transcription of the nod genes.

The Nod locus 1 genes are expressed in the presence of Sesbania rostrata root exudate. Data on the purification of an inducing root exudate factor will be presented, as well as results on the identification of regulatory genes, the products of which interact with inducing factors.

Finally approaches will be discussed to try to understand the stem specificity of strain ORS 571.

SESSION 2
REGULATION OF
N₂-FIXATION

REGULATION OF NITROGEN METABOLISM IN RHIZOBIUM LEGUMINOSARUM

M. IACCARINO, S. COLONNA-ROMANO, R. DEFEZ, M. ROSSI, A. RICCIO, A. LAMBERTI and A. De PAOLIS. International Institute of Genetics and Biophysics, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli, Italy.

Two main pathways of ammonia assimilation exist in bacteria : via glutamate dehydrogenase (GDH) and via the glutamine synthetase (GS) and glutamate synthase (GOGAT) pathway. The end product of both pathways is glutamate, which acts as an amino group donor in various amino transferase reactions. GDH is operative only at high ammonia concentrations, while the GS-GOGAT pathway is operative when ammonia is limiting. In enteric bacteria the use of these two pathways is genetically controlled in response to the availability of ammonia. These enzymes form part of a general nitrogen control system, which includes a number of enzymes involved in the breakdown of nitrogenous compounds. The GDH pathway is derepressed at high ammonia concentrations, while the GS-GOGAT pathway is repressed. The converse is true when ammonia is limiting. Additionally, GS activity is inhibited via a post-translational modification at high ammonia concentrations.

Ammonia assimilation shows a peculiarity, because bacterial membranes are highly permeable to NH_3 while they are impermeable to NH_4^+ (unless a carrier is present). For this reason, the maintenance of the NH_4^+ pool by bacteria living on nitrogenous compounds other than ammonia requires more energy expenditure than for the pool of other substances.

Three physiological states should be considered for Rhizobium spp. : (1) free living bacteria, using ammonia as a nitrogen source ; (2) the bacteria actively growing inside the plant on as yet unknown nitrogenous compounds ; and (3) fully developed bacteroids fixing nitrogen and exporting ammonia. Thus, the enzymes of ammonia assimilation need to be regulated differently in free-living bacteria as compared to bacteroids while nothing is known yet about nitrogen metabolism in bacteria growing inside the plant.

Rhizobium spp. show a peculiarity, with respect to other bacteria, namely they possess two glutamine synthetases : GSI, which is analogous in structure to the GS of enteric bacteria and it shows a similar post-translational modification, namely adenylation ; and GSII, which is the product of a different gene, it is relatively heat labile and not known to be modified after translation. These two activities are differentially regulated in response to changes in nitrogen source. Another peculiarity is that, at least in some Rhizobium spp., the GDH pathway appears to be absent.

We are interested in the regulation of nitrogen metabolism in Rhizobium leguminosarum biovar viceae, a bacterium inducing nitrogen-fixing nodules in Pisum, Vicia,

Lens and Lathyrus and to this purpose we started a study on the regulation of GS activity and expression. We find that GSI is adenylylated and GSII is not ; moreover the two activities, separated by column chromatography, cannot be interconverted, thus showing that they are isozymes. We reported the isolation of a R. leguminosarum gene (glnA), coding for GSI. DNA sequencing revealed an ORF of 469 codons specifying for a polypeptide of 52,040 daltons and highly homologous to other GS sequences. Upstream of glnA we found an ORF of 111 codons which is highly homologous to the sequence of the P II protein of E.coli, the product of the glnB gene, which is involved both in adenylylation of GS and in regulation of glnA expression. Therefore, a glnA-like gene is contiguous to glnA in R.leguminosarum, while glnB and glnA are unlinked in E.coli. A similar linkage appears to take place in Bradyrhizobium japonicum and in Azospirillum brasilense.

REGULATION OF AZORHIZOBIUM CAULINODANS ORS571 N₂ FIXATION

R. A. LUDWIG. Department of Biology, University of California, Santa Cruz, CA. 95064, USA.

Azorhizobium caulinodans ORS571 exhibits at least two distinct modes of N₂ fixation during nodulation of Sesbania rostrata. The first mode is proliferative : during early nodulation, N₂ fixation is coupled to rhizobial ammonium assimilation ; this allows growth of the invading bacteria. The second mode is altruistic : in mature nodules, N₂ fixation is decoupled from rhizobial ammonium assimilation. this allows ammonium export from bacteroids and fuels host plant growth.

The Azorhizobium N₂ fixation (nif) genes are dispersed among at least four genetic loci. Together, they constitute a regulon that is controlled at the level of transcription by the nitrogen-regulatory (ntr) genes during proliferative N₂ fixation. However, in mature nodules, Ntr regulation of the Azorhizobium nif genes is overridden. This allows bacteroids N₂ fixation to occur in a local-excess nodule environment.

While the Ntr system monitors cellular N-availability, the Azorhizobium nif genes are also controlled by O₂-availability. The NifA product is itself a transcriptional activator for the remainder of the Azorhizobium nif genes. The NifA product is deactivated in the presence of O₂ levels that would otherwise threaten N₂ fixation.

These capabilities allow Azorhizobium ORS571, uniquely among characterized rhizobia, to fix N₂ for its own benefit and for the benefit of its host, Sesbania rostrata.

MOLECULAR GENETICS OF NITROGEN FIXATION BY AZORHIZOBIUM CAULINODANS ORS571 IN THE FREE LIVING STATE AND IN NODULES INDUCED ON SESBANIA ROSTRATA

F.J. DE BRUIJN, K. PAWLOWSKI, U. HILGERT, P. RATET, B. METZ, P. WELTERS, H-J. HOFFMANN, L. SZABADOS, C.H. WONG*, J. SCHELL - Max Plank Institut Fur Zuchtungsforchung D5000, Koln 30, RFA.

*University of Malaysia, Pulau Penang, MALAYSIA.

Using random-, as well as site directed Tn5 mutagenesis, a number of A. caulinodans loci involved in nitrogen fixation (nif/fix), assimilation (asm) and heme biosynthesis (hemA) have been identified, cloned and characterized. Tn5-induced insertion mutations in these loci have been examined for their nitrogen fixation capacity in the free living- versus symbiotic state (Nif versus Fix phenotype). Mini-Mu-lac transposons have been used to create nif-lac gene fusions and to study nif-gene regulation under various physiological conditions in culture and in stem/root nodules on S. rostrata plants. A model for the regulation of nif, asm and hemA genes in response to varying oxygen and (fixed) nitrogen concentrations was deduced.

The ultrastructure of nodules induced by ineffective (Fix-) A. caulinodans strains on S. rostrata stems and roots has been examined by light- and electron-microscopy.

A. caulinodans mutants deficient in heme biosynthesis have been generated and shown to induce ineffective, leghemoglobin deficient nodules on S. rostrata. Leghemoglobins (Lbs) have been isolated from stem and root nodules and analysed by 2-D- gel electrophoresis and Western blotting. The genes encoding two distinct S. rostrata Lb forms have been cloned and their DNA sequence determined. In the 5' upstream (promoter) regions of these lb genes, highly conserved cis-acting DNA elements have been found, which interact with (universal), nodule specific, trans-acting, DNA binding factors.

These results will be discussed in light of our attempts to identify signals, of both plant and bacterial origin, which are involved in the regulation of those genes, which are specifically induced during the establishment of nitrogen fixing nodules in the unique A. caulinodans - S. rostrata symbiotic system.

OXYGEN PROTECTION AND OXYGEN REQUIREMENT FOR C₂H₂ REDUCTION BY SESBANIA NODULES AND BACTERIODS.

J. RIGAUD. CNRS UA 1114, Laboratoire de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et des Techniques, 06034 NICE Cedex, France.

