



# LAPSE

LMI Adaptation des Plantes et microorganismes associés  
aux Stress Environnementaux

## Rapport d'activité 2013

## Présentation

### *Direction*

**Pr Ibrahima NDOYE** (UCAD)

Co-directeur

ibrahima1.ndoye@ucad.edu.sn

ibrahima.ndoye@ird.fr

**Dr Laurent LAPLAZE** (IRD)

Co-directeur

laurent.laplaze@ird.fr

### *Comité de Direction*

Dr Yves Duval, Représentant IRD au Sénégal

Dr Alioune FALL, Directeur Général de l'ISRA

Pr Bhen TOGUEBAYE, Directeur de la Recherche de l'UCAD

Dr Vincent BADO, Directeur de la Station AfricaRice de St Louis

Dr Tala GUEYE, Directeur de la Recherche de l'Université de Thiès

### *Conseil Scientifique*

Pr Khaled MASMOUDI, International Center for Biosaline Agriculture (Dubai)

Dr Philippe NORMAND, Centre National de la Recherche Scientifique (France)

Pr Marc-André SELOSSE, Université Montpellier 2 (France)

### *Partenaires institutionnels :*

Institut de Recherche pour le Développement (IRD), Université Cheikh Anta Diop (UCAD), Institut Sénégalais de Recherches Agricoles (ISRA), AfricaRice, Université de Thiès.

### *Equipes :*

- UMR Diversité Adaptation et Développement des plantes (DIADE, IRD/UM2), Montpellier, France, Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes (LSTM, IRD/UM2/Cirad/SupagroM), Montpellier, France,
- Laboratoire Commun de Microbiologie (IRD/ISRA/UCAD), Dakar, Sénégal,
- Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales (UCAD), Dakar, Sénégal,
- Unité de Recherche en Culture *In vitro* (ISRA), Dakar, Sénégal,
- AfricaRice Sahel Station, Saint Louis, Sénégal,
- Centre National de Recherches Forestières (ISRA), Dakar, Sénégal,
- Centre d'Etude Régional pour l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (ISRA/Université de Thiès), Thiès, Sénégal.

### *Priorités thématiques :*

« Productions et sécurité alimentaires »

« Écosystèmes et biodiversité »

### *Disciplines :*

Biologie et physiologie de la production végétale

Microbiologie

Ecologie terrestre animale et végétale

## Contexte

En ce début de 21<sup>ème</sup> siècle, l'Afrique de l'Ouest doit faire face à un double défi. D'une part, sa population est en forte croissance et d'autre part, un ensemble de facteurs environnementaux et anthropiques mettent en péril la capacité de la région à nourrir cette population. Parmi les facteurs les plus importants on peut citer la forte variabilité des précipitations et la dégradation des sols (Bai et al., 2008). Cela conduit à une perte de biodiversité, une diminution de la productivité agricole et au final un accroissement de l'insécurité alimentaire et ses effets (migrations, conflits...). Pour faire face à ces problèmes, il devient urgent de développer de nouvelles stratégies pour exploiter la diversité des plantes et des microorganismes symbiotiques associés en vue d'améliorer la production agricole et réhabiliter de façon durable les écosystèmes dégradés.

Pour répondre à ces défis, le Laboratoire mixte international Adaptation des Plantes et des microorganismes associés aux Stress Environnementaux (LAPSE) a été **créé en juillet 2012** pour un mandat de 5 ans. Il fédère 58 chercheurs et ITA de l'IRD, du Cirad, de l'Université Cheikh Anta Diop (UCAD), de l'Institut Sénégalais des Recherches Agricoles (ISRA), de l'Université de Thiès et de l'AfricaRice spécialistes de biologie végétale et de microbiologie travaillant à plusieurs échelles (du gène à l'écosystème) pour développer une approche intégrative visant à mieux exploiter la biodiversité des plantes et des microorganismes pour améliorer de façon durable la production agricole et réhabiliter les écosystèmes dégradés. Leurs travaux sont réalisés en étroite collaboration avec des équipes de recherche de la sous-région. Les **objectifs scientifiques du LMI** sont 1) d'identifier les déterminants génétiques de l'adaptation des plantes et des microorganismes associés aux contraintes abiotiques, et 2) de mieux comprendre la dynamique des interactions entre plantes et microorganismes associés et leur impact sur la résilience des agro- et écosystème aux changements globaux.

L'un des premiers objectifs du LAPSE est la mutualisation des moyens matériels et humains de manière à mettre en place une **plateforme technologique à vocation régionale**. Cette plateforme sert d'appui aux projets de recherche et de formation développés dans le cadre du LMI et permet d'accueillir et de soutenir les chercheurs de la région travaillant sur l'amélioration des plantes alimentaires et la restauration des écosystèmes dégradés.

Le LAPSE soutient des **formations universitaires à vocation régionale**. Il s'agit en particulier de soutenir la mise en place d'enseignements dans des domaines peu ou pas enseignés dans la Région (génomique, bioinformatique, biosécurité,...). Ce soutien se traduit par 1) l'organisation de modules pour l'Ecole Doctorale Sciences de la Santé de l'Environnement et de la Vie et des Masters de l'UCAD à fort rayonnement régional (MIBioT, BIOVEM, Biomathématique-Bioinformatique), 2) l'organisation tous les ans d'un Atelier de formation régional (Génétique moléculaire, Bioinformatique,...) et 3) la formation par et pour la recherche. Une dizaine de thèses sont ainsi réalisées actuellement au sein du LMI.

Enfin, une attention particulière est portée à la **valorisation des recherches** en s'appuyant sur l'incubateur d'entreprises (INNODEV). L'objectif du LMI est d'utiliser une approche intégrée pour développer de nouveaux outils pour contribuer à **réhabiliter les éco- et agrosystèmes dégradés** et **assurer la sécurité alimentaire** en Afrique de l'Ouest. Les résultats de nos travaux de recherche devraient contribuer à : (i) soutenir les grands programmes de revégétalisation et réhabilitation des sols (Grande Muraille Verte, réhabilitation des sols salés, ...), (ii) sélectionner de nouvelles variétés de plantes alimentaires mieux adaptées aux contraintes environnementales (sécheresse, salinité...) rencontrées en Afrique de l'Ouest, et, (iii) proposer de nouvelles pratiques culturelles impliquant l'utilisation de microorganismes bénéfiques pour accroître la production agricole. Les différentes équipes ont une longue expérience du transfert de leurs recherches vers les producteurs. Par ailleurs, le LAPSE soutient la mise en place du laboratoire national de référence pour la détection d'OGM (UCAD) financé par l'Union Economique et Monétaire Ouest-Africaine (UEMOA).

Ce LMI s'inscrit dans les priorités scientifiques de l'IRD « Productions et sécurité alimentaires » et « Écosystèmes et biodiversité ». Il s'intègre dans le Programme Pilote Régional « Sociétés Rurales Environnement Climat ».

### Actions soutenues en 2013

Le LAPSE disposait d'un budget de 40 k€ en 2013. Le Comité de Direction du LAPSE a décidé de répartir ce budget entre **plateformes** (10 k€), **animation scientifique et formation** (10 k€) et **soutien aux projets scientifiques** (20 k€).

#### *Plateformes technologiques*

Quatre plateformes technologiques ont été mises en place dans le cadre du LAPSE en 2012 pour mutualiser les moyens humains et financiers pour mettre à disposition des équipes du LMI des outils et expertises nécessaires à leurs travaux de recherches et à la formation. L'année 2013 a été marquée par l'intégration à la plateforme de génétique moléculaire végétale du LAPSE des outils disponibles au Centre d'Etude Régional de l'Amélioration de l'Adaptation à la Sécheresse (CERAAS, Thiès). Cette intégration vient renforcer l'offre d'équipement et d'expertise disponible dans le LMI. Le Dr Daniel Foncéka (Cirad) coordonne l'accès à ces nouveaux outils.

Le LAPSE met donc à disposition les plateformes technologiques suivantes :

1) Une **Plateforme de Biologie Cellulaire**, située au LCM (Centre de recherche IRD/ISRA de Bel Air), qui met à disposition des outils et compétences en imagerie et en mesure d'activités cellulaires. Elle est coordonnée par Maïmouna CISSOKO (IRD).

2) Une **Plateforme de Génétique Moléculaire Végétale**, située à l'URCI (Centre de recherche IRD/ISRA de Bel Air) et au CERAAS, met à disposition des outils et compétences pour la caractérisation de la diversité génétique et la cartographie en utilisant des marqueurs moléculaires et des techniques de pointes de séquençage haut débit. Elle est coordonnée par les Dr Ndjido KANE (ISRA) et Daniel FONCEKA (Cirad).

