



UCL

Université catholique de Louvain

Faculté des sciences agronomiques

Unité des sciences du sol

**Contraintes nutritionnelles chez le bananier (*Musa spp.*)
cultivé en milieux riches en aluminium soluble et
conséquences sur sa croissance**

Thèse présentée en vue de l'obtention
du grade de Docteur en sciences
agronomiques et ingénierie biologique
par

Gervais RUFYIKIRI

Jury composé de:

Prof. T. AVELLA, UCL

Prof. J. E. DUFEY, UCL

Prof. B. DELVAUX, UCL

Prof. R. SWENNEN, KULeuven

Dr. B. JAILLARD, ENSA-INRA Montpellier

Dr. S. DECLERCK, UCL

Dr. X. DRAYE, UCL

Président

Promoteur

Promoteur

Lecteur

Lecteur

Lecteur

Lecteur

Louvain-La-Neuve, Février 2000

Contraintes nutritionnelles chez le bananier (*Musa* spp.) cultivé en milieux riches en aluminium soluble et conséquences sur sa croissance

Table des matières

Table des matières	ii
Remerciements	vi
Résumé	vii
Introduction générale	1
Revue bibliographique	5
1. La culture de bananier	5
1.1. Contexte agronomique	5
1.2. Contexte socio-économique	7
1.3. Contexte pédologique	8
2. L'aluminium dans le sol	12
3. Caractéristiques chimiques de la rhizosphère	13
4. Le stress aluminique et la croissance des plantes	14
4.1. Absorption de l'eau et des éléments nutritifs	14
4.2. Système racinaire	14
4.3. Parties aériennes	16
5. Résistance au stress aluminique	16
5.1. Exclusion de l'aluminium	17
5.2. Tolérance à l'aluminium	19
5.3. Quelques aspects génétiques de la résistance à l'aluminium	20
6. Mycorhizes	21
6.1. Les groupes de mycorhizes	21
6.2. Associations mycorhizes à arbuscules - plante hôte	22
6.3. Intérêt agronomique des mycorhizes	23
Objectif de la recherche et Méthodologie	24
1. Objectif de la Recherche	24
2. Méthodologie	24
2.1. Choix des cultivars	24
2.2. Milieux de culture	25
2.3. Composition des solutions nutritives de culture	26

1 Effect of aluminium on five banana (<i>Musa</i> spp.) cultivars. I. Water and nutrient uptake	28
Abstract	28
1.1. Introduction	29
1.2. Material and methods	31
1.3. Results and discussion	31
1.3.1. Water uptake	31
1.3.2. Nutrient uptake	33
1.3.3. Relationship between water and nutrient uptake	37
1.3.4. pH changes	41
1.3.5. Statistical ranking of cultivars	43
1.4. Conclusion	45
Acknowledgements	45
2 Effect of aluminium on five banana (<i>Musa</i> spp.) cultivars. II. Plant growth and chemical composition	46
Abstract	46
2.1. Introduction	46
2.2. Material and methods	47
2.3. Results and discussion	49
2.3.1. Shoot growth	49
2.3.2. Leaf symptoms	50
2.3.3. Root growth	52
2.3.4. Biomass production	53
2.3.5. Element concentrations in roots and shoots	55
2.4. Conclusions	61
Acknowledgements	62
3 Cation exchange capacity and Al-Ca-Mg speciation in roots of bananas (<i>Musa</i> spp.) cultivated in soils and in nutrient solutions	63
Abstract	63
3.1. Introduction	64
3.2. Material and methods	65
3.2.1. Root sampling	65
3.2.2. Cation exchange capacity of roots and selective extraction of cations	67
3.3. Results and discussion	67
3.3.1. Cation exchange capacity of roots	67
3.3.2. Exchangeable Al, Ca, Mg	69
3.3.3. Non-exchangeable Al, Ca, Mg	73