The large nitrogen fixation capacities observed both with root and stem nodules of Sesbania rostrata were asso-

- 9.25 - 9.40 am O.P. MEELU, PENJAB UNIVERSITY, LUDHIANA, INDIA: Green manuring Sesbania in different cropping systems.
- 9.40 - 10.00 am Pause café / Coffee break
- 10.00 - 10.15 am H. DIARA, ADRAO, ST LOUIS, SENEGAL: Sesbania rostrata comme source d'azote en rizière irriguée dans la vallée du fleuve Sénégal.
- 10.15 - 10.30 am I. NDOYE, MINISTERE DU PLAN ET DE LA COOPÉRATION, SENEGAL: Utilisation de Sesbania en riziculture traditionnelle et comme fourrage.
- 10.30 - 10.45 am P. VERNIER, IRAT, BOUAKE, COTE D'IVOIRE: Utilisation de Sesbania rostrata comme engrais vert dans différents types de riziculture.
- 10.45 - 11.00 am B. OSSENI, IRFA/CIRAD, ABIDJAN, COTE D'IVOIRE: Identification des paramètres limitant le développement de Sesbania rostrata au Sud de la Côte d'Ivoire.
- 11.00 - 11.15 am F. GANRY, ISRA, BAMBEY, SENEGAL: Sesbania rostrata utilisé comme compost.
- 11.15 - 11.30 am A. EL-BASSEL, FACULTY OF AGRICULTURE, CAIRO UNIVERSITY, FAYOUM, EGYPT: Agricultural use of root and stem nodulated legumes, and their potential in Egypt.
- 11.30 - 11.45 am LAHBIB MESSAOUD, ECOLE NORMALE SUPERIEURE, BAMAKO, MALI: Premiers résultats sur l'utilisation du Sesbania rostrata comme engrais vert dans les rizières du Mali.
- 11.45 - 12.30 am SYNTHESIS FOR GREEN MANURE UTILISATION

2.00 pm ** SESSION 5 (suite) : AGRICULTURAL APPLICATIONS

Président / Chair : B. DREYFUS, ORSTOM, DAKAR, SENEGAL

- 2.00 - 2.10 pm Chairman's Remarks
- 2.10 - 2.30 pm D. ALAZARD, ORSTOM, DAKAR, SENEGAL: Stem nodulation in Aeschynomene.
- 2.30 - 2.45 pm L.H. RAKOTOVAO, MINISTERE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE ET TECHNOLOGIQUE POUR LE DEVELOPPEMENT, MADAGASCAR: Recherche pluridisciplinaire sur Sesbania rostrata et d'autres légumineuses à nodules caulinaires de Madagascar.
- 2.45 - 3.00 pm R. FETIARISON, FOFIFA, ANTANANARIVO, MADAGASCAR: Possibilité d'utilisation des légumineuses à nodules caulinaires dans la riziculture

ciated with a high level of superoxide dismutase (SOD) in the corresponding bacteroids. However SOD activity in stem nodule bacteroids was only slightly higher than that of the root nodule bacteroids in spite of their greater efficiency to fix nitrogen in an environment generating photosynthetic O_2 . The possibility for SOD to participate to the protection of the nitrogen fixation process were discussed. On the other hand lactate appeared as a specific substrate supporting C_2H_2 reduction by Sesbania bacteroid incubations when O_2 was either freely dissolved or supplied by oxyleg-hemoglobin. Under these conditions lactate required a lower O_2 tension for optimal C_2H_2 reduction activity than succinate did ; this difference was directly related to the stimulation exercised by each substrate on bacteroid respiration as predicted by the model of Bergersen and Trinchant (1985). Lactate present in the cytosol of Sesbania root and stem nodules was generated by an active lactate dehydrogenase (LDH) exhibiting a very high affinity for pyruvate. Sesbania bacteroids were fitted with an LDH able to oxidize lactate and lacking in soybean and french bean bacteroids. Under O_2 restricted conditions imposed to nodules, LDH activities were strongly enhanced both in cytosol and in bacteroids ; and associated with the induction of alcohol dehydrogenase activities in the two partners. This situation could occur after plant flooding during the rainy season and these fermentation processes were able to maintain a significant level of nitrogen fixation in Sesbania stem and root nodules.

SESSION 3
MOLECULAR GENETICS
OF SESBANIA ROSTRATA

NODULINS IN SESBANIA ROSTRATA

P. de LAJUDIE - Laboratoire de Biologie des Sols,
O.R.S.T.O.M., B.P. 1386, Dakar, SENEGAL

The development of nitrogen-fixing symbiosis between Sesbania rostrata and Azorhizobium or Rhizobium requires the expression of specific genetic information from both the bacteria and the plant.

We used several approaches to evidence specific plant gene expression during stem and root nodule development in Sesbania rostrata :

- comparison of polyacrylamide gel electrophoresis patterns of total soluble cytoplasmic proteins from uninfected stems and roots, stem and root nodules,
- Western Blotting experiments using nodule-specific antisera,
- in vitro translation of poly (A)⁺ RNA purified from nodules and uninfected tissues, followed by 1D- or 2D-polyacrylamide gel electrophoresis.

Root and stem nodules patterns are essentially similar and we detected at least 16 nodule-specific in vitro translation products and 10 others which expression is stimulated in nodules. These polypeptides appear stimulated at different stages during nodule development. Six leghemoglobin components were identified by immunoprecipitation of in vitro translation products with an antiserum raised against leghemoglobin purified from S. rostrata stem nodules.

We compared patterns of in vitro translation products of stem nodules developed either in dark or under light : only a few spots exhibit different intensities and stem nodules in dark are more comparable to root nodules.

Effective root nodules induced by either Azorhizobium caulinodans ORS571 or Rhizobium ORS51 exhibit identical plant gene expression, except for a specific 37.5 kDa polypeptide.

In ineffective stem and root nodules induced by mutant strains 5740 (nif⁻ punctual mutant ; Elmerich et al., EMBO J., 1 (4) : 499-503, 1982) or 5795 (regulatory mutant, Denèfle et al., Mol. Gen. Genet., 207 : 280-287, 1987), the amount of leghemoglobin appears reduced together with majority of nodule-stimulated polypeptides.

SESSION 4
TISSUE CULTURE AND
PLANT REGENERATION

SESBANIA TISSUE CULTURE : PLANT REGENERATION AND FORMATION OF NODULE-LIKE STRUCTURES IN VITRO.

H. TRINH, A. PALTA and N.H. CHUA. Laboratory of Plant Molecular Biology The Rockefeller University 1230 York Avenue, New York, 10021-6399, USA.

We are developing techniques for the transfer of foreign genes into Sesbania rostrata a fast growing tropical legume. Toward this end, we first developed a tissue culture system for maximal regeneration of shoots and whole plants. Hypocotyl segments proved better than other explants with respect to shoot formation. Regeneration of shoots from hypocotyl explants can now be obtained at a frequency of 80-90%. These shoots can easily be rooted on nutrient medium with no growth regulators. Attempts are being made to obtain transgenic plants by co-cultivation of hypocotyl segments with different Agrobacterium strains using methotrexate, kanamycin or gentamycin as selectable markers.

Sesbania rostrata is one of the few legumes that form nodules on aerial parts (the stem). In order to study the early events of the infection process between host plants and Rhizobium, we developed an in vitro system in which protoplasts derived from another aerial part (the leaf) of Sesbania were co-cultivated with Azorhizobium caulinodans strain ORS-571. Two hours after mixing, almost all the protoplasts were infected by the bacterial cells. By decreasing nitrate and hormone concentration in the protoplast proliferation medium, nodule-like structures were obtained about 30 days after co-cultivation. Sections of nodule-like structures stained with toluidine blue showed the presence of vascular bundles and infected cells. We hope to use this in vitro system to analyze early events surrounding plant-Rhizobium interaction to define the role of host specificity in this interaction, and to investigate plant genes involved in nodule morphogenesis.

LA CULTURE IN VITRO DE SESBANIA ROSTRATA : MULTIPLICATION, ORGANOGÈNESE ET ISOLEMENT DE PROTOPLASTES

M. SAGNE ET R. JONARD. Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Laboratoire d'Histophysiologie et Radiologie Végétales, Pl. E. bataillon, 34060 Montpellier Cedex, France.