3) Une **Plateforme de Génomique Fonctionnelle des Plantes**, située au LCBV (Campus UCAD), met à disposition les outils et compétences pour des expériences de biotechnologies végétales. Elle est coordonnée par le Dr Mame Oureye SY (UCAD/FAST/BV).

4) Une **Plateforme de Microbiologie**, située au LCM, met à la disposition de la communauté les outils et le savoir faire pour l'isolement et l'identification de microorganismes symbiotiques (bactéries fixatrices d'azote et champignons mycorhiziens). Cet atelier dispose également d'une collection de référence de souches de microorganismes symbiotiques. Elle est coordonnée par le Dr Tatiana WADE (IRD).

Ces plateformes sont gérées par un **comité de plateforme** formé des 5 coordinateurs et des 2 co-directeurs du LAPSE. Chaque coordinateur a constitué une équipe qui est chargée de la gestion quotidiennes des outils et d'évaluer les besoins en investissement et maintenance avec les utilisateurs. Le comité de plateforme se réunit ensuite pour faire le point des besoins en équipements, travaux et réparations pour mettre en place les différentes plateformes et arbitrer les budgets demandés. En 2013, une moitié du budget plateforme a été engagée suite à une première réunion du comité de plateforme en Avril et la deuxième moitié a été mise de côté pour faire face à des problèmes potentiels (réparations, etc.). Cette deuxième moitié augmentée du reliquat de budget a été dépensée suite à une deuxième réunion en Octobre. Ce budget a permis d'équiper une chambre de culture de la plateforme de microbiologie, de réaliser des travaux sur la plateforme de génomique fonctionnelle, la sauvegarde informatique des informations sur la collection de référence de souches microbiennes du LCM, de réaliser des maintenances et d'acheter des équipements scientifiques manquants sur les différents plateformes.

## ***Activités de recherche***

### **Valorisation**

Sur l'année 2013, les recherches menées par des chercheurs du LAPSE ont donné lieu à 6 publications dans des revues internationales à comité de lecture :

- Auguy F., Fahr M., Moulin P., Brugel A., Laplaze L., El Mzibri M., Filali-Maltouf A., Doumas P. and Smouni A. 2013. Lead tolerance and accumulation in *Hirschfeldia incana*, a Mediterranean Brassicaceae from metalliferous mine spoils. ***PLoS One***, 8(5): e61932.
- Diagne N., Arumugam K., Ngom M., Nambiar-Veetil M., Franche C., Narayanan K.K., and Laplaze L. 2013. Use of *Frankia* and actinorhizal plants for degraded lands reclamation. ***BioMed Research International***, Article ID : 948258.
- Dieng A., Ndoye I., Duponnois R and Baudoin, E. 2013. Effects of *Jatopha curcas* L. plantation on soil bacterial and fungal communities. ***Soil Biology and Biochemistry***, sous presse.
- Fahr M., Laplaze L., Bendaou N., Hocher V., El Mzibri M., Bogusz D. and Smouni A. 2013. Effect of lead on root growth. ***Frontiers in Plant Science***, 4 :175. ( PDF )
- Krasova Wade T, Le Quéré A., Laguerre G., N'Zoué A., Ndioné J.-A., do Rego F., Sadio O., Ndoye I., and Neyra M. 2013. Eco-geographical diversity of cowpea bradyrhizobia in Senegal is marked by dominance of two genetic types. ***Syst. Appl. Microbiol.*** <http://dx.doi.org/10.1016/j.syapm.2013.10.002>
- Soumare A., Diop T., Lahcen O., Bassene G., Duponnois R., and Ndoye I. 2013. Impact de *Eucalyptus camaldulensis* sur la diversité des rhizobiums associés à *Acacia senegal* et *A. seyal* au Sénégal. ***Journal of Applied Biosciences*** 67:5183– 5193.
- Thiam M., Champion A., Diouf D., and SY M.O. 2013. NaCl Effects on *In Vitro* Germination and Growth of Some Senegalese Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Cultivars. ***ISRN Biotechnology***, Article ID 382417.
- Wells D.M., Laplaze L., Bennett M., and Vernoux T. 2013. Biosensors for phytohormone quantification: challenges, solutions and opportunities. ***Trends in Plant Sciences***, 18(5): 244-249.

### **Appel à projets LAPSE 2013**

Lors de la réunion du Comité de Direction du LAPSE en mars 2013, il a été décidé de consacrer 20 k€ du budget du LMI au soutien à des projets scientifiques compétitifs. Un appel à projet a donc été lancé en février 2013. Nous avons reçu 23 demandes de financement dont 18 projets de recherche, 3 projets de formation individuelle et 2 projets de mission d'enseignement pour une demande budgétaire totale de 133 890 €. Le succès de cet appel et la qualité des projets soumis démontrent le dynamisme des équipes impliquées dans le LAPSE. Il faut souligner en particulier le nombre important de projets déposés par de jeunes chercheurs. Les projets ont été évalués par le conseil scientifique formé de 5 experts internationaux externes au LMI. A l'issue de cette évaluation, le Comité de Direction a retenu 7 projets donc 6 projets de recherche et 1 projet de formation. Les projets retenus sont :

#### **Projets "Formation"**

1) "Renforcement de capacités en analyses bioinformatiques sur les données RNAseq", Dr N. Kane, Budget alloué: 1400 €

#### **Projets "Jeune Chercheur(se)"**

1) "Utilisation de techniques d'inoculations microbiennes et de fertilisation minérale pour améliorer la productivité d'une culture négligée, le fonio (*Digitaria exilis* )", Dr F. Ndoye, Budget alloué : 3200 €

2) "Etude des mécanismes de tolérance à la salinité de *Acacia seyal* Del. et de *Prosopis juliflora* (Swartz) DC et amélioration de leur croissance sur sols salés par inoculation microbienne et apport de coque d'arachide", Dr D. Fall, Budget alloué : 3800 €

### **Projets "Equipe"**

1) "Analyse de la réponse de *Frankia* au stress salin par PCR quantitative en temps réel", Dr M.O. Sy & Dr A. Champion, Budget alloué : 3200 €

2) "Molecular marker application in breeding climate-resilient rice varieties for the Sahel region", Dr B. Manneh, Budget alloué : 3700 €

3) "Phylogénie du genre *Digitaria* en Afrique", Dr A. Barnaud, Budget alloué : 2300 €

4) "Etude de l'efficacité symbiotique de souches de *Mesorhizobium sp.* à phénotype de tolérance au sel contrasté sur *Acacia senegal* et *Acacia seyal* sous contrainte saline", F. Diouf, Budget alloué : 2500 €

Les fiches de ces projets se trouvent en annexe de ce document.

A l'issue de l'année, sur les 20100€ attribués, 18977,16€ ont été dépensés. Le reliquat a été reversé au budget des plateformes pour la commande de fin d'année.

### **Financements compétitifs**

Lors de l'année 2013, plusieurs projets soumis par des chercheurs du LAPSE sur les thématiques du LMI ont été financés par des fonds compétitifs :

- *Combining new phenotyping approaches and next generation sequencing to accelerate breeding in pearl millet, an orphan cereal from arid regions*. Fondations Agropolis et Cariplo (2014-2016). Porteurs : L. Laplaze (IRD) et F. Sparvoli (CNR, Italie). Budget total: 562 863 € dont 140 984€ attribués au LAPSE.

- *Caractérisation, valorisation et conservation des ressources phytogénétiques du fonio au Sénégal*. WAAPP (2013-2016). Porteur: Codou Gueye (ISRA).

- *Gestion durable de la biodiversité des mils penicillaires (*Pennisetum Glaucum (L.) r. br.*) du Sénégal*. WAAPP (2013-2016). Porteur: Ndjido Kane (ISRA).

- *Auto-adaptation des agroécosystèmes tropicaux face aux changements globaux ? Etude à long terme en vue d'une intensification écologique de la production de céréales dans les zones de savanes en Afrique de l'Ouest*. ANR (2013-2017). Porteur: Dominique Masse (IRD).

- *AfriCrop: Documenting African Crop Domestication*. ANR (2013-2017). Porteur: Yves Vigouroux.

- *Utilisation d'inoculum microbien (symbiotique) pour améliorer la productivité et la conservation post-récolte des graines d'arachide et de niébé*. FIRST (2013-2016). Porteur : Dioumacorr Fall (ISRA).