4.4. Conclusion	75
Acknowledgements	76
4 Competitive adsorption of H, Ca, K, Mg and Al on banana roots: experimental data and modelling	77
Abstract	77
4.1. Introduction	77
4.2. Material and methods	79
4.2.1. Production and pre-treatment of roots	79
4.2.2. Equilibration of roots with salt solutions	79
4.2.3. Modelling root-solution equilibria	80
4.2.4. Model parametrisation	82
4.3. Results and discussion	82
4.4. Conclusion	89
Acknowledgements	90
5 Mobilisation de l'aluminium de minéraux argileux par les racines de bananiers	91
Résumé	91
5.1. Introduction	92
5.2. Matériel et méthodes	94
5.2.1. Les minéraux argileux	94
5.2.2. Expérience 1	94
5.2.3. Expérience 2	96
5.3. Résultats et discussion	98
5.3.1. Expérience 1	98
5.3.2. Expérience 2	104
5.4. Conclusion	111
Remerciements	112
6 Effects of Arbuscular Mycorrhizal fungi on aluminium tolerance of banana	113
Abstract	113
6.1. Introduction	113
6.2. Materials and Methods	115
6.2.1. Biological material	115
6.2.2. Experiment	115
6.3. Results	117
6.3.1. AMF root colonization	117

6.3.2. Water uptake	118
6.3.3. Aluminium and nutrient uptake	118
6.3.4. Leaf symptoms	122
6.3.5. Dry matter production	123
6.3.6. Nutrient concentrations	124
6.4. Discussion	125
6.4.1. Root AMF colonization	125
6.4.2. Water and nutrient uptake	126
6.4.3. Mineral nutrient concentrations in plants	127
6.4.4. Dry matter production	128
6.5. Conclusion	129
Acknowledgments	129
Synthèse	130
Références	137
Annexes	157

Remerciements

Ce document est une synthèse des travaux de thèse doctorale que j'ai réalisés au Laboratoire des Sciences du Sol, Université Catholique de Louvain, Louvain-La-Neuve. Bien entendu, je n'étais pas seul durant toute la période de mes recherches doctorales, et je voudrais exprimer mes sentiments de reconnaissance aux personnes et aux institutions qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Ma profonde reconnaissance est adressée aux Messieurs Joseph E. DUFÉY et Bruno DELVAUX, Professeurs à l'Université Catholique de Louvain, tous membres de l'Unité des Sciences du Sol, pour avoir accepté de co-diriger cette thèse. L'accueil et l'encadrement scientifique dont j'ai bénéficié dans leur Laboratoire m'ont permis de travailler dans de très bonnes conditions.

Je remercie Monsieur Rony SWENNEN, Professeur à la Katholieke Universiteit Leuven, et Monsieur Laurent BOCK, Professeur à la Faculté des Sciences Agronomiques de Gembloux, pour l'intérêt qu'ils ont manifesté dans le suivi de l'évolution de mes travaux en tant que membres du Comité d'Encadrement de cette thèse.

Je remercie également Monsieur Stéphane DECLERCK de l'Unité de Microbiologie, Université Catholique de Louvain, pour m'avoir fait partager ses compétences dans le domaine des champignons mycorhiziens, et Monsieur Xavier DRAYE du Département de Biologie Appliquée et des Productions Agricoles, Université Catholique de Louvain, pour ses multiples conseils.

Je remercie aussi le Professeur Benoît JAILLARD, ENSA-INRA, Montpellier, pour avoir accepté de participer au jury de cette thèse.

Je tiens aussi à remercier tous les membres de l'Unité des Sciences du Sol, Mesdames Anne ISERENTANT, Claudine GIVRON et Nathalie KRUYTS, Mesdemoiselles Claire DEBATTY et Marta C. HENAO, Messieurs Patrick POPULAIRE, Samuel NDAYIRAGIJE, Freddy JACOB, André LANNOYE, Vincent BRAHY, Stéphane SCHADECK, Patrick GERIN et Hugue TITEUX, soit pour les services qu'ils m'ont rendus soit pour leur soutien moral.

Je remercie les membres de l'*INIBAP Transit Centre and Laboratory of Tropical Crop Improvement* à la Katholieke Universiteit Leuven et plus particulièrement à Madame Inès van den HOWE pour m'avoir rendu beaucoup de services pendant les périodes de culture *in vitro* des bananiers.