Les travaux sur la culture in-vitro de Sesbania rostrata sont peu nombreux (1). Nous avons étudié la multiplication végétative, par microbouturage et culture d'apex provenant de vitro-plants puis l'organogénèse, à partir de tissus juvéniles (cotylédons et hypocotyles) également utilisés pour l'isolement des protoplastes.

La multiplication végétative :

. Le microbouturage : le débourement des noeuds est obtenu sur milieu MS + ANA 0,05mg/l + BAP : 0,1 mg/l avec un taux de 86% après 10 jours d'incubation en lumière alternée. L'initiation racinaire est réalisée par choc auxinique selon deux modalités : Mod.A milieu gélosé + ANA (1,2,4 et 8 mg/l) pendant 48 heures et Mod.B : milieu liquide AIB (0,5 et 1 g/l) pendant 1 heure. Le taux d'enracinement, après induction racinaire sur milieu gélosé sans hormone, est de 42% (ANA 1 et 8 mg/l) pour la Mod. A et de 98% pour la Mod.B (milieu de débourement sans hormone).

. La culture d'apex : le développement des apex, sur pont de papier filtre (dans des tubes à hémolyse) et sur milieu gélosé, est réalisé avec la solution de Lepoivre. L'incubation est effectuée à 35°C à l'obscurité pendant 5 jours puis en lumière alternée durant 10 jours. Les meilleurs résultats sont obtenus sur milieu liquide avec BAP 0,05 mg/l et GA3 1,5 mg/l.

Etude de l'organogenèse à partir des cotylédons et des hypocotyles

Les cotylédons sont ensemencés sur milieu gélosé contenant diverses concentrations en hormones : BAP (0,1 à 1 mg/l) et ANA (0,5 mg/l). Les taux de caulogénèse les plus élevés sont de 33% avec BAP 1 mg/l + ANA 0,1 mg/l, pour les cotylédons et de 52% avec BAP 1 mg/l, pour les hypocotyles.

L'isolement des protoplastes

Les protoplastes sont isolés à partir des cotylédons et des hypocotyles. La composition de la solution enzymatique est la suivante : sels minéraux et solution de vitamines de M. et J. (2), mannitol à 0,7 M, cellulase Onosuka à 1 et 2%, drizélase, hémicellulase, macerozyme Onosuka à 0,5%. Le pH est ajusté à 5,6. La macération est poursuivie sous agitation à 25°C et à l'obscurité. Les meilleurs isolements sont obtenus sans drizélase et sans hémicellulase. L'isolement est de $2,6 \cdot 10^5$ protoplastes/g de tissus frais d'hypocotyles et de $7,8 \cdot 10^4$ protoplastes/g de tissus frais de cotylédons avec respectivement la cellulase Onosuka à 2 et 2,5%.

ETUDE STRUCTURALE DE NODULES CAULINAIRES DE SESBANIA ROSTRATA INDUITS EN PRESENCE D'AZOTE COMBINE

A. MOUDIONGUI*, DUHOUX** et G. RINAUDO* . * ORSTOM, Université de Lyon 1, France, ** BSSFT/CTFT, 45bis Av. de la Belle Gabrielle, 94736, Nogent sur Marne Cedex, France.

La structure et l'ultrastructure de nodules caulinaires de Sesbania rostrata induits en présence d'azote combiné ont été étudiées, et l'activité réductrice d'acétylène évaluée. Les plantes ont été cultivées en chambre de culture en tube sur milieu minéral liquide

contenant différentes concentrations d'azote combiné (0, 3, 6, 12 mM-N) sous forme de KNO_3 . Des coupes fines et ultrafines effectuées sur des nodules de 20 jours ont été observées en microscopie photonique et en microscopie électronique à transmission. L'augmentation de la concentration en azote entraîne une diminution de la taille des nodules. Au microscope photonique on observe aussi une diminution de la taille du tissu central ainsi que de la proportion des cellules infectées par les Rhizobium. L'étude cytologique des nodules en microscopie électronique révèle pour une concentration de 12mM-N la présence de cordons d'infection intracellulaires dans le tissu central et l'absence de bactéroïdes dans ces cellules. Ceci laisse supposer que la dernière étape du processus d'infection (libération des bactéries hors du cordon d'infection dans le cytoplasme) est bloquée par de fortes concentrations d'azote qui inhibent également l'activité réductrice d'acétylène.

SESSION 5
AGRICULTURAL
APPLICATIONS

AVENIR DES LEGUMINEUSES A NODULES DE TIGE EN AGRONOMIE TROPICALE

Y.R. DOMMERGUES*, B. DREYFUS**

*BSSFT (ORSTOM/CTFT), 45 bis Av. de la Belle Gabrielle,
94736 Nogent sur Marne, FRANCE

**ORSTOM, BP 1986, Dakar, SENEGAL.

Il est maintenant bien connu que certaines légumineuses à nodules de tige (LNT), notamment Sesbania rostrata et Aeschynomene afraspera, fixent des quantités considérables d'azote atmosphérique, même en présence de doses élevées d'azote combiné dans le sol (jusqu'à 200kg N/ha). Cette propriété remarquable sur le plan agronomique confère aux LNT un potentiel fixateur d'azote bien supérieur à celui de la plupart des systèmes connus.

Pour bénéficier de l'intégralité de l'azote ainsi fixé, la solution adoptée la plupart du temps consiste à enfouir les parties aériennes des LNT, puis à installer sur le sol ainsi enrichi en azote et carbone organiques une céréale, en général le riz, ou autre plante vivrière: c'est la pratique bien connue des agronomes sous le nom d'engrais vert.

Les nombreux travaux effectués en Afrique et en Asie tropicale ou subtropicale depuis quelques années indiquent que l'incorporation au sol de Sesbania rostrata ou Aeschynomene afraspera comme engrais vert double le rendement en grain du riz par rapport à des témoins n'ayant reçu aucun engrais azoté. On admet ; que l'effet de cet engrais vert sur le rendement du riz équivaut approximativement à celui d'un apport de 60 à 80 kg de N sous forme d'engrais minéral.

Les LNT sont aussi utilisées avec succès comme fourrage. On a suggéré aussi de s'en servir comme matière première pour le compostage. On pourrait aussi envisager leur introduction dans des systèmes de cultures associées.

Malgré leurs potentialités remarquables, les LNT présentent des faiblesses indiscutables :

- Sensibilité excessive à la photopériode
- Sensibilité aux attaques de certains nématodes
- Difficulté de nodulation en atmosphère sèche
- Exigences en eau excessives dans les régions où l'eau est le principal facteur limitant de la production végétale
- Sensibilité à la compétition des mauvaises herbes dans le jeune âge.

Pour remédier à une telle situation, on peut chercher à agir sur le rhizobium ou sur la plante hôte. En ce qui concerne le rhizobium, on pourrait tenter de transférer aux souches sauvages des gènes codant pour :

- La résistance à la sécheresse, ce qui lui permettrait de survivre plus facilement dans les sols en saison sèche et, peut-être, de conserver son aptitude à noduler même en atmosphère relativement sèche
- La résistance au sel dans le cas où l'on aurait à mettre en valeur des sols salés

-La synthèse de métabolites agissant sur la croissance de la plante hôte ou confortant sa résistance à certaines contraintes environnementales.

Mais ce sont certainement les manipulations portant sur la plante hôte qui sont les plus attendues, les objectifs visés étant notamment :

- L'accroissement de la production de biomasse et, par cela même du potentiel fixateur d'azote du système
- La résistance aux nématodes
- L'absence de sensibilité à la photopériode
- La réduction des exigences hydriques
- Eventuellement, la résistance à certains herbicides

Diverses approches, pourraient être utilisées pour obtenir ces améliorations. Certaines pourraient être fondées sur l'exploitation de la variabilité spontanée ou induite du matériel végétal. D'autres pourraient faire appel au génie génétique (par ex.: résistance aux nématodes).

Compte tenu des demandes considérables en combustible dans les pays en voie de développement, il serait souhaitable de construire des LNT perennes productrices de bois de feu. Le transfert de la nodulation de tige de Sesbania rostrata à Sesbania grandiflora pourrait être une voie pour atteindre cet objectif.