- *Etude des conditions d'adaptabilité du *Jatropha curcas L.* et sa valorisation pour la sécurité alimentaire dans les pays de la GMV (FRAB-Jatropha)*. Projet de recherche Tripartite France Afrique Brésil. Porteur : Sevastianos ROUSSOS (IRD)

### **Animation scientifique**

Les 1<sup>ères</sup> **jours du LAPSE** se sont tenues les 12 & 13 février 2013 sur le Campus UCAD2 (Dakar). Ces journées suivies par une cinquantaine de personnes ont été l'occasion pour les différentes équipes participant au LAPSE de présenter les résultats de leurs travaux de recherche et de discuter des actions de formation et de valorisation. Etaient en particulier présents les Directeurs des UMRs DIADE et LSTM et le Pr K. Masmoudi de l'International Center for Biosaline Agriculture (Dubai, E.A.U.) et membre du Conseil Scientifique du LAPSE.

Comité scientifique : Pr Amadou BÂ (IRD, LCM), Dr Ndjido KANE (ISRA, URCI), Dr Laurent LAPLAZE (IRD, LCM), Pr Ibrahima NDOYE (UCAD, LCM), Dr Mame Ourèye SY (UCAD, LCBV).

**Programme :**

12 Février 2012

9h00 : Cérémonie d'ouverture en présence des représentants du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, de l'UCAD, de l'ISRA, de l'Université de Thiès et de l'IRD.

10h30 : « *Présentation du LAPSE* »

Pr Ibrahima NDOYE (UCAD) et Dr Laurent LAPLAZE (IRD)

11h : « *Présentation des actions pour 2013* »

Pr Ibrahima NDOYE (UCAD) et Dr Laurent LAPLAZE (IRD)

11h30 : « *Le Master International de Biotechnologies Tropicales* »

Dr Djibril Sané (UCAD)

11h50 : « *Présentation de l'incubateur INNODEV* »

Dr Diégane Diouf (UCAD)

12h10 : Déjeuner

14h : « *Présentation des plateformes* »

Maïmouna CISSOKO (IRD), Dr Leïla ZEKRAOUI (IRD), Dr Mame Ourèye SY (UCAD) et Dr Tania WADE (IRD)

14h30 : *Visite de la Plateforme de Génomique Fonctionnelle (Campus UCAD)*

Dr Mame Ourèye SY (UCAD)

13 Février 2012

Exposés scientifiques - Modérateur : Dr Serge HAMON (IRD, UMR DIADE)

9h : « *Génomique fonctionnelle de la tolérance aux stress abiotiques chez les céréales* »

Pr Khaled MASMOUDI (International Center for Biosaline Agriculture, Dubaï)

10h : « *Exploitation de la diversité génétique du riz pour améliorer sa tolérance aux stress abiotiques* »

Dr Baboucarr MANEH (AfricaRice Sahel Station)

10h15 : « *Caractérisation in vitro de la réponse au stress salin et mise au point d'une méthode de transformation génétique de variétés de niébé cultivées au Sénégal* »

Mahamadou THIAM (LCBV)

10h30 : Pause Café - Session Poster

Exposés scientifiques - Modérateur : Dr Mame Ourèye SY (UCAD, LCBV)

11h00 : « *Diversité et adaptation des céréales Africaines* »

Adeline BARNAUD (IRD, URCI)

11h15 : « *Amélioration de l'adaptation à la sécheresse du sorgho* »

Dr Mame Codou GUEYE (ISRA, CERAAS)

11h30 : « *Utilisation des espèces sauvages du genre Arachis pour l'amélioration de l'adaptation de l'arachide (A. hypogaea L.) au stress hydrique* »

Dr Daniel FONCEKA (Cirad, CERAAS)

11h45 : « *Etudes préliminaires de Zeitrlope un photorécepteur circadien chez Vigna unguiculata* »

Pr Diaga DIOUF (UCAD, LCBV)

12h00 : Déjeuner - Session Poster

Exposés scientifiques - Modérateur : Dr Michel LEBRUN (IRD, UMR LSTM)

14h : « *Etude de l'adaptation des bêta-rhizobiums à la symbiose* »

Dr Michel LEBRUN (IRD, LSTM)

14h15 : « *Caractérisation symbiotique d'une collection de souches de Frankia* »

Mariama NGOM (LCM)

14h30 : « *Etude des étapes précoces de la symbiose actinorhizienne : caractérisation fonctionnelle des gènes Cg12 et CgZF1* »

Issa DIEDHIOU (LCM)

14h45 : « *Économie d'azote dans les systèmes de culture vivrière : valorisation de la fixation symbiotique et asymbiotique* »

Dr Saliou FALL (ISRA, LCM)

15h : Pause Café - Session Poster

Exposés scientifiques - Modérateur : Dr Mame Codou GUEYE (ISRA, CERAAS)

15h30 : « *Mécanismes d'adaptation des plantes et de leurs symbiotes fongiques à la salinité : aspects écophysiologicals et moléculaires* »

Pr Amadou BÂ (IRD, LCM)

15h45 : « *Mécanismes de tolérance au sel chez les arbres tropicaux de la famille des Casuarinaceae* »

Hermann PRODJINOTO (LCM)

16h00 : « *Etude comparative de la phénologie et de la production de gomme arabique des provenances locales d'Acacia senegal (L.) Willd dans l'essai de Dahra (Sénégal)* »

Mame Sokhna SARR (CNRF)

16h15 : « *Impact de l'inoculation rhizobienne sur la fertilité des sols rhizosphériques de différentes provenances d'Acacia senegal (L.) Wild. en fonction du type de sol* »

Dr Niokhor BAKHOUM (LCM)

16h30 : « *Valorisation de la recherche* »

Hamet Sow (ASPRODEB)

17h : Discussion générale - Clôture

Cette conférence a fait l'objet d'un article dans le journal Le Soleil du 28 Février 2013 (copie en annexe).

### **Formation**

L'avènement des nouvelles technologies de séquençage à haut débit est une véritable révolution pour la recherche en science de la vie. Depuis plusieurs années, le nombre de projets de séquençage de génome complet a explosé. Une forte compétence en bioinformatique est désormais indispensable à la fois pour bien exploiter la masse de données génomiques librement accessibles mais aussi gérer les projets de séquençage.

Le LMI LAPSE et le plateau bioinformatique i-trop du centre IRD Montpellier (UMR DIADE/RPB/TransVIIH/MIVEGEC, <http://bioinfo.mpl.ird.fr>) ont organisé une **1<sup>ère</sup> Ecole thématique régionale en bioinformatique appliquée à la génomique** du 4 au 8 Novembre dernier sur le Campus de l'UCAD (Dakar). Cette formation a été suivie par 18 participants (étudiants en thèse, chercheurs, professeurs) dont la moitié venant de pays autres que le Sénégal (Bénin, Burkina Faso, Cameroun, Côte d'Ivoire, Gabon, Mali). Elle a été financée par le LMI LAPSE, l'AIRD, le LMI Patho-bios, les UMRs DIADE et RPB, l'école doctorale SEV, le CRCF ainsi que l'Ambassade de France au Sénégal.

L'école s'est déroulée sous forme de modules alternant formation pratique et cours fondamentaux; les différents thèmes abordés allaient d'une introduction à la génomique et à la bio-informatique, à la réalisation d'analyse de données de type NGS (Galaxy) en passant par une formation à Linux et à l'utilisation de logiciels sous linux (Blast, logiciels d'alignements, suite EMBOSS, analyse de données NGS). Les cours et TD ont été assurés par Alexis Dereeper, Bruno Granouillac et Christine Tranchant-Dubreuil de la plateforme i-trop. Le Dr Michel Delseny (CNRS) a également échangé avec les participants à l'école thématique et donné une conférence intitulée « **A la découverte des gènes des plantes** » à l'Institut Français de Dakar en leur présence.

L'organisation de l'école thématique a été coordonnée par Christine Tranchant-Dubreuil, le Pr Ibrahima Ndoye, Alexis Dereeper, et le Dr Laurent Laplaze avec l'aide d'un comité d'organisation formé des Dr Mouhamadou Diallo (UCAD), Dr Mame Oureye Sy (UCAD), Dr Daniel Fonckea (Cirad), Dr Ndjido Kane (ISRA), et Dr Antony Champion (IRD).

Suite à la formation, un espace privé sur le site Web LAPSE ainsi qu'une liste de diffusion (ecole-bioinfo.dakar@listes.ird.fr) ont été créés pour permettre la poursuite des échanges entre étudiants et formateurs. Une partie des contenus pédagogiques sera mis en accès libre



sur le site du LAPSE. Par ailleurs, une partie des modules devrait être intégrée dans le Master de Biomathématique-Bioinformatique de l'UCAD en 2014. Enfin, vu le fort succès rencontré par cette formation (plus de 70 candidatures), elle sera reconduite l'année prochaine dans un autre pays de la sous-région.