Je remercie Monsieur José GENON de l'INRA - Centre de Recherche Forestière, France, pour sa grande contribution dans la modélisation des résultats obtenus sur les échanges cationiques sur les racines de bananiers.

Mes remerciements sont aussi adressés à Madame Maria Genalin Angelo Van Coppenolle de l'Unité de Microbiologie, Université Catholique de Louvain, pour sa contribution dans les mesures de la colonisation des racines par les champignons mycorhiziens.

Je remercie les Professeurs Charles RENARD de l'Unité d'Ecologie des Prairies et Jean-Marie KINET de l'Unité de Cytogénétique, Université Catholique de Louvain, pour leurs conseils et suggestions.

J'exprime ma profonde reconnaissance aux institutions qui m'ont appuyé financièrement pour la réalisation de ce travail. Je pense à l'Administration Générale de la Coopération au Développement (A.G.C.D.), Belgique, et au Secrétariat à la Coopération Internationale (SCO) de l'Université Catholique de Louvain.

Je remercie le personnel du Centre de Recherche sur les Bananiers et les Plantains (C.R.B.P.), Nyombé, Cameroun, pour l'accueil et les services rendus durant les travaux d'échantillonnage des racines de bananiers au Cameroun. Je voudrais remercier particulièrement Monsieur Raphaël ACHARD, chercheur du C.R.B.P., pour son attachement particulier à mes travaux.

Je remercie également toutes les personnes, qui ne sont pas citées nommément alors qu'elles ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce projet.

Je pense plus particulièrement à ma chère famille, NUSURA Hassan ma chère épouse, Elodie MUNEZERO et Eddy NDIZERA nos chers enfants. Ce travail est aussi le fruit de leurs efforts et à eux, je dédie cette thèse.

Ce travail a été réalisé sous le financement du Projet *EU contract INCO-DC CEE CT 970208* et du programme de Recherche N°2.4595.98 du Fonds de la Recherche Fondamentale et Collective (FNRS-FRFC) de la Belgique.

Résumé

La toxicité aluminique, bien qu'elle soit le facteur majeur limitant la croissance des plantes cultivées sur des sols acides, n'a pas encore fait l'objet de recherches approfondies chez les bananiers (*Musa* spp.), malgré l'importance socio-économique de cette culture dans les régions tropicales. Ce travail a été effectué pour combler cette lacune.

Chez cinq cultivars de bananiers, les effets de l'aluminium en solution nutritive sont : une diminution des taux d'absorption de l'eau et des éléments nutritifs, de la croissance et de la production de biomasse, et le développement de symptômes de déficiences en magnésium. Le stress aluminique a induit, dans toutes les parties des plantes, une diminution des teneurs en calcium et magnésium, et une augmentation des teneurs en potassium et phosphore. Les cultivars de plantains Agbagba et Obino l'Ewaï sont plus tolérants au stress aluminique que les autres cultivars.

La capacité d'échange cationique racinaire des bananiers (CECR variant de 19 à 36 cmol_c kg⁻¹) contribue à l'immobilisation de l'aluminium dans les racines. Dans nos conditions expérimentales, la saturation des sites d'échange par l'aluminium ne dépassait toutefois pas 15-35%, le cation dominant restant toujours le calcium. En fait, la fixation de l'aluminium sur la CECR se fait beaucoup plus au détriment du magnésium qu'au détriment du calcium. Ceci suggère que le rapport Al/Mg sur les racines doit être considéré comme un meilleur indicateur de la toxicité aluminique que le rapport Al/Ca. Les mesures de l'adsorption des cations H-Al-Ca-Mg-K sur les sites d'échange des racines ont permis de calibrer un modèle mathématique mécanistique décrivant les compositions d'équilibre d'un échangeur de type quelconque en présence d'une solution de composition connue.

L'action des racines de bananier sur une smectite et une kaolinite entraîne une mobilisation de l'aluminium de ces argiles corrélée à la baisse du pH rhizosphérique. Il en résulte une augmentation significative de la teneur en aluminium dans les racines, sans que des symptômes liés à la toxicité aluminique n'apparaissent sur les plantes.