SESBANIA ROSTRATA AS A GREEN MANURE FOR LOWLAND RICE : N₂ FIXATION, RHIZOBIUM INOCULATION AND SURVIVAL, RICE GROWTH, AND N BALANCE STUDIES

J.K. LADHA, S. MIYAN and M. GARCIA. Department of Soil Microbiology. The International Rice Research Institute, P.O. Box 933, Manila, Philippines.

The search for alternatives or supplements to fossil fuel-based inorganic N fertilizers concerns not only future price increases of chemical fertilizers but also the maintenance of long-term soil productivity and ecological sustainability. Green manuring by incorporating an in situ N₂-fixing legume crop can meet a substantial portion of the rice N requirement and provide organic matter to wetland rice soils.

Sesbania rostrata, an aquatic legume that produces nodules on stems as well as on roots has recently been reported as a potential green manure (GM) for lowland rice in Senegal. If Asian farmers integrate S. rostrata as a GM into rice cropping systems, they will most likely grow it during the 40 to 55 day transition period between the dry and wet seasons. the relative contribution of N₂ fixation by root and stem nodules by 50-day-old S. rostrata -- and how this is affected by season, flooding, and inoculation in the stem alone or in both the root and stem -- are not known. Green manuring supplies not only biologically fixed

organic N but also a large number of rhizobial through nodules to flooded soil and to the succeeding rice crop. No information is available on how the succeeding rice crop grown under flooded condition, affects the survival of native and inoculated rhizobia. This paper reports the results of our attempts to answer these questions. The experiment was conducted in two crop cycles with and without S. rostrata and Rhizobium inoculation in both wet and dry seasons. The effect of green manuring on rice growth and total N balance is also discussed.

FIXATION D'AZOTE PAR LES LEGUMINEUSES A NODULES DE TIGE APPROCHE ECOLOGIQUE ET UTILISATION COMME ENGRAIS VERT

G. RINAUDO & A. MOUDIONGUI. ORSTOM, Université Claude Bernard-Lyon I, Laboratoire d'Ecologie Microbienne .

Les légumineuses à nodules de tige Sesbania rostrata et Aeschynomene afraspera se rencontrent en Afrique de l'Ouest dans des sols temporairement inondés. Il s'agit de plantes annuelles particulièrement sensibles à la photopériode et à la température qui se développent bien en saison chaude et humide.

Les nodules de tige se forment au niveau de sites prédéterminés (primordium de racine) quand ils sont infectés par des symbiotes spécifiques. Dans la nature, quand de telles souches sont présentes dans le sol au sein de la microflore native, des nodules apparaissent fréquemment au bas des tiges. Toutefois leur distribution est irrégulière et il convient d'inoculer si l'on recherche l'expression optimale des potentialités fixatrices d'azote de la plante.

Sesbania rostrata et Aeschynomene afraspera sont des légumineuses à croissance rapide qui peuvent fixer l'azote plus activement que la plupart des légumineuses qui ne nodulent que sur les racines. L'aptitude à noduler sur les tiges leur confère des avantages indéniables : outre des potentialités fixatrices d'azote remarquables, ces légumineuses peuvent noduler et fixer l'azote sur sol engorgé ou en présence de concentrations élevées en azote combiné. Il a également été remarqué que S. rostrata peut agir comme plante piège vis à vis de certains nématodes appartenant au genre Hirschmanniella pathogènes du riz inondé.

En Afrique de l'Ouest, quand on les utilise comme engrais vert au début de la saison des pluies, Sesbania rostrata ou S. afraspera peuvent fournir à une culture de riz ou de sorgho, plus de 100 kg N par ha ce qui se traduit par des augmentations de rendement parfois considérables.

SESBANIA ROSTRATA AS GREEN MANURE FOR AMELIORATION OF SALT-AFFECTED SOILS

Yao-Hui QIN. Institute of Soil Science Nanjing, Academia, Sinica.

There are seven varieties of Sesbania being cultivated widely in the region from 20°N in China, among which S. cannabina pers and S. aegyptica pers are the most popular.

S. rostrata was introduced in 1984. Though it is characterized by a high activity of nitrogen fixation, it can only be cultivated in the region south to 25°N, owing to the facts that it can not pod under the conditions of long day and low temperature. In our experiment, by cultivating it under shading and shortday, it can get into flowering 38 days after seeding, which is 51-days-earlier than original, and matured seeds have been obtained. This makes it possible to extend the cultivation of S. rostrata in the region north to 25°N.

In solution culture with ¹⁵N-labelled mineral N, it was found that nitrogen fixation by both stem nodule and root nodule was markedly lowered at 20 ppm of mineral N; in contrast, at the concentration of 2.5-5 ppm, nitrogen fixation by root nodule was even enhanced while that by stem nodule was decreased.

Results of pot experiment showed that the salt-tolerance of S. rostrata was similar to that of other varieties of sesbania. It can grow normally on soils containing less than 0.5% of salt, though the dry matter produced was reduced along with the increase in salt concentration. However, its growth was severely reduced when salt content in soil was higher than 0.5%, and even died when it reached up to 0.6%. Results also showed that salt content in soil was lowered remarkably after the cultivation of sesbania.

GROWTH AND NITROGEN FIXATION IN SESBANIA ROSTRATA UNDER FLOODED AND NON-FLOODED CONDITIONS

S.A. KULASOORIYA and I.M. SAMARAKOON. Department of Botany, University of Peradeniya and the Institute of Fundamental Studies, Kandy, Sri Lanka.

Year round growth of Sesbania rostrata under flooded and non-flooded conditions was evaluated at Peradeniya, in Central Sri Lanka. While better growth under flooding was observed during the dry seasons, not much difference between growth under flooded and non-flooded conditions was seen during the wet seasons. However, overall growth was poorer than that reported elsewhere and early flowering was common throughout the year.

Nitrogenase activity in different parts of harvested plants showed highest activity towards the base, with no

activity at the apex without stem nodules. Maximum specific activity was found to be associated with young nodules.

Flooded growth produced massive root systems with plenty of aerenchymatous tissue and the ability to produce such tissue appear to enable these plants to withstand flooding.

A comparative study between S. rostrata, S. aculeata and S. sesban, showed faster growth by S. rostrata but the eventual biomass produced by S. sesban was greater. S. aculeata produced very poor growth. While root nodulated S. sesban showed considerable nitrogenase activity, those of the stem nodulated species, were always much higher.

Although these results confirm that S. rostrata is a flood tolerant legume having a high nitrogen fixing capacity, its sensitivity to the short day (12h) conditions in Sri Lanka has to be overcome, if its potential as a green manure plant in rice cultivation is to be fully realised.

SESBANIA ROSTRATA A SOURCE OF NITROGEN FARMING IN NEPAL

B.M.S. BASNET, K.D. YAMI -Department of Agriculture, c/o P.P. Gorkhaly, Director General, Harihar Bhawan, Pulchowk, Lalitpur, NEPAL.

With the adoption of modern technology of intensive cropping with high yielding varieties, there is a considerable demand on the Nepalese soils for nutrients. However, the native fertility of our soils is poor and can not sustain high crop yields, necessitating the application of manures and fertilizers.

Due to unavailability and high cost of synthetic fertilizers, farmers in Nepal are not able to supply adequate amount of essential plant nutrients for their crops and exhausting their soil years after years without adequate compensation of the nutrients taken up by the crops from the soils. Therefore, the use of green manures must be stressed very well so as to maintain our life-saving "Soil Health".

Sesbania cannabina, the local species available in Nepal have been used by local farmers since 1960. However, it was only this writer (Basnet) who introduced Sesbania rostrata for the first time in Nepal in 1985 from the International Rice Institute, Los Baños, Philippines. By now the Sesbania rostrata is showing a great potentiality as biofertilizer throughout Nepal. The Department, Ministry of Agriculture, other allied agencies including Nepalese farmers have taken keen interest with great hope for utilizing S. rostrata as green manure crop along with chemical fertilizers so as to increase crops productivity on sustained basis.