### ***Communication***

Un site Web dédié au LAPSE ([www.lapse.ird.fr](http://www.lapse.ird.fr)) a été créé en 2012 suite à la demande des co-directeurs. Une version anglaise a été mise en ligne en 2013. Ce site permet de présenter les activités de recherche, les plateformes technologiques et les activités de formation du LAPSE. Il permet également de communiquer les actualités du LMIs. Ce site a été visité par plus de 3400 visiteurs différents en 2013.

## Conclusion - Perspectives

En conclusion, après une année 2012 consacrée au démarrage du LMI et en particulier à la mise en place des structures décisionnelles et des plateformes, l'année 2013 a vu une montée en puissance des activités du LMI en recherche et en formation. Cela s'est traduit entre autres par les premières publications du LAPSE dans des journaux internationaux à comité de lecture. On peut également noter la capacité des chercheurs du LMI à obtenir des fonds compétitifs pour soutenir les actions de formation ou de recherche.

Plusieurs évolutions majeures sont prévues en 2014 :

1) Elargissement du LMI : le Laboratoire de Biotechnologie des Champignons de l'UCAD a fait part de sa volonté d'intégrer le LAPSE en 2014. Le responsable de ce laboratoire est en train de constituer un dossier qui sera évalué par le Comité Scientifique puis le Comité de Direction du LAPSE.

2) Association au Cirad : Une association du Cirad au LMI LAPSE est en cours d'étude. Elle porterait en particulier sur les problématiques « céréales sèches » et associerait des chercheurs de l'UMR AGAP. L'expatriation d'un chercheur Cirad au CERAAS est prévue en 2014.

3) Nouvelle plateforme technologique : Dans le cadre de l'association au Cirad, la création d'une plateforme de phénotypage des plantes au CERAAS est également envisagée. Cette plateforme permettrait de mettre à disposition des outils de suivi aux champs de la physiologie et des performances de plantes alimentaires et en particulier de céréales.

4) Association avec le LMI RICE (Vietnam) : Le LMI RICE basé à Hanoï (Vietnam) développe des recherches sur la génomique fonctionnelle du riz et sa réponse à des stress biotiques et abiotiques. Une association entre LMIs LAPSE et RICE est envisagée pour favoriser les échanges sur les thématiques portant sur la culture et l'amélioration du riz pour la tolérance aux stress abiotiques. Dans ce cadre, un projet de convention Université des Sciences et Technologies de Hanoï - UCAD est à l'étude pour permettre les échanges d'étudiants et enseignants-chercheurs. Dans le même ordre d'idée, une proposition de Projet d'enseignement Afrique de l'Ouest / Asie du Sud Est en sciences agronomiques associants LMIs RICE, LAPSE, IESol, LUSES et Patho-Bios devrait être déposé en réponse à l'appel à idée de la fondation Agropolis.

Enfin, le LAPSE soutiendra en 2014 une formation régionale en Génétique moléculaire végétale appliquée à l'amélioration des plantes qui sera organisée au CERAAS. Les 2èmes journées du LAPSE se tiendront les 18 et 19 février 2014 à l'UCAD (Dakar).

## Rapport Financier 2013

<b>Budget 2013</b>	<b>41 500,00 €</b>
Dotation IRD	40 000,00 €
Financement PPR SREC (Réunion inter LMIs)	1 500,00 €
<b>Dépenses :</b>	
<b>Plateformes</b>	<b>12 560,74 €</b>
<u>Achat de matériel</u>	7 338,14 €
<u>Travaux</u>	1 332,40 €
<u>Maintenance &amp; Réparations</u>	719,56 €
<u>Prestations diverses (transitaire, etc...)</u>	3 170,63 €
<b>Recherche</b>	
<u>Financement 6 Projets de recherche</u>	17 609,11 €
<b>Animation Scientifique</b>	<b>4 173,30 €</b>
<u>1<sup>ères</sup> journées du LAPSE</u>	3 173,30 €
<u>Visite co-directeur à la direction de l'IRD</u>	1 000, 00 €
<b>Formation</b>	<b>5 799,92 €</b>
<u>Ecole thématique en Bioinformatique appliquée à la génomique</u>	4 290,24 €
<i>co-financement (AIRD, Ambassade de France, etc)</i>	<i>14 612 €</i>
<u>Missions d'enseignement</u>	1 210,82 €
<u>Mission de formation</u>	1 368,05 €
<u>Module Génomique, Master BIOVEM, UCAD</u>	38,11 €

## Renforcement des capacités en analyses RNAseq

**Porteur : Ndjido Kane (ISRA)**

**Equipes et personnes impliquées : Equipe URCI (ISRA/IRD), IRD UMR DIADE, plateforme de Bioinformatique de l'IRD Montpellier.**

### Objectifs

Effectuer des analyses de transcriptome chez 85 lignées (RILs) de mils.

### Travaux effectués et Résultats

*En indiquant la valorisation le cas échéant*

Lieu d'exécution: Montpellier, France

Périodes: 30 Novembre au 15 Décembre 2013

#### Déroulement de la formation

Des données NGS ont été générés par l'équipe Dynadiv dans le cadre de projets ARCAD et BioAdapt. Des analyses préliminaires ont permis d'assembler un transcriptome de référence (comptant environ 50313 contigs) et d'obtenir un *mapping* des *reads*. Au cours de cette formation, je me suis familiarisé avec l'utilisation du *cluster*, des outils d'analyses de transcriptome et quelques commandes linux.

Des séances de travail se sont tenues avec l'équipe bioinformatique et les membres de Dyanadiv afin d'avancer les analyses de transcriptome.

#### Résultats obtenus

Le niveau d'expression des 50313 contigs (comptage des reads) pour chacun des 85 lignées de mils a été obtenu.

Mes capacités en analyses RNAseq ont été renforcées, et des mesures pour continuer ces analyses à partir de Dakar ont été mises en place.

**Budget demandé (euros) : 1400 €**

#### Dépenses effectuées :

<b>Billet d'avion Dakar/Montpellier A/R</b>	<b>968,05 €</b>
<b>Forfait séjour</b>	<b>400,00 €</b>

**Co-financement du WAAP pour les frais de séjour.**

# Phylogénie du genre *Digitaria* en Afrique

**Porteur :** Adeline BARNAUD, [adeline.barnaud@ird.fr](mailto:adeline.barnaud@ird.fr)

**Equipes et personnes impliquées :**

- **IRD**, LAPSE: Adeline BARNAUD; Jéssabelle PIQUET; Leila Zekraoui
- **Cirad**, UMR AGAP: Claire BILLOT
- **UCAD**: Ablaye NGOM; Mame Samba MBAYE

## Objectifs

L'objectif global de ce projet est de caractériser les relations phylogénétiques au sein du genre *Digitaria*.

## Travaux effectués et Résultats

*En indiquant la valorisation le cas échéant*

### Collections d'échantillons d'herbiers et extraction d'ADN

Cent-quatre-vingt-trois échantillons ont été prélevés dans les herbiers de Dakar (66) et de l'IFAN (117). Ces échantillons couvrent 28 espèces de *Digitaria* (1 à 20 individus par espèces) à l'échelle de l'Afrique. Ces échantillons seront couverts par des MTA entre les herbiers, l'ISRA et l'IRD. L'ADN de ces échantillons a été extrait suivant une méthode CTAB.

### Phylogénie moléculaire du genre *Digitaria* en Afrique

Ce projet nous a permis de sélectionner les 48 échantillons dont le chloroplaste sera intégralement séquencé dans le cadre du projet ChloroDiv (T. Couvreur, 2012-2014 Agropolis International). Les données seront disponibles au cours du deuxième trimestre 2014. La phylogénie des espèces Africaines du genre *Digitaria* sera réalisée à partir de ces données.

Par ailleurs nous avons pris contact avec l'équipe ayant réalisé les premiers travaux de cladistique du genre *Digitaria* (Vega et al. 2009). Ils construisent une phylogénie moléculaire sur d'autres espèces du genre. Nous mettons en place une collaboration qui nous permettrait d'associer nos résultats.

### Etude de transférabilité des marqueurs microsatellites nucléaires et chloroplastiques.

L'histoire évolutive du fonio et ses relations avec les *Digitaria* « sauvages » sont peu ou pas connues (Henrard 1950 ; Vega et al. 2009). Pour retracer cette histoire évolutive, il faut développer des outils moléculaires. Dans le cas du fonio, nous disposons de marqueurs microsatellites chloroplastiques (Scarcelli et al. 2011) et nucléaires (Barnaud et al. 2012). L'objectif de cette partie est de tester la transférabilité de ces marqueurs développés pour *Digitaria exilis* sur d'autres *Digitaria*. Une accession par espèce a été utilisée pour tester au total 49 marqueurs microsatellites. Ces travaux seront finalisés au cours du premier trimestre 2014.