La mycorhization des racines de bananiers à l'aide de *Glomus intraradices* atténue les effets nocifs générés par la toxicité aluminique chez le cultivar Grande Naine. Les effets bénéfiques relevés ici sont l'augmentation de l'absorption de l'eau et de certains éléments nutritifs, l'augmentation de la production de biomasse, des teneurs en calcium, magnésium et phosphore, et la diminution des teneurs en aluminium tant dans les racines que dans les parties aériennes.

Abstract

Although Al is a major limiting growth factor for most cultivated plants in acid soils, no detailed studies were reported so far for bananas (*Musa* spp.) despite of the importance of these crops in tropical regions. This work aims at providing scientific baselines on the effect of Al on young bananas.

On five banana cultivars, the effects of Al in nutrient solution are : a reduction of water and nutrient uptake rates, a decrease of the growth and total biomass. The Al stress induced Mg deficiency symptoms. In all plant parts of all cultivars, Al reduced Ca and Mg contents whereas K and P concentrations were increased. The plantain bananas, Agbagba and Obino l'Ewaï, are more tolerant to Al than the others.

The root cation exchange capacity of bananas (CECR ranging from 19 to 36 cmol_c kg⁻¹) noticeably contributes to Al fixation in roots. In our experiments, Al saturation was in the range 15-35% of the exchange sites. Whereas calcium was always remaining the dominant exchangeable cation on roots, the Mg saturation was drastically reduced in the presence of Al. This suggests that the Al/Mg ratio on roots could be a better indicator of Al-toxicity than the Al/Ca ratio. The experimental data on competitive adsorption of H-Al-Ca-Mg-K on exchange sites of banana roots were used to calibrate a mathematical model describing ion exchange on any type of ion exchanger.

The banana roots mobilizes Al from smectite and kaolinite clay minerals. The Al solubilization was correlated with the decrease in rhizospheric pH. This resulted in a significant increase of Al in roots, without the development of Al-toxicity induced symptoms.

The colonization of banana roots by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* alleviates the effects of Al stress for the cultivar Grande Naine. The benefits of this mycorrhizal fungus-banana association were the increases in the uptake of water and most nutrients, the increases in plant dry matter as well as in Ca, Mg and P concentrations, and the decrease in Al concentration in roots and shoots.

Introduction générale

L'acidité des sols est un facteur prépondérant limitant la croissance des plantes dans plusieurs régions du monde. Les sols acides sont considérés comme étant des sols dont le pH-H₂O est inférieur à 5.5 dans leurs horizons de surface. Ces sols représentent approximativement 30 % des terres non glacées (von Uexküll et Mutert, 1995) et 40 % des terres arables mondiales (Kochian, 1995). Ils sont principalement localisés dans les régions tempérées et dans les régions tropicales et subtropicales. Les tropiques humides comptent ainsi à eux seuls près de 60 % des sols acides du monde.

La faible croissance des plantes cultivées en sols acides n'est pas due à un seul facteur, mais à une combinaison de plusieurs facteurs de type nutritionnel liés, d'une part, aux toxicités dues à l'excès d'aluminium et du manganèse sur le complexe d'échange cationique et dans la solution du sol, et d'autre part, aux déficiences en éléments nutritifs principalement le calcium, le magnésium, le phosphore, le potassium et l'azote. A ce jour, la toxicité aluminique est largement citée comme le facteur prépondérant limitant la croissance et la production des plantes cultivées en sol acides (Horst, 1995; Ishikawa et Wagatsuma, 1998).

L'aluminium est le métal le plus abondant et le troisième élément constitutif de la lithosphère, après l'oxygène et le silicium. Il est prédominant dans les sols sous forme d'aluminosilicates, d'oxyhydroxydes et d'autres minéraux non silicatés. La solubilité de l'aluminium est fortement liée au pH du sol et sa concentration dans la solution des sols minéraux acides augmente quand le pH diminue (Lindsay, 1979; Gahoonia, 1993). Des formes phytotoxiques d'aluminium sont alors relâchées dans la solution du sol au risque d'atteindre des niveaux toxiques pour les plantes. En cas de stress aluminique, le premier symptôme observé est l'inhibition de l'élongation racinaire qui peut être constatée une heure après l'exposition des racines à l'aluminium (Ownby et Popham, 1990; Sivaguru *et al.*, 1999). L'effet à long terme du stress aluminique est la diminution des taux de croissance des plantes entières et la diminution de leurs rendements.