During the last few decades, organic manures were overlooked in favour of chemical fertilizers. However, in

view the escalating energy costs, energy will be a key limiting factor for increasing agricultural production in future especially to poor nations. So, there is a need to search for locally available alternative sources of plant nutrients and utilize them more efficiently plus judiciously in order to raise the crops productivity on sustained basis in the country like Nepal.

Therefore, we must have to stimulate the wide spread development of "Nitrogen farming" techniques. Because biological nitrogen fixation remains of vital importance for the existence of life on earth.

GREEN MANURING SESBANIA IN A DIFFERENT CROPPING SYSTEMS

O.P. MEELU. Department of Soils, Punjab Agricultural University, Ludhiana, India.

Results of experiments on green manure management in different cropping systems are discussed. The results revealed that there was a place for green manuring in the intensive farming system. Green manures showed wide range of yields and N accumulation. Sesbania closely followed by Crotalaria produced maximum N accumulation. Sesbania also showed wider adaptability to soil and moisture conditions. Substitution of 45 to 120 kg N Ha⁻¹ with green manuring in rice has been reported.

Differences in N accumulation, crop management, soil and weather may explain the wide substitution range, but are not clear from the reports. P application in soil testing low in available P was found beneficial to green manure production and N accumulation, but mean N accumulation of 199 kg ha⁻¹ from Sesbania aculeata has been reported in soil testing high in available P without P application.

Further, adoption of green manure produced residual effect on the succeeding crop at some locations, it did not at other places and need further investigations. Effects of green manures on soil fertility, micronutrients availability in soil and amelioration of its deficiency in rice have been outlined. The need to optimise green manure and fertilizer N combination and time of N application for the rice cultivation has been emphasised.

UTILISATION DE SESBANIA ROSTRATA COMME ENGRAIS VERT ET FOURRAGE

I. NDOYE. Ministère du Plan et de la Coopération et ORSTOM, Dakar, Sénégal.

Le potentiel fixateur d'azote élevé de Sesbania

rostrata (110-200 kg N/ha en 60 jours) nous a conduit à étudier son utilisation à la fois comme engrais vert et comme fourrage.

1°/ Engrais vert en riziculture : La Casamance est une région de riziculture traditionnelle dont les rizières présentent de graves pénuries en azote. Les résultats obtenus en milieu paysan montrent que l'utilisation de Sesbania rostrata comme engrais vert permet le doublement des rendements en riz.

A Fanghote, village casamançais, en 1985 le rendement en riz (grains) est passé de 2,0 t/ha dans les parcelles témoins, à 4,9 t/ha dans les parcelles fertilisées par l'engrais vert S. rostrata. Les parcelles n'ayant reçu que de l'azote combiné (60kg N/ha à base d'urée) ont eu un rendement de 2,9 t/ha.

En 1986, le rendement en grains est passé de 1,7 t/h sur la parcelle témoin à 3,2 t/ha dans la parcelle avec engrais vert S. rostrata.

En 1987 les essais ont été étendus sur un hectare (Récolte en cours).

Aux Bayottes, autre village casamançais, en 1987 le rendement est passé de 1,3 t/ha sur la parcelle témoin à 2,5 t/ha sur la parcelle avec engrais vert.

L'utilisation de S. rostrata comme engrais vert a donc permis (1) de doubler les rendements en riz, dans les conditions naturelles de culture

(2) de confirmer ainsi les résultats obtenus en microparcelles et en station expérimentale.

Fourrage : Nous avons étudié la valeur alimentaire de Sesbania et son utilisation éventuelle comme fourrage.

Les résultats obtenus ont montré que S. rostrata a une bonne productivité : 25 t de matière verte par hectare pour une période de 45 jours. Coupé à 30 cm du sol Sesbania rostrata fournit des rejets permettant une deuxième coupe. En outre S. rostrata produit une grande quantité de graines ce qui facilite sa multiplication. S. rostrata comme fourrage sec pose cependant deux problèmes importants.

-Utilisé comme foin, il y a une perte très importante de feuilles qui se séparent des tiges en séchant et tombent alors sur le sol.

- D'autre part les tiges sont d'une faible ingestibilité ce qui tient à la teneur élevée en constituants parietaux.

IDENTIFICATION DES PARAMETRES LIMITANT LE DEVELOPPEMENT DE SESBANIA ROSTRATA AU SUD DE LA COTE D'IVOIRE EN VUE D'UNE MEILLEURE UTILISATION DANS DES EXPLOITATIONS AGRICOLES

B. OSSENI. IRFA/CIRAD 01 BP. 1740 ABIDJAN 01 (RCI),

Le développement de Sesbania rostrata, plante fixatrice d'azote, a été suivi à quatre périodes de semis au cours de l'année. Les semis ont été réalisés sur deux sites

du même sol dont l'un a comme antécédent cultural l'ananas (site 1) et l'autre un gazon de Chrysopogon aciculatus (site 2).

Quelques paramètres limitant le développement de Sesbania rostrata, ont été identifiés :

- sol sableux et très perméable,
- sol à réaction fortement acide,
- teneur élevée en aluminium échangeable,
- sensibilité de la plante au déficit hydrique et aux nématodes.

Les plants de Sesbania rostrata du site 2 (pH 5,4 et teneur en aluminium échangeable égale à 4 ppm), ont donné des meilleurs résultats par rapport au site 1 (pH 4,1 et teneur en aluminium échangeable égale à 63 ppm). Le développement très médiocre de Sesbania rostrata après culture d'ananas pourrait également être attribué aux résidus de pesticides en particulier de desherbants (Bromacyl et Diuro).

Dans les conditions optimales de croissance, l'immobilisation d'azote est de 0,46 g par plante entière, fruits exclus (feuilles, tige, rameaux et racines), dont 94 pour 100 dans les parties aériennes. Cette quantité qui représente 9 g de N/m² paraît plus faible par rapport aux immobilisations observées dans d'autres pays aux dates les plus favorables.

L'utilisation de Sesbania rostrata en culture d'ananas, qui exige des sols exondés et bien drainés, semble limitée. Cette plante, utilisée sous forme d'engrais vert ou de paillis pourrait être d'un intérêt en bananeraie irriguée ou pour les cultures de bas-fonds hydromorphes et inondés en saisons des pluies. Ces terres représentent des superficies importantes en Côte d'Ivoire et l'utilisation de Sesbania rostrata pourrait être un moyen de les valoriser et d'accroître les rendements des cultures qui sont pratiquées.

UTILISATION DE SESBANIA ROSTRATA COMME ENGRAIS VERT DANS DIFFERENTS TYPES DE RIZICULTURES

Ph. VERNIER, IDESSA, BOUAKE, COTE D'IVOIRE.

1 - Cas de la riziculture sur nappe au Nord-Cameroun :

Présentation du système de culture rizicole. Etude du comportement de Sesbania rostrata sur sol hydromorphe. Résultats de 2 années d'expérimentation. Evaluation de l'effet azote de Sesbania rostrata utilisé comme engrais vert enfoui à 50 jours, avant semis du riz. Cet effet a été équivalent à l'apport de 60 kg N/ha sur le riz. On a noté un effet soufre important sur la croissance de Sesbania rostrata. Les contraintes de l'utilisation de cette légumineuse dans le système de culture rizicole de la région sont évoquées.

2 - Cas de la riziculture irriguée en Côte d'Ivoire :

Caractérisation du système de riziculture ciblé pour l'utilisation potentielle de Sesbania rostrata comme engrais vert. Premiers résultats des essais de comportement en Côte d'Ivoire. en fonction des dates de semis de Sesbania rostrata. Test d'évaluation de l'effet apport d'azote en utilisation engrais-vert et en cultures associées avec le riz irrigué. Résultats de différentes méthodes de scarification des graines de Sesbania rostrata.

Recensement des principales contraintes pour l'utilisation de cette légumineuse en riziculture irriguée en culture paysanne et en utilisant une petite motorisation.