### Valorisations

La première valorisation de ce travail sera un article méthodologique : « **Cross-amplification of nuclear and chloroplastique SSR markers developed from *Digitaria exilis* to other *Digitaria* species** ».

D'autres valorisations sont prévues avec le projet ChloroDiv.

### **Formations**

Ce projet a permis l'accueil au sein des plateformes technologiques du LAPSE d'un étudiant en thèse de l'UCAD : Ablaye Ngom. Au cours de ce projet, A. Ngom a été formé aux techniques de biologie moléculaire. Sa formation se poursuivra sur les outils analytiques au fur et à mesure de l'analyse des données. Il a également obtenu en 2013 une bourse ISRA pour poursuivre sur cette thématique.

### **Remerciements**

Nous remercions les herbiers de Dakar et de l'IFAN pour la mise à disposition des échantillons et le LMI Lapse pour le financement de ce projet.

### **Références**

Barnaud A., et al. 2012. Development of nuclear microsatellite markers for the fonio, *Digitaria exilis* (poaceae), an understudied west african cereal. *Am. J. Bot.* 99: e105-7.  
Henrard J.TH., 1950. Monograph of the genus *Digitaria*. Universitaire Pers, Leiden, Netherlands.  
Scarcelli N., et al. 2011. A set of 100 chloroplast DNA primer pairs to study population genetics and phylogeny in monocotyledons. *PlosOne*, 6:e19954  
Vega A.S., et al. 2009. A morphology-based cladistic analysis of *Digitaria* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae). *Syst. Bot.* 34(2): 312-323.

### **Budget reçu : 2300 euros**

#### **Dépenses effectuées :**

Le budget a été utilisé pour :

- l'achat de consommables et de produits chimiques de laboratoire à hauteur de **1833 euros**

Ces frais couvrent le coût des :

-183 extractions à 1 euros soit : 183 euros

-1760 PCRs à 1 euros soit : 1760 euros

-Total : 1943 euros

-Une allocation mensuelle de 25,26 euros a été versé à Ablaye Ngom pour couvrir ses frais de déplacement jusqu'à Bel Air soit **152 euros**

-Une loupe binoculaire pour l'analyse des planches d'herbier : **200 euros**

**Total 2185 euros**

**Reste 115 euros**

## **Titre du projet : Analyse de la réponse de *Frankia* au stress salin par PCR quantitative en temps réel**

### **Porteur :**

Pr Mame Ourèye SY et Dr Antony CHAMPION

Emails: [oureyesy1@yahoo.fr](mailto:oureyesy1@yahoo.fr); [antony.champion@ird.fr](mailto:antony.champion@ird.fr)

### **Équipes et personnes impliquées :**

- Laboratoire Commun de Microbiologie (LCM), Dakar : Mariama Ngom, Dr Nathalie Diagne, Maimouna Cissoko et Dr Antony Champion
- Laboratoire Campus de Biotechnologies Végétales (LCBV), Dakar : Pr Mame Ourèye Sy
- Department of Molecular, Cellular and Biomedical Sciences, University of New Hampshire (UNH): Pr Louis Tisa

### **Objectifs**

Les arbres tropicaux de la famille des *Casuarinaceae*, comme *Casuarina equisetifolia*, ont la propriété d'être des espèces pionnières, très tolérantes au sel et pourraient être utilisées dans les programmes de réhabilitation des sols salés. Cette propriété est due essentiellement à l'exceptionnelle plasticité de leur système racinaire qui leur permet, entre autres, de mettre en place une symbiose fixatrice d'azote avec une bactérie du sol nommée *Frankia*.

Deux souches de *Frankia* présentant une sensibilité différente au stress salin sont en cours de caractérisation au laboratoire LCM et LCBV. La souche nommée *CcI3* est sensible au NaCl, tandis que la souche *CeD* isolée au Sénégal est tolérante à de fortes concentrations en sel. Dans le cadre d'une collaboration entre le laboratoire de Louis Tisa (USA) et le LCM (Sénégal), des données relatives aux transcriptomes de ces deux souches en réponse aux stress osmotique et salin sont en cours d'analyse.

L'objectif de ce projet est d'étudier l'expression de gènes de *Frankia* par une approche de PCR quantitative en temps réel (Q-PCR).

Les objectifs spécifiques sont les suivants :

- 1) mettre au point la technique de Q-PCR pour les souches *CcI3* et *CeD* en condition de stress salin,
- 2) valider l'expression d'une dizaine de gènes candidats par souche (*CcI3* et *CeD*) en condition de stress osmotique et salin,
- 3) étudier, au cours d'une cinétique, la dynamique d'expression de ces gènes en réponse au stress salin,
- 4) et, en dernier lieu, déterminer si l'expression de ces gènes est modulée par des concentrations croissantes en NaCl *i.e.* évaluer l'effet-dose de 50mM à 500mM, de NaCl.

### **Travaux effectués et Résultats**

*En indiquant la valorisation le cas échéant*

#### **1- Mise au point au laboratoire de la technique de Q-PCR avec *Frankia***

##### **- Extraction des ARNs**

La souche de *Frankia CcI3* a d'abord été cultivée à 28°C pendant 3 jours dans un milieu liquide BAP complet (sans NaCl). Ensuite, le culot bactérien a été récupéré par centrifugation puis lavé une fois avec de l'eau distillée stérile. Les hyphes ont été broyés dans de l'azote liquide puis 100 mg ont été prélevés pour l'extraction des ARNs avec les Kits RNeasy Plant Mini Kit de QIAGEN. La quantité des ARNs obtenus a été mesurée au Nanodrop.

**Résultats** : Des ARN totaux ont été obtenus à une concentration compatible avec les étapes suivantes de l'expérience.

##### **- Retrotranscription (RT-PCR)**

La RT-PCR a été réalisée avec 1µg des ARNs et les Kits Omniscript RT de QIAGEN.

### - Efficacité des amorces du gène normalisateur *rpsA* en Q-PCR

Toutes les réactions de Q-PCR ont été réalisées avec le StepOne Plus Q-PCR et les données ont été analysées grâce au logiciel StepOne Software v2.1. Cinq (5) dilutions de cDNA et 3 dilutions d'amorces de ce gène (1/50, 1/100 et 1/200) ont été testées avec 3 répliquats pour chaque dilution d'amorce. Les conditions de détection définies par Bickhart *et al.*, (2011) ont été appliquées : Etape 1 x1 (98°C / 2mn), Etape 2 x35 (98°C / 10s, 55°C / 15s, 65°C / 15s) et Melt Curve (95°C / 10s). La valeur d'efficacité de chaque dilution d'amorce a été calculée à partir d'une courbe standard de concentrations connues d'ADNc.

**Résultats** : La dilution d'amorce 100x s'avère être la plus efficace avec une Efficacité = 109,29%.

### 2- Analyse de l'expression de gènes candidats en condition de stress salin

Une dizaine de gènes candidats exprimés lors de la carence en azote ont été mis en évidence chez la souche de *Frankia CcI3* : *nitrogenase iron protein subunit NifH*, *pyruvate carboxyltransferase*, *hypothetical protein*, *3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase*, *amino acid adenylation protein*, *zinc-binding alcohol dehydrogenase*, *rhodanese-like protein*, *catalase*, *rpmF 50S ribosomal protein L32*, *hypothetical protein* et *CarD family transcriptional regulator*. Ces gènes sont en cours d'analyse en Q-PCR pour voir s'ils sont également exprimés en conditions de stress salin. L'efficacité des amorces de chacun de ses gènes a été évaluée en procédant de la même manière que pour le gène normalisateur.

**Résultats** : Les amorces de ces gènes ont été validés avec une Efficacité  $\approx$  100%. L'analyse des courbes de dénaturation montre que tous les couples d'amorces testés sont spécifiques. Il reste à valider le gène *nitrogenase iron protein subunit NifH*.

Le matériel biologique nécessaire à l'analyse de l'expression des gènes de *CcI3* (cités précédemment) a ensuite été généré selon la stratégie suivante (en triplicat) :

T0 : sans sel et sans carence en azote (bactéries en phase exponentielle)

- N (Azote) : carence en azote (3 jours de traitement)

+ N : sans carence en azote (3 jours de traitement)

- N + NaCl [200 mM] : carence en azote plus NaCl à 200 mM (3 jours de traitement)

A ce jour, la technique de Q-PCR est mise au point au laboratoire pour la souche *CcI3*. Ainsi, une neuf gènes candidats ont été validés (spécificité/efficacité des couples d'amorces utilisés) et le matériel biologique est prêt à être analysé.