La gestion durable d'une agriculture menée sur des sols acides pose de nombreux problèmes et fait l'objet de recherches intenses surtout depuis les années 1950. Dans les régions tropicales, l'exploitation des sols acides à usage agricole date des années 1900 et s'est intensifiée après 1950, à l'exception de certaines localités où un petit nombre de personnes pratiquaient déjà une agriculture itinérante basée sur la pratique de longues jachères. La presque totalité de ces sols acides était occupée par des forêts, des savanes et des prairies. Actuellement, des facteurs tels que l'augmentation des besoins alimentaires due à la croissance démographique et à l'augmentation de la demande des produits de plantations tropicales (café, palmier à huile, thé, etc.) exercent une forte pression poussant à l'exploitation agricole des sols acides. Les sols acides tropicaux défrichés sont estimés à environ 11 millions d'hectares par an (von Uexküll et Mutert, 1995).

Plusieurs solutions ont été préconisées en vue d'augmenter les rendements des cultures en sols acides, parmi lesquelles figurent les amendements calcaires et organiques, et la fertilisation minérale (engrais chimiques). Les carbonates de calcium et de magnésium ont été recommandés comme produits efficaces pour neutraliser l'aluminium et l'acidité du sol, et pour améliorer le niveau du calcium et du magnésium du sol. Cependant, le chaulage n'a pas toujours produit les effets escomptés sur certaines cultures et certains sols. De plus, le coût du chaulage tout comme celui des engrais chimiques est prohibitif dans la plupart des régions tropicales où les agriculteurs n'ont pas assez de revenus pour investir et où les systèmes de crédit agricole sont presque inexistantes. D'autres solutions relativement moins coûteuses sont la sélection et l'utilisation des génotypes résistants à la toxicité aluminique, la bonne gestion des déchets de culture (compost) et la réintroduction du bois dans les exploitations agricoles pour reproduire le processus naturel de remontée biologique des nutriments. La valorisation des champignons mycorhiziens constitue également une approche à considérer.

Dans toutes les recherches sur la gestion des sols acides, il a été démontré que les réponses des plantes aux diverses techniques utilisées différaient selon les espèces végétales et selon les variétés au sein d'une même espèce végétale. Or, la plupart des recherches ont été réalisées sur des cultures à cycle de reproduction court comme le haricot, le blé, la pomme de terre, le riz ou sur des cultures de rente (d'exportation) comme le thé, le café et le coton. Pourtant, il existe dans ces régions d'autres cultures d'une grande importance socio-économique mais qui n'ont pas bénéficié des progrès d'une telle recherche. C'est le cas du bananier qui est cultivé sur différents types de sols y compris les sols acides (Delvaux, 1995). Si quelques études ont clairement montré que la production des bananiers est faible en sol acide et peu fertile

(Champion, 1970; Wilson *et al.*, 1987; Nweke *et al.*, 1988), avec une sensibilité moindre observée chez les variétés du sous-groupe des plantains (Spain *et al.*, 1975), la toxicité possible de l'aluminium est peu documentée (Delvaux, 1995).

Dans le cadre du projet INCO-DC contract CEE CT 970208 "*Alleviating abiotic and biotic soil constraints by combining arbuscular mycorrhizal fungi with banana and plantain micropropagation systems*", notre travail de thèse consiste à mettre en évidence la toxicité aluminique chez le bananier et à étudier, à l'échelle de l'interface sol-solution-racine, les conditions la favorisant. Cette thèse rédigée sous forme d'articles est présentée en 6 chapitres regroupés en quatre parties.

La première partie porte sur l'étude de la sensibilité des bananiers au stress aluminique. Cette étude est menée sur des vitroplants de cinq cultivars de bananiers cultivés en solutions nutritives en présence et en absence d'aluminium. Les résultats sur les mesures d'absorption de l'eau et des éléments nutritifs sont rapportés dans le *premier chapitre*. Dans le *deuxième chapitre*, les effets de l'aluminium sur les paramètres de croissance et sur la composition chimique des différents organes des bananiers sont évalués.