AGRICULTURAL USE OF ROOT AND STEM NODULATED LEGUMES AND THEIR POTENTIAL IN EGYPT

A. EL BASSEL. Head of Agricultural Microbiology Department Faculty of Agriculture, Cairo University Fayoum, Egypt.

The local cultivation of forage crops to support the rapid increasing interest and importance given to animal production in Egypt can not be over emphasized. At present "Berseem" Trifolium alexandrinum is the only winter forage crop grown in Egypt. e.g. ½ million / h.

The high yield produced is not enough to cover all the needs of green fodder. The problem is very clear in summer where limited areas are cultivated with Sorghum and Sordan.

The soils in Egypt are also very poor in organic matter. Continuous application and large quantities of organic and mineral fertilizers are needed to cover the continuous shortage either in cultivated areas or in the newly reclaimed soils according to the intensive cultivation.

Sesbania grow in Egypt at summer surrounding cotton farms as wind breaks, and palatable for animals, may be the solution of that problem. According to their high dry matter production in a rapid growth period, ability of nitrogen fixation they may be used as green manure in paddy soils before rice cultivation or in the newly reclaimed soils.

Sesbania provide also a very good summer forage crop.

PREMIERS RESULTATS SUR L'UTILISATION DE S. ROSTRATA ENGRAIS VERT DANS LES RIZIERES DU MALI.

LAHBIB MESSAOUD. Ecole Normale Supérieure, Bamako, Mali.

Pendant deux années consécutives, 1983 et 1984, S. rostrata a été utilisé comme engrais vert pour la culture du riz dans les terres irriguées de l'Office du Niger (ON).

Trois traitements ont été réalisés à raison de 10 répétitions : 1) témoin sans azote ; 2) apport de 100kg N sous forme d'urée ; 3) culture de Sesbania et enfouissement après 8 - 10 semaines. En 1983 les parcelles ayant reçu les traitements étaient de 4m², tandis qu'en 1984 elles ont été étendues à 25m², mais sur un terrain différent du premier pour éviter tout effet du premier essai. Les variétés de riz utilisées étaient MALIRAT BH2 la première année et D52-37 la deuxième année.

Au cours des deux années suivantes, c'est à dire 1985 et 1986, l'effet résiduel (ou arrière effet) a été étudié seulement au niveau des parcelles de 25m² avec la variété de riz D52-37.

En 1983 le rendement grain (6,03 t/ha) et l'azote total de la matière végétale récoltée (957 g N/m²) ont été significativement différents de ceux du témoin (4,15 t/ha et 545 g N/m²) et de la fumure minérale azotée (4,98 t/ha et 738g N/ha).

Les résultats obtenus en 1984 sont similaires à ceux de 1983.

En ce qui concerne l'effet résiduel, les résultats ne montrent pas de différence significative entre les différents traitements mais le rendement en grain reste plus élevé dans les parcelles ayant l'engrais vert.

LA NODULATION CAULINAIRE CHEZ AESCHYNOMENE

D. ALAZARD et E. DUHOUX*. Laboratoire de Microbiologie, ORSTOM, BP 1386, DAKAR, SENEGAL.

* BSSFT/CTFT, Nogent/Marne, FRANCE.

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 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 à 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 cauli-

naires des plantes de deux des groupes d'inoculation croisée présentent des propriétés exceptionnelles. En effet, ce sont les seuls Rhizobium 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 micro-parcelles 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.

RECHERCHE PLURIDISCIPLINAIRE SUR SESBANIA ROSTRATA ET D'AUTRES LEGUMINEUSES A NODULES CAULINAIRES DE MADAGASCAR

L.H. RAKOTOVAO. Ministère de la Recherche Scientifique et technologique pour le Développement, Madagascar

Un certain nombre d'espèces de la famille des légumineuses existant à Madagascar ont fait l'objet de recherches intensives à cause de leur capacité de nodulation importante observée sur l'appareil caulinaire. Une espèce du genre Sesbania très proche de Sesbania rostrata du Sénégal a été localisée dans les milieux humides et exondés de la Côte Ouest (Sud-Ouest et Nord-Ouest) à climat chaud et sec (4-5 mois de plus par an). Elle cohabite avec une autre espèce sans nodosités caulinaires dont les caractères intermédiaires entre les deux espèces portent sur la quantité des nodules de tige, sur le port général et la taille de certains individus des populations observées.

Trois espèces d'Aeschynomene ont été observées sur les hauts-plateaux : A. uniflora, A. schimperi, A. sensitiva. Leur nodulation sur la base des tiges semble être tributaire de la présence ou de l'absence de la lame d'eau.

Afin de pouvoir utiliser ces espèces comme engrais verts en riziculture, des recherches botaniques, physiologiques et agronomiques ont été entamées par des équipes appartenant à divers organismes nationaux. Sur le plan botanique les travaux consistent à préciser la position taxonomique de Sesbania rostrata de Madagascar vis à vis de l'espèce originaire du Sénégal. Des graines importées du Sénégal ont montré des différences sur la morphologie et la croissance et ceci nécessite encore l'étude des facteurs du milieu en conditions naturelles respectives, une étude plus fine de cytogénétique.

Du point de vue physiologie les recherches actuelles concernent la comparaison des différentes espèces engrais verts sus-mentionnés sur certains points dont la germination, leur comportement vis à vis de la photopériode, l'influence des hauteurs d'eau sur la nodulation, la fixation d'azote par activité réductrice d'acétylène.

Enfin, les essais d'application agronomique ont été

entrepris par la FOFIFA en procédant à des tests de comportement et d'enfouissement en divers endroits pour déterminer les conditions optimales d'utilisation des engrais verts dans les différentes zones rizicoles malgaches.

POSSIBILITES D'UTILISER DES LEGUMINEUSES A NODULATION CAULINAIRE DANS LA RIZICULTURE MALGACHE

R. FETIARISON*, D. MONTANGE, C. SAMSON. *Laboratoire Microbiologie, FOFIFA Tsimbazaza BP 4096 Antananarivo, MADAGASCAR

Pour la première fois, une expérimentation sur l'utilisation de légumineuses à nodulation caulinaires en tant qu'engrais vert pour la riziculture irriguée a été conduite en deux lieux de Madagascar : sur les Hauts-Plateaux à Betafo (1400m) et sur la côte Sud-Ouest à Tanandava Station, au niveau de la mer.

A Betafo, on a comparé le développement de trois espèces d'Aeschynomene : Aeschynomene sensitiva, Aeschynomene schimperi et Aeschynomene uniflora et deux types de Sesbania : Sesbania rostrata de Madagascar et Sesbania rostrata du Sénégal.

A Tanandava, seuls les deux types de Sesbania ont été comparés.

Sur les Hauts-Plateaux, Aeschynomene uniflora et Aeschynomene sensitiva ont donné des productions de matière sèche compatibles avec un usage en tant qu'engrais vert. Mais il n'est pas envisageable de réaliser cette culture d'engrais vert avant le repiquage du riz. En effet la croissance de ces deux légumineuses n'est pas satisfaisante en début de saison pluvieuse, les températures n'étant pas assez élevées.

Sur la côte ouest, la forte croissance des Sesbania en cinquante jours permet d'envisager favorablement l'introduction d'une culture d'engrais vert dans le calendrier rizicole traditionnel. D'autre part, il est apparu que les deux types de Sesbania ont des caractéristiques végétales différentes ; le Sesbania du Sénégal, du fait de sa croissance très rapide en début de cycle, semble avoir des caractéristiques plus favorables.

ROLE NEMATICIDE DE SESBANIA ROSTRATA

PARISELLE A. Laboratoire de Nématologie, ORSTOM Dakar, SENEGAL

Des tests ont été menés au laboratoire de Nématologie de l'ORSTOM afin de comparer les réactions du nématode parasite du riz Hirschmanniella oryzae mis en présence de riz ou de Sesbania rostrata. Aucune différence n'est notée

pour la pénétration du nématode, son développement et sa reproduction dans les racines des deux plantes. L'effet "nématocide" du Sesbania intervient lorsque le nématode, endoparasite, veut quitter les tissus du Sesbania pour infester d'autres plantes. Il reste bloqué dans les racines même si ces dernières sont laissées deux mois dans le sol après avoir coupé les parties aériennes, comme c'est l'usage lors de l'enfouissement du Sesbania comme engrais vert.