Le programme présenté dans le cadre de ce projet prévoyait la fin des expérimentations fin janvier 2014. En décembre, les échantillons décrits précédemment seront analysés par Q-PCR et les objectifs spécifiques 3 et 4 seront réalisés en fin janvier 2014.

Par ailleurs, Mlle Mariama Ngom a obtenu une bourse de thèse de l'AIRD qui lui permettra d'effectuer un séjour de quatre mois dans le laboratoire dirigé par Louis Tisa aux USA afin de participer à l'annotation du génome et des transcriptomes de la souche de *Frankia* nommé *CeD*. Ainsi nous pourrons en parallèle transférer la technique de Q-PCR à l'analyse de l'expression des gènes de *CeD* en réponse au stress salin.

**Budget demandé (euros) : 3500€ ; budget reçu : 3200€**

**Dépenses effectuées** : 3200€ ont été utilisés pour l'achat de l'azote liquide, des kits d'extraction d'ARN, de RT-PCR, du SYBR Green, des amorces et des plaques de Q-PCR.



## Titre du projet :

Etude de l'efficacité symbiotique de souches de *Mesorhizobium* sp. à phénotype de tolérance au sel contrasté sur *Acacia senegal* et *Acacia seyal* sous contrainte saline.

**Porteur :** DIOUF Fatou, diouf.fattima@yahoo.fr

### Equipes et personnes impliquées :

**LCM:** Dr. BAKHOUM Niokhor, FALL Fatoumata, Dr. DIOUF Diégane, Prof. BA Amadou, Dr. KRASOVA WADE Tatiana, Prof. NDOYE Ibrahima

**CNRF:** Dr. FALL Dioumacor, Dr. DIOUF Mayécor

**LSTM:** Dr. MOULIN Lionel, Dr. LEQUERE Antoine, Dr. KLONOWSKA Agnieszka, Dr. BENA Gilles

### Objectifs

- Evaluer l'infectivité et l'efficacité de souches inoculées sur *A. senegal* et *A. seyal* dans des conditions de stress salin ;
- Identifier l'effet de l'inoculation avec ces microsymbiotes sur les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des sols rhizosphériques des plants d'*A. senegal* et d'*A. seyal*.

### Travaux effectués

#### Inoculation de plantes d'*A. seyal* en condition saline (expérimentation en serre)

Cette étude a porté sur 7 souches de *Mesorhizobium* d'*Acacia* (ORS 3324, ORS 3359, ORS 3356, ORS 3365, ORS1032, DJ20, Sod10) à tolérance contrastée au sel. Un test d'inoculation de plants d'*A. seyal* a été réalisé avec les 7 souches en serre sur un sol stérile à différentes conditions de stress salin 0 mM, 100 mM, 150 mM, 200 mM et 300 mM de NaCl. Les plants ont été inoculés aux semis, en raison de 5 ml/plant. Pour le traitement inoculation, trois modalités ont été adoptées à savoir : témoin non inoculé, inoculation simple (une seule souche) et mixte (cocktail des 7 souches) selon un dispositif en blocs randomisés. Le stress salin a été appliqué un mois après l'inoculation sous forme de solution saline (NaCl+eau) apportée de manière graduelle à raison de 50 mM NaCl / jour d'arrosage, afin de pallier à un éventuel choc osmotique. Pour chaque variable (modalité d'inoculation ou niveau de salinité), vingt répétitions ont été réalisées. L'expérience est maintenue en serre pendant 4 mois après l'application du sel.

Un mois après semis et inoculation et avant application du stress salin, une première récolte a été réalisée. Sur chaque traitement, cinq plants ont été prélevés pour l'étude de différents paramètres : hauteur des plants, biomasse des parties aériennes, biomasse racinaires, nombre de nodules, biomasse nodulaire, teneur relative en eau, potentiel hydrique, surface foliaire spécifique, le taux d'occupation des nodules.

#### Résultats

L'analyse statistique des résultats sur les différents paramètres mesurés est en cours de réalisation. Une analyse préliminaire sur les 20 plants prélevés par traitement d'inoculation a

été effectuée basée les résultats de la récolte réalisée avant apport de sel. Les résultats ont montré que toutes les souches inoculées (seule ou mixte) à l'exception de la souche ORS1032 induisent une nodulation chez *A. seyal*. Les plants inoculés avec les souches ORS3359 et Dj20 présentent le nombre moyen de nodules le plus élevé avec 5 nodules/plant pour une biomasse de 1mg/nodule. Cependant, nous n'avons pas encore noté un effet de la nodulation sur la croissance en hauteur des plants ni sur la production de biomasse. La nodulation précoce pourrait être en cause. En effet à un mois après inoculation, les nodules récoltés étaient de très petites tailles et peut être trop précoces pour induire une fixation d'azote efficiente et notable au niveau de la croissance des plants.

Une caractérisation des nodules récoltés est en cours de réalisation dans le but de déterminer la compétitivité des souches en inoculum mixte sur *A. seyal*. Nous avons dessiné des couples d'amorces spécifiques pour chaque souche à partir de données de génomes qui nous permettront d'identifier par réaction PCR les souches présentes dans les nodules.

L'analyse de paramètres physiologiques tels que le potentiel hydrique, la teneur relative en eau et la surface foliaire spécifique est en cours d'étude. Les données préliminaires montrent qu'en l'absence de stress salin, l'inoculation augmente le potentiel hydrique des plants comparativement aux témoins.

Dans le cadre de cette expérimentation deux autres récoltes seront réalisées avec les mêmes paramètres à mesurer que lors de cette première récolte : une récolte intermédiaire à trois mois après inoculation ; c'est à dire à deux mois après application du stress salin (en décembre) et une dernière récolte à trois mois après stress (en janvier). Une caractérisation des sols rhizosphériques des plants d'*A. seyal* sera réalisé à la fin de l'expérimentation dans le but d'évaluer l'effet de l'inoculation avec ces microsymbiotes sur les composantes physico-chimiques et microbiologiques des sols.

Ces résultats seront mis en relation avec les études de génomes et transcriptomes des souches en vue d'identifier les mécanismes impliqués dans leur tolérance au sel. En effet, l'étude de la réponse au stress salin par une approche transcriptomique de 5 des souches testées (ORS3356, ORS3365, Dj20, ORS3359 et ORS3324) est en cours, afin d'identifier les bases génétiques de l'adaptation de ces souches au stress salin. Les différents transcriptomes ont été produits en tenant compte du niveau de tolérance de chaque souche.

<b>Budget demandé (euros) : 2500 euros</b>		
<b>Dépenses effectuées :</b>		
Mission de prélèvement de sol	carburant	86,22 €
	Frais de transport de sable	228,76 €
Mise en place de l'expérimentation en serre	Achat toile plastique	82,32 €
	Achat corde	19,06 €
	Prestation service (4 personnes)	106,72 €
Achat produits	Produits chimiques	1795,93 €
	Produits de laboratoire	189,25 €
<b>Total</b>		<b>2508,26 €</b>

**Titre du projet :** Etude des mécanismes de tolérance à la salinité de *Acacia seyal* Del. *A. senegal* et de *Prosopis juliflora* (Swartz) DC et amélioration de leur croissance sur sols salés par inoculation microbienne et apport de coque d'arachide

**Porteur :** Dr Dioumacor FALL

**Equipes et personnes impliquées :**

**-Equipe CNRF :** Dr Mayécor DIOUF, Dr Tamsir MBAYE, Col Abdourahmane TAMBA,

**-Equipe LCM :** Pr Diégane DIOUF, Pr Amadou M. BA, Dr Niokhor BAKHOUM, Melle Fatoumata FALL

**Objectifs**

Notre projet a pour objectif global de contribuer à la restauration et à la valorisation des sols salés par des méthodes agro-biologiques. Les objectifs spécifiques sont :

**-OS1 :** sélectionner un inoculum microbien (rhizobium + champignon endomycorhizien) efficace pour améliorer la croissance de *A. seyal*, de *A. senegal* et de *P. juliflora* sur sols salés,

**-OS2 :** évaluer l'effet de la coque d'arachide sur la croissance de *A. seyal*, de *A. senegal* et de *P. juliflora* et les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des sols salés,

**-OS3 :** évaluer l'effet de l'inoculation microbienne et de la coque d'arachide sur la croissance et de l'expression des gènes NHX1, HKT1, AKT1 et SOS chez *A. seyal*, *A. senegal* et *P. juliflora* en conditions salines

**Travaux effectués et Résultats**

*En indiquant la valorisation le cas échéant*

**A1 : Evaluation de l'effet de la coque d'arachide sur la croissance de *A. seyal*, de *A. senegal* et *P. juliflora* et les caractéristiques microbiologiques, chimiques et physiques des sols salés**