La deuxième partie de ce travail porte sur l'influence de l'aluminium sur les propriétés d'échange et la composition cationique des racines de bananiers et comprend les chapitres 3 et 4. Le *troisième chapitre* est consacré aux résultats des mesures de la capacité d'échange cationique et de la spéciation des cations Ca-Mg-Al sur les racines issues à la fois des bananiers cultivés en solutions nutritives et des bananiers cultivés en champ au Cameroun. Le *quatrième chapitre* rapporte les résultats des mesures et de la modélisation de la compétition entre les cations H, Al, Ca, Mg et K dans leur adsorption sur les sites d'échange racinaires.

La troisième partie est constituée d'un seul chapitre, le *chapitre 5* qui traite de la mobilisation de l'aluminium par les racines de bananiers en croissance sur des substrats contenant des minéraux argileux.

La quatrième partie est constituée d'un chapitre, le *chapitre 6* qui rapporte les résultats d'une étude sur les effets de la mycorhization des bananiers sur la tolérance/résistance au stress aluminique.

Nous tenons à signaler au lecteur que cette présentation sous forme d'une succession d'articles a ses avantages et ses inconvénients. Comme avantage, chaque chapitre-article étant présenté de manière indépendante des autres, peut être aisément lu et

facilement compris sans devoir parcourir tout le document. Par contre, ce genre de présentation peut être inconfortable et répétitif pour une lecture continue de tout le document, notamment certains éléments sont répétés d'un chapitre à un autre lorsque cette répétition est nécessaire pour la compréhension.

En plus des six chapitres énoncés ci-dessus, nous présentons une revue bibliographique faisant état des connaissances actuelles sur les principaux aspects relatifs au thème de recherche abordé dans notre travail de thèse. Après avoir exposé les résultats dans les six chapitres, une dernière partie sera consacrée aux principales conclusions et perspectives.

Revue bibliographique

1. La culture de bananier

1.1. Contexte agronomique

Cultivés presque exclusivement dans les pays en voie de développement en régions tropicales, les bananiers sont parmi les plantes les plus importantes dans le monde. Leur centre d'origine et de diversification présumé se situe en Indochine et dans le Sud-Est de l'Asie (Shepherd, 1957; Simmonds, 1987).

Les bananiers sont les plus grandes des plantes herbacées pérennes appartenant au grand groupe des Monocotylédones, famille des Musacées, et ordre des Scitaminales (Champion, 1963). La grande majorité des variétés actuellement cultivées appartiennent à la série *Eumusa* avec un nombre chromosomique de base $x = 11$ dans le genre *Musa* et dérivent des espèces *M. acuminata* et *M. balbisiana* par polyploïdisation et hybridation (Simmonds, 1966). Les lettres A et B sont communément utilisées pour désigner les génomes *acuminata* et *balbisiana*, respectivement (Simmonds et Shepherd, 1955). Les groupes suivants sont reconnus chez les bananiers comestibles: diploïdes AA, AB et peut-être BB avec $2n = 2x$; triploïdes AAA, AAB, ABB, et peut-être BBB avec $2n = 3x$; et tétraploïdes AAAA, AAAB, AABB, et BBBB avec $2n = 4x$ (Swennen et Rosales, 1994). En terme d'importance, les triploïdes occupent la première place, suivis des diploïdes et enfin les tétraploïdes (Champion, 1963; Simmonds, 1966; De Langhe, 1987; Howell *et al.*, 1994).

Les bananiers sont aussi classés en trois catégories en fonction de la manière dont leurs fruits sont consommés: les bananiers à dessert, les bananiers plantains, et les bananiers à bière et à cuire des hauts plateaux d'Afrique de l'Est (Swennen et Vuylsteke, 1988), bananier étant le terme générique utilisé pour désigner ces trois catégories (Swennen et Rosales, 1994). Les bananiers à dessert appartiennent principalement aux groupes AA, AAB, et AAA. Ceux qui appartiennent au groupe AAA, sous-groupe Cavendish, sont cultivés essentiellement pour les bananes dessert d'exportation, par exemple les cultivars Grande Naine, Gros Michel et Poyo. Les plantains forment un sous-groupe AAB (Simmonds, 1966) et sont principalement