Un essai agronomique incluant l'effet engrais vert et l'effet "nématocide" montre la réalité de ces deux phénomènes et leur importance relative : l'effet engrais vert reste prépondérant mais l'effet nématode et donc "nématocide" est sensible.

Il est rappelé que l'utilisation du Sesbania doit être limitée aux rizières des pays ne présentant pas de nématodes du genre Meloidogyne, ceux-ci étant en effet extrêmement pathogènes pour le riz et n'étant absolument pas sensibles à l'effet "nématocide" du Sesbania bien au contraire.

USE OF SESBANIA ROSTRATA IN ALLEY CROPPING SYSTEMS

K. MULONGOY and N.V. NGUU. International Institute of Tropical Agriculture, P.M.B. 5320, Ibadan Nigeria.

The potential of Sesbania rostrata as green manure was assessed for rice and maize in Southern Nigeria. Stem and root nodulation occurred freely at all experiment sites on both Alfisols and Ultisols, with peak nodulation at podding stage. Nitrogen content and plant dry weight of sesbania responded positively to 30 and 120 kg N/ha at low soil P, but not when single superphosphate was also applied at rates of 30 or 90 kg P/ha. Similarly, response to fertilizer P was more significant at low soil N than when fertilizer N was added. Pot trial results indicated up to 65% rice and maize yield increase following the use of sesbania leaves as green manure.

The highest yield increases were obtained when 50 g of leaves were applied to 10 kg of soil at the planting of maize or within 0 to 4 weeks after transplanting rice seedlings. Field trials confirmed that the green manure value sesbania was high when the prunings were applied near the time of transplanting rice.

Hydromorphic and irrigated rice benefited from sesbania prunings applied from external sources or in alley cropping systems. Intercropping with sesbania did not affect rice growth adversely. Application of sesbania prunings increased rice grain yields by 15-50%, with an average N contribution of 30 kg/ha representing about 50% of the total N released during decomposition of sesbania. The poor dry matter production of sesbania in drylands resulted in insignificant contribution to the growth and yield of maize.

NODULATION PATTERN AND CROSS-INOCULATION OF SESBANIA ROSTRATA WITH SOME NITROGEN FIXING TREES IN NIGERIA.

N. SANGINGA. International Atomic Energy Agency Soil Science Unit Joint FAO/IAEA Programm A-2444 Vienna, Austria.

Rhizobium strains isolated from Leucaena leucocephala, Sesbania rostrata, S. grandiflora, S. punctata, Tephrosia vogelii and Acacia albida growing in Nigerian soils were characterized and tested for their ability to nodulate these hosts. Isolates from L. leucocephala, S. grandiflora and S. punctata were fast growing and acid producers whereas those from A. albida and T. vogelii were slow-growing and alkali producers. Some of these isolates grew in the presence of 500 µg/ml of streptomycin. All test species formed nodules with their own rhizobial isolates. For non host strains, two Rhizobium strains from S. rostrata stem nodules formed effective nodules on L. leucocephala whereas those obtained from root nodules were ineffective. However, in pot studies, total nitrogen produced by S. rostrata stem rhizobia was comparable to that of ineffective Leucaena rhizobia in spite of their relatively high nitrogenase activity. S. rostrata failed to nodulate with rhizobia from L. leucocephala. S. grandiflora and S. punctata were extremely specific whereas A. albida was relatively promiscuous.

SESSION 6
PROGRESS IN
PLANT ENGINEERING

EXPRESSION OF COAT PROTEIN GENES IN TRANSGENIC PLANTS CONFERS PROTECTION AGAINST CUCUMBER MOSAIC VIRUS AND POTATO VIRUS

N-H. CHUA*, C. HEMENWAY**, K. O'CONNELL**, M. CUOZZO*, R-X. FANG*, W. KANIEWSKI**, N. TUMER**

*Laboratory of Plant Molecular Biology, The Rockefeller University, New York, NY, USA.

**Monsanto Company, St. Louis, MO, USA.

Cross-protection, a phenomenon in which infection of a plant with one strain of virus protects against superinfection with a second related virus, has been observed with a number of viruses and viroids. Cross-protection has been successfully applied in agriculture and has been effective with a number of viral diseases. Beachy and co-workers have recently reported that transgenic plants expressing high levels of TMV coat protein (CP) either did not develop an infection or developed disease symptoms slower than the control plants after inoculation with TMV. We have extended this phenomenon of genetically engineered cross-protection to two additional viruses, potato virus X (PVX) and cucumber mosaic virus (CMV).

The filamentous PVX is a type member of the potexvirus group while CMV, which infects at least 800 species of monocots and dicots, is a member of the cucumovirus group. We have inserted the coat protein gene of both viruses into a plant expression cassette which is comprised of the CaMV 35S promoter and the pea rbcS-E9 3' polyadenylation signal. The chimeric CP genes were transferred into tobacco and transgenic plants were recovered that expressed CP at high levels (0.1% of total soluble protein). Progeny of self-fertilized transgenic plants that contained the CP genes and progeny of plants containing the ~~expression vector~~ sequences alone were inoculated with the appropriate virus and symptom development was monitored. We found that the PVX CP transgenic plants showed reduced lesion numbers on the inoculated leaves as compared to the vector controls. Moreover, one month after inoculation 100% of the vector controls developed systemic symptoms, while only 40 to 50% of the transgenic plants showed systemic symptoms. Similar results were obtained with CMV CP transgenic plants. Interestingly, transgenic plants expressing anti-sense transcript of the CMV CP gene also displayed moderate protection against CMV at low challenge inoculum concentration. Our results with PVX and CMV demonstrate that genetically engineered cross-protection is a generally applicable method for conferring disease resistance in plants.

SOMMAIRE

SOMMAIRE / ABSTRACT

- | | | |
|-------|-------------------|---|
| 22 | ALAZARD D. | Laboratoire de Microbiologie, ORSTOM, BP 1386, Dakar, Sénégal. |
| 17 | BASNET B.M.S. | Department of Agriculture, c/o P.P. Gorkhaly, Director General, Harihar Bhawan, Pulchowk, Lalitpur, Népal. |
| 7 | DE BRUIJN F.J. | Max Plank Institut Fur Zuchtungs forschung D5000, Koln 30, RFA. |
| 10,27 | CHUA N.H. | Laboratory of Plant Molecular Biology The Rockefeller University 1230 York Avenue, New York, 10021-6399, USA. |
| 5 | COLONNA-ROMANO S. | International Institute of Genetics and Biophysics, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli, Italy. |
| 27 | CUOZZO M. | Laboratory of Plant Molecular Biology, The Rockefeller University, New York, NY, USA. |
| 2 | DENARIE J. | Laboratoire de Biologie Moléculaire, des Relations Plantes-Microorganismes CNRS-INRA, BP. 27, 31326 Castanet-Tolosan Cedex, France. |
| 5 | DEFEZ R. | International Institute of Genetics and Biophysics, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli, Italy. |
| 3 | DENEFFLE P. | Unité de Physiologie Cellulaire, Département des Biotechnologies, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France. |
| 3 | DESNOUES N. | Unité de Physiologie Cellulaire, Département des Biotechnologies, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France. |
| 1,13 | DREYFUS B. | ORSTOM, BP. 1386 Dakar, Sénégal |
| 13 | DOMMERGUES Y.R. | BSSFT (ORSTOM/CTFT), 45 bis Av. de la Belle Gabrielle, 94736 Nogent sur Marne, France. |
| 11,22 | DUHOUX E. | BSSFT (ORSTOM/CTFT), 45 bis Av. de la Belle Gabrielle, 94736 Nogent sur Marne, France. |
| 21 | EL BASSEL A. | Head of Agricultural Microbiology Department Faculty of Agriculture Cairo University Fayoum, Egypt. |
| 3 | ELMERICH C. | Unité de Physiologie Cellulaire, Département des Biotechnologies, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France. |
| 27 | FANG R.X. | Laboratory of Plant Molecular Biology, The Rockefeller University, New York, NY, USA. |
| 24 | FETIARISON R. | Laboratoire Microbiologie FOFIFA Tsimbazaza BP 4096 Antananarivo, Madagascar. |
| 4 | GAO M. | Laboratorium voor Genetica, Rijksuniversiteit Gent, B-9000 Gent (Belgium). |
| 1 | GARCIA J.L. | Laboratoire de Microbiologie, ORSTOM, Université de Provence. 13331, Marseille, France. |