Le substrat de croissance a été constitué de 1300 g sol non salé et non stérile de Sadioga (CR de Djilor Saloum, Dpt de Foundiougne, Région de Fatick) mélangé avec la coque d'arachide (réduite en poudre). La coque de la variété d'arachide 73-33 a été utilisée. Le choix de cette variété réside du fait qu'elle est la plus cultivée dans les régions de Fatick et de Kaolack où la salinisation des terres est plus croissante. Les graines, scarifiées, ont été prégermées sur de l'eau gélosée (0,9%) non salée puis repiquées dans des gaines (12 cm x 25 cm) contenant le substrat de croissance. Pour chaque espèce, deux facteurs ont été étudiés : le facteur coque d'arachide avec quatre niveaux (0, 4, 6, 8 T/ha) et le facteur salinité avec quatre niveaux (0, 5, 10, 15 g/l). Pour chaque espèce, un dispositif en blocs complets randomisés avec 16 traitements (4 x 4) et 10 répétitions par traitement a été effectué. Le stress salin a été appliqué après un mois de culture et de manière graduelle à raison de 2,5 g/l par jours d'arrosage jusqu'à l'atteinte de la concentration souhaitée puis arrosés avec cette même concentration tous les deux jours. Le taux de salinité a été régulièrement suivi (avant et après arrosage) avec un salinomètre. Après 4 mois de culture en serre, les paramètres de croissance (diamètre au collet, hauteur, biomasses aérienne et racinaire) et le statut hydrique (teneur relative en eau et potentiel hydrique foliaire de tige) des plants ont été évalués.

Les résultats ont montré que le NaCl a un effet négatif sur la croissance et le statut hydrique des plants mais les faibles concentrations de NaCl (5 g/l) semblent stimuler la croissance des plants. Cependant, la coque d'arachide améliore leur croissance et leur statut hydrique. Toutefois, les fortes doses de coque d'arachide (8 T/ha) semblent réduire la croissance des plants en présence de fortes concentrations de NaCl (15 g/l).

Les teneurs en chlorophylles, en proline, en K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> des feuilles et des racines de même que les caractéristiques physico-chimiques (granulométrie 5 fractions, conductivité électrique, salinité, capacité d'échange cationique, carbone, azote, phosphore, pHeau/KCl) et microbiologiques (biomasse microbienne, diversité catabolique, activités enzymatiques, respiration, minéralisation,...) des sols sont en cours d'évaluation.

En termes de valorisation, un mémoire de Licence a été produit.

**Awa Diallo et Dado Wagué, 2013.** Etude en serre de l'effet de la coque d'arachide (var 73-33) sur la croissance en conditions salines d'essences forestières à usages multiples (*Acacia senegal* et *Prosopis juliflora*). Mémoire de Licence, Université Assane SECK de Ziguinchor.

**A2 : Sélection d'un inoculum microbien (rhizobium + champignon endomycorhizien) efficace pour améliorer la croissance de *A. seyal*, de *A. senegal* et de *P. juliflora* sur sols salés**

Les plants de *A. seyal*, de *A. senegal* et de *P. juliflora* sont cultivés dans des gaines contenant 1300 g de sol non salé et non stérile de Sadioga. Un dispositif complet avec deux facteurs est utilisé pour chaque espèce: le facteur inoculation avec 4 niveaux (non inoculés, inoculés avec rhizobium, inoculés avec champignons et inoculés avec rhizobium et champignons) et le facteur salinité avec 4 niveaux (0, 5, 10, 15 g/l). Au total 16 traitements (4x4) avec 10 répétitions par traitement sont étudiés. Les plants sont inoculés au repiquage avec 5 ml d'une préculture bactérienne d'un mélange de deux souches et 20 g d'inoculum fongique mixte par gaine. Pour les souches de rhizobiums, nous avons ORS 3356 et ORS 3359 pour *A. seyal*, ORS 3574 et ORS 3593 pour *A. senegal*, Pj 34 et Pj 36 pour *P. juliflora*. Pour les champignons endomycorhiziens, les souches de *Glomus aggregatum*, *G. fasciculatum* et *G. intraradices* sont utilisées pour les trois espèces végétales. Afin de permettre la nodulation et la mycorhization, le stress salin a été appliqué après un mois de culture et de manière graduelle à raison de 2,5 g/l par jours d'arrosage jusqu'à l'atteinte de la concentration souhaitée puis arrosés avec cette même concentration tous les deux jours. Le taux de salinité est régulièrement suivi (avant et après arrosage) par un salinomètre. Les paramètres de croissance (hauteur, biomasses aérienne et racinaires), physiologiques (teneur en chlorophylles, en proline, en K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup> des feuilles et des racines, teneur relative en eau, surface spécifique foliaire, ...) seront évalués après 4 mois de culture.

Les résultats seront obtenus en Février 2014.

**-A3 : Evaluation de l'effet de l'inoculation microbienne et de la coque d'arachide sur la croissance et de l'expression des gènes NHX1, HKT1, AKT1 et SOS chez *A. seyal*, *A. senegal* et *P. juliflora* en conditions salines**

Cette activité nécessite un stage à Montpellier pour l'étude de l'expression des gènes sous la direction de Dr Valérie HOCHER. Une demande de financement sera déposée au LMI-LAPSE pour supporter les frais de stage.

**Budget demandé (euros) : 3800 euros**

**Dépenses effectuées :**

- Contribution au fonctionnement du LCM : 231,2 euros
- Mission de prospection à Sadioga : 228,7 euros
- Mission de prélèvement de 5 tonnes de sol à Sadioga : 251,4 euros
- Achat et broyage de la coque d'arachide : 76,2 euros
- Achat et repotage de gaines : 196 euros
- Couverture des plants en pépinière: 59,5 euros
- Produits chimiques (NaCl, agar,...) : 674 euros
- Analyse d'échantillons de sols et de végétaux au LAMA: 2083 euros

**Titre du projet :** Utilisation de techniques d'inoculations microbiennes et de fertilisation minérale pour améliorer la productivité d'une culture négligée, le fonio (*Digitaria exilis* L.)

**Porteur :** Fatou NDOYE

**Equipes et personnes impliquées :** LCM/UCAD (Abdala G. DIEDHIOU, Aboubacry KANE, Diégane DIOUF, Kandioura NOBA, Ibrahima NDOYE), ISRA/CNRF (Dioumacor FALL), ISRA/CRZ Kolda (Moustapha GUEYE), ISRA/LNRPV (Hasna FOUNOUNE, Adeline BARNAUD)

### Objectifs

OS1) Etudier la diversité des microorganismes symbiotiques (champignons mycorhiziens à arbuscules et bactéries PGPR) associés à des variétés de fonio de différentes provenances ;

OS2) Sélectionner des souches de microorganismes (champignons MA et bactéries PGPR) performantes pour la mobilisation des nutriments, la croissance et la productivité du fonio ;

OS3) Tester au champ (dans la station de Recherche de Sefa en Casamance) des combinaisons fertilisants-souches microbiennes sélectionnées sur la productivité du fonio.

### Travaux effectués et Résultats

*En indiquant la valorisation le cas échéant*

**Activité 1 : Prélèvements de sols et caractérisation physico-chimiques :** Des échantillonnages de sols ont été faits à Sédhiou (Casamance) et à Koungheul (région de Kaffrine) dans des champs de fonio. La caractérisation physico-chimique des sols est en cours au LAMA (Laboratoire des Moyens Analytiques, IRD, Dakar, Sénégal).

**2. Activité 2 : Isolement et caractérisation des microorganismes des sols :**

\* Caractérisation des champignons MA

- Le *Potentiel infectieux mycorhizogène (MPN)* du sol de Sédhiou a été déterminé par la méthode de Plenchette et al. (1986) et est estimé à 41,26 propagules/ 50 g de sol sec (23<41,26<106). L'expérimentation sur le MPN des sols de Koungheul est en cours.

- La *Densité de spores de champignons MA* a été réalisée sur le sol de Sédhiou et est égale à 540 spores/100 g de sols sec.

- La *diversité morphologique des spores de champignons MA* dans le sol prélevé à Sédhiou a été déterminée par la méthode de piégeage en serre. Après 5 mois de culture en serre, les spores ont été extraites et observées au microscope. Les résultats ont révélé 5 morphotypes dont 3 appartiennent au genre *Glomus*, 2 au genre *Gigaspora* et 1 au genre *Scutellospora*. La caractérisation moléculaire des spores de CMA est en cours.

- *Caractérisation moléculaire des champignons MA colonisant les racines de fonio* : pour ce faire, un piégeage a été réalisé en serre sur les sols des sites d'étude avec le fonio comme plante piège. Le piégeage a duré 6 mois et la caractérisation moléculaire des champignons colonisant les racines est en cours.