14	GARCIA M.	Departement of Soil Microbiology the International Rice Research Institute P.O. Box 933, Manila, Philippines.
1	GILLIS M.	Laboratorium voor Genetica, Rijksuniversiteit Gent, B-9000 Gent, Belgium.
4	GOETHALS K.	Laboratorium voor Genetica, Rijksuniversiteit Gent, B-9000 Gent, Belgium.
27	HEMENWAY C.	Monsanto Company, St. Louis, MO, USA.
7	HILGERT U.	Max Plank Institut Fur Zuchtungs forschung D5000, Koln 30, RFA.
7	HOFFMANN H.J.	Max Plank Institut Fur Zuchtungs forschung D5000, Koln 30, RFA.
4	HOLSTERS M.	Laboratorium voor Genetica, Rijksuniversiteit Gent; B-9000 Gent (Belgium).
5	IACCARINO M.	International Institute of Genetics and Biophysics, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli, Italy.
10	JONARD R.	Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Laboratoire d'Histophysiologie et Radiologie Végétales, Pl. E. Bataillon, 34060 Montpellier Cedex, France.
2	KAHN D.	Laboratoire de Biologie Moléculaire des Relations Plantes-Microorganismes CNRS-INRA, BP. 27, 31326 Castanet-Tolosan Cedex.
27	KANIEWSKI W.	Monsanto Company, St. Louis, MO, USA.
3	KAMINSKI A.	Unité de Physiologie Cellulaire, Département des Biotechnologies, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France.
16	KULASOORIYA S.A.	Department of Botany, University of Peradeniya and the Institute of Fundamental Studies, Kandy, Sri Lanka.
3	KUSH A.	Unité de Physiologie Cellulaire, Département des Biotechnologies, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France.
21	LAHBIB MESSAOUD	Ecole normale supérieure, Bamako, Mali.
14	LADHA J.K.	Department of Soil Microbiology, The International Rice Research Institute P.O. Box 933, Manila, Philippines.
9	de LAJUDIE P.	Laboratoire de Biologie des Sols, O.R.S.T.O.M., B.P. 1386, Dakar, Sénégal
5	LAMBERTI A.	International Institute of Genetics and Biophysics, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli, Italy.
6	LUDWIG R.A.	Department of Biology, University of California Santa Cruz, CA. 95064, USA
18	MEE LU O.P.	Department of Soils, Punjab Agricultural University, Ludhiana, India.
4	MESSENS E.	Laboratorium voor Genetica, Rijksuniversiteit Gent, B-9000 Gent (Belgium).
7	METZ B.	Max Plank Institut Fur Zuchtungs forschung D5000, Koln 30, RFA.
14	MIYAN S.	Department of Soil Microbiology, The International Rice Research Institute P.O. Box 933, Manila, Philippines.

24	MONTANGE D.	Laboratoire Microbiologie FOFIFA Tsimbazaza BP 4096 Antananarivo, Madagascar.
11,15	MOUDIONGUI A.	ORSTOM, Université Claude Bernard- Lyon I, Laboratoire d'Ecologie Micro- bienne), Lyon, France.
25	MULONGOY K.	International Institute of Tropical Agriculture, P.M.B. 5320, Ibadan Nigeria.
18	NDOYE I.	Ministère du Plan et de la Coopéra- tion / ORSTOM, Dakar, Sénégal.
25	NGUU N.V.	International Institute of Tropical Agriculture, P.M.B. 5320, Ibadan Nigeria.
3	NOREL F.	Unité de Physiologie Cellulaire, Dé- partement des Biotechnologies, Institut Pasteur, 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris cedex 15, France.
27	O'CONNELL K.	Monsanto Company, St. Louis, MO, USA.
19	OSSENI B.	IRFA/CIRAD BP. 1740 Abidjan 01, Côte d'Ivoire.
10	PALTA A.	Laboratory of Plant Molecular Biology The Rockefeller University 1230 York Avenue, New York, 10021-6399, USA.
5	de PAOLIS A.	International Institute of Genetics and Biophysics, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli, Italy.
24	PARISELLE A.	Laboratoire de Nématologie, ORSTOM BP 1386, Dakar, Sénégal.
7	PAWLOWSKI K.	Max Plank Institut Fur Zuchtungs- forschung D5000, Koln 30, RFA.
23	RAKOTOVAO L.H.	Ministère de la Recherche Scientifi- que et Technologique pour le Dévelop- pement, Madagascar
7	RATET P.	Max Plank Institut Fur Zuchtungs- forschung D5000, Koln 30, RFA.
5	RICCIO A.	International Institute of Genetics and Biophysics, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli, Italy.
7	RIGAUD J.	CNRS UA 1114, Laboratoire de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et des Techniques, 06034 Nice Cedex, France.
11,15	RINAUDO G.	ORSTOM, Université Claude Bernard- Lyon I, Laboratoire d'Ecologie Micro- bienne), Lyon, France.
5	ROSSI M.	International Institute of Genetics and Biophysics, CNR, Via Marconi 10, 80125 Napoli, Italy.
10	SAGNE M.	Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Laboratoire d'Histo- physiologie et Radiologie Végétales, PI. E. Bataillon, 34060 Montpellier Cedex, France.
16	SAMARAKOON I.M.	Department of Botany, University of Peradeniya and the Institute of Fundamental Studies, Kandy, Sri Lanka.

24	SAMSON C.	Laboratoire Microbiologie FOFIFA Tsimbazaza, BP 4096, Antananarivo, Madagascar.
26	SANGINGA N.	International Atomic Energy Agency Soil Science Unit, Joint FAO/IAEA Programm A-2444, Seibersdorf, Vienna, Austria.
7	SCHELL J.	Max Plank Institut Fur Zuchtungs- forschung D5000, Koln 30, RFA.
7	SZABADOS L.	Max Plank Institut Fur Zuchtungs- forschung D5000, Koln 30, RFA.
4	TOMEKPE K.	Laboratorium voor Genetica, Rijksuni- versiteit Gent, B-9000 Gent, Belgium.
10	TRINH H.	Laboratory of Plant Molecular Biology The Rockefeller University 1230 York Avenue, New York. 10021-6399, USA.
27	TUMER N.	Monsanto Company, St. Louis, MO, USA.
4	VAN DEN EEDE G.	Laboratorium voor Genetica, Rijksuni- versiteit Gent, B-9000 Gent (Belgium).
20	VERNIER P.	IDESSA, Bouaké, Côte d'Ivoire.
7	WELTERS P.	Max Plank Institut Fur Zuchtungs- forschung D5000, Koln 30, RFA.
7	WONG C.H.	University of Malaysia, Pulau Penang, MALAYSIA.
17	YAMI K.D.	Department of Agriculture, c/o P.P. Gorkhaly, Director General, Harihar Bhawan, Pulchowk, Lalitpur, Népal.
16	YAO HUI QIN	Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing, China.

- CTA Centre Technique de
Coopération Agricole
et Rurale. CEE-ACP
Convention de LOME,
BP 380, 6700 AJ WA-
GENINGEN - PAYS-BAS.
- ISRA Institut Sénégalais
de Recherches Agri-
coles. BP 3120 -
DAKAR - SENEGAL.
- LGG Laboratorium voor
Genetica, Rijksuni-
versiteit, Lede-
ganckstraat 35, B-
9000 GAND - BELGIQUE.
- ORSTOM Institut Français de
Recherche Scientifi-
que pour le Dévelop-
pement en Coopéra-
tion. 213 rue La Fa-
yette, 75480 PARIS
cedex 10 -FRANCE