\*Caractérisation des bactéries PGPR des sols échantillonnés

- *Densité des bactéries PGPR dans le sol de Sédhiou* : Plusieurs tests d'isolement des bactéries PGPR ont été réalisés sur les milieux King B et LB. Une densité bactérienne de  $132.10^2$  CFU/g de sol a été obtenue dans le sol de Sédhiou. Par ailleurs 32 isolats bactériens ont été obtenus.

-*Activité lipolytique des bactéries PGPR* : les résultats montrent que les 32 souches bactériennes isolées sont classées en groupe selon la densité de cristaux de laurate qu'elles produisent. Ainsi, sur les 32 souches, une seule a une forte activité lipolytique, 12 une activité

moyenne, 14 une faible activité et 5 sans activité lipolytique. Parmi les 32 isolats bactériens purifiés et conservés à -80°C, seuls 7 parmi les plus actifs ont montré une meilleure croissance au cours des repiquages successifs sur boîtes de Pétri.

### **Activité 3 : Evaluation de l'impact de l'inoculation avec des espèces de champignons MA et des bactéries PGPR de la collection du LCM sur la croissance du fonio en conditions semi-contrôlées**

#### ***\*Sélection de souches de champignons MA efficaces pour la colonisation et la croissance du fonio:***

L'effet de l'inoculation sur la croissance et la mycorhization du fonio a été testé en inoculant une variété paysanne de Sédhiou avec 7 espèces de champignons MA sur du sol de Sangalkam stérilisé. Après 3 mois, les résultats ont montré que la réponse à l'inoculation varie en fonction de l'espèce de champignon MA. Les champignons MA *Glomus intraradices* et *G. aggregatum* ont donné les meilleures réponses et les espèces de champignons *G. verruculosum* et *G. ethinucatum* les plus faibles réponses en terme de colonisation racinaire. Les meilleures valeurs de biomasses sont observées chez les plantes inoculées avec *G. intraradices*, *G. aggregatum*, *G. mosseae* et *G. manihotis*.

Les champignons MA *G. intraradices*, *G. aggregatum* donnant les meilleures réponses ont été retenus pour les tests d'inoculation des variétés.

*\* Effet de l'inoculation mycorhizienne sur la croissance et la mycorhization de 7 variétés de fonio* : les 7 variétés de fonio (Sénégal, Burkina, Niger, Togo, Bénin, Mali et Guinée) ont été cultivées sur du sol de Sangalkam stérilisé et inoculées avec les deux champignons MA sélectionnés (*G. intraradices* et *G. aggregatum*). L'expérimentation a débuté en novembre 2013 pour une durée de 3 mois.

Commentaires : Ces résultats préliminaires montrent d'une part une diversité de champignons MA et de bactéries PGPR dans la rhizosphère de plants de fonio. D'autre part, pour la 1<sup>ère</sup> fois, il a été montré que le fonio est une espèce qui mycorhize ; d'où l'importance de poursuivre les études dans ce sens pour la valorisation de cette espèce négligée qui peut contribuer à la sécurité alimentaire des pays producteurs.

#### **Activités à venir :**

- Caractérisation moléculaire des champignons MA associés aux racines de fonio
- Caractérisation moléculaire des souches bactériennes PGPR des sols
- Impact de l'inoculation du fonio avec des souches de CMA et de PGPR sélectionnées sur du sol non stérilisé provenant des sites d'étude
- Impact de l'inoculation avec des souches de CMA et de PGPR sélectionnées associés à des fertilisants dans les sites de Koungheul et de Sédhiou.

Valorisation : Participation au "West Africa Regional Scientific Writing and Communication training workshop on Neglected and Underutilized Species of Plants"; 2-6 December 2013 (Cotonou, Bénin): Titre du résumé soumis: "*Improvement of the productivity of Digitaria exilis by using microbial inoculation and mineral fertilization techniques*".

#### **Budget demandé (euros) : 3700 euros**

##### **Dépenses effectuées :**

1. Missions de prospection et de prélèvement de sol à Sédhiou et à Koungheul: **1000 euros**
2. Analyses physico-chimiques de sols et séquençage : **1000 euros**
3. Produits chimiques : **990 euros**
4. Equipements (pots, seaux, gaines...) et prestations: **210 euros**
5. Contributions au labo LCM : **500 euros**

Annexe 2  
Article de presse

**Journées Lapse pour le Journal \_Le Soleil. Revue doc  
Adaptation de l'agriculture aux changements climatiques et à la réhabilitation des  
écosystèmes : l'UCAD, l'IRD, l'ISRA) avec leurs partenaires, mettent en place un  
Laboratoire Mixte International (LMI) à vocation régionale**

Des chercheurs et enseignants chercheurs de l'Institut de Recherche pour le Développement (IRD, France), du Département de Biologie Végétale de l'Université Cheikh Anta Diop, de l'Institut Sénégalais des Recherches Agricoles, de l'Université de Thiès et de l'AfricaRice de Saint Louis, se sont réunis les 12 et 13 février à l'UCAD dans le cadre des premières journées du Laboratoire mixte international Adaptation des Plantes et microorganismes associés aux Stress Environnementaux (LAPSE).

Cette cérémonie rentre dans le cadre de la volonté autorités de l'UCAD à faire de l'agriculture et de l'agroalimentaire une priorité dans l'éducation et la formation des étudiants et de la recherche doctorale.

Ces journées ont permis de lancer les activités de ce laboratoire international, fruit d'un partenariat réussi entre universités et organismes de recherches français et sénégalais. Les travaux ont été ouverts par le Professeur Mme Aminata Sall Diallo conseillère technique chargée de la Recherche et de la Coopération, représentante du Ministre de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, du Professeur Sérigne Amadou Ndiaye, Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques représentant le Professeur Saliou NDIAYE, Recteur de l'UCAD, de Mr Georges de Noni, représentant de l'IRD au Sénégal, du représentant de l'ISRA, du Dr Tala Gueye, Directeur de la Recherche de l'Université de Thiès, du Professeur Toguebaye, Directeur de la Recherche et du Professeur Kandoura NOBA, Assesseur de la Faculté des Sciences et Techniques

Ce LMI est co-dirigé par le Professeur Ibrahima Ndoye du département de Biologie Végétale de la Faculté des Sciences et Techniques et Dr Laurent Laplaze Directeur de Recherche à l'IRD.

L'objectif du LAPSE est de contribuer à adapter l'agriculture en zone sahéenne aux défis environnementaux du futur et à réhabiliter les écosystèmes dégradés. Pour cela, cette structure développe des projets de recherches sur l'adaptation des plantes et des microorganismes symbiotiques bénéfiques du sol, des actions de formation des jeunes chercheurs de la sous-Région ainsi qu'un programme de valorisation des recherches vers la société civile.

La mise en place de ce LMI devrait permettre de mutualiser les moyens matériels et humains, de mettre en place quatre (4) plateformes technologiques (Biologie Cellulaire, Génétique moléculaire végétale, Génomique fonctionnelle et Microbiologie) de très haut niveau, ouvertes vers les mondes académiques et technologiques. A ce titre, le LAPSE devrait constituer un début de réalisation de la volonté du Président de la République Macky SALL, à mettre en place et à appuyer, des communautés scientifiques fortes et des plateformes technologiques solides, des laboratoires de pointe et d'excellence, seul gage de développement de notre pays et de la sous région.

Des connaissances et des technologies appropriées seront générées en vue d'objectifs d'autosuffisance alimentaire, de création d'emplois, de richesses et partant, de développement économique pour le bien de nos populations.

Des formations universitaires à vocation régionale seront soutenues par le LAPSE. Il s'agira en particulier de soutenir la mise en place d'enseignements dans des domaines peu ou pas enseignés à l'UCAD et dans la sous région (génomique, bioinformatique, biosécurité,...).

Enfin, une attention toute particulière sera portée à la valorisation des résultats de recherches en s'appuyant sur l'incubateur d'entreprises (INNODEV), structure d'accueil et d'accompagnement aux projets de création d'entreprise innovants en liaisons avec des laboratoires de recherche et portés par des chercheurs, des étudiants ou des entrepreneurs. La création de cet Incubateur vient d'une volonté exprimée par le monde universitaire et de la recherche sur la valorisation des idées de projets innovantes à forte valeur ajoutée pour le Sénégal. Dans cette mission, les acteurs institutionnels et le secteur privé sont associés pour donner une envergure de dimension nationale

Les présentations durant ces journées ont mis en évidence le dynamisme des équipes participantes et laissé entrevoir des pistes pour l'adaptation de l'agriculture sénégalaise aux défis du futur.

Pour plus information: [www.lapse.ird.fr](http://www.lapse.ird.fr)