cultivés à petite échelle dans les exploitations agricoles dans les régions agroécologiques forestières humides et d'altitude basse à moyenne dans les tropiques (Mobambo *et al.*, 1993). Les plantains sont classés en fonction de la taille des plantes en "giant", "medium" et "small" (Swennen, 1990) mais aussi suivant la morphologie du régime en French plantain, French Horn plantain, False Horn plantain et Horn plantain (Tezenas du Montcel et Devos, 1978). Par exemple, le cultivar Obino l'Ewaï est un "medium French plantain" alors que le cultivar Agbagba est un "medium False Horn plantain" (Swennen et Vuylsteke, 1987).

Les bananiers des hauts plateaux d'Afrique de l'Est (1200-1900 m au-dessus du niveau de la mer), comprenant essentiellement les bananiers à bière et à cuire, sont principalement des triploïdes *acuminata* spécifiques à cette région (Shepherd, 1957; Sebasigari, 1987). Ils sont notés AAA-EA (EA signifie East Africa) pour les différencier des autres triploïdes AAA (Sebasigari, 1990). Ces bananiers seraient d'introduction ancienne dans la région et auraient acquis ainsi leur spécificité à la suite des mutations successives (Baker et Simmonds, 1951; Champion, 1970). Ces bananiers sont souvent qualifiés de "traditionnels ou locaux" par opposition aux cultivars dits "exotiques" qui sont d'introduction récente dans ces régions montagneuses d'Afrique de l'Est. Parmi ces derniers on peut citer, par exemple, les bananiers à dessert du groupe triploïde AAA, sous-groupe Cavendish et Gros Michel, comme Kigurube (connu dans la littérature sous les noms de Kinguruwe, Naine de Chine, Dwarf Chinese et Dwarf Cavendish, etc.), Grande Naine et Poyo, le cultivar diploïde AB Kamaramasenge (connu dans la littérature sous les noms de Guindi, Ney poovan, Sukari Ndizi, etc.), et les bananiers à bière comme le cultivar diploïde AB Kisubi et le cultivar triploïde ABB Kayinja (connu dans la littérature sous les noms de Nyeupe, Pey kunnan, Pisang awak legor, etc.) (Shepherd, 1957; Champion, 1967; Sebasigari, 1987).

Les hybrides de bananiers tétraploïdes sont utilisés comme bananes dessert et bananes plantains et sont souvent considérés comme une alternative en cas d'absence de triploïdes (De Langhe, 1987). Les tétraploïdes à l'état naturel sont rares (Simmonds et Shepherd, 1955). Le plus connu est Klue teparod (ABBB) cultivé surtout en Malaisie, Philippines, Thaïland et Burma tandis que les autres tétraploïdes naturels comme Atan (AAAB), Kalamagol (AABB) et une seule variété AAAA probablement issue de Gros Michel existent uniquement dans les centres de collection comme celle de Laloki en Nouvelle Guinée (Stover et Simmonds, 1987). Les tétraploïdes actuellement cultivés pour un usage commercial sont produits par croisement entre des clones triploïdes et des clones diploïdes (Ortiz *et al.*, 1995). Dans certains cas, ces hybrides sont de taille courte (Dwarf), productifs, résistant aux

maladies fongiques comme "black sigatoga" et ont un cycle court de production, en comparaison avec leurs cultivars parents triploïdes (Stover et Simmonds, 1987; Swennen et Vuylsteke, 1991; Vuylsteke *et al.*, 1992; Ortiz *et al.*, 1995).

Les bananiers cultivés se caractérisent par une stérilité mâle et femelle importante combinée avec une parthénocarpie (De Langhe, 1987; Stover et Simmonds, 1987). De ce fait, leur multiplication et la conduite culturale des plantations s'effectuent par voie végétative. Traditionnellement, les rejets (ou rejetons) constituent le moyen de multiplication du bananier au champ. Ils assurent la continuité des cycles culturaux et peuvent être utilisés dans l'établissement de nouvelles plantations. Cette multiplication naturelle présente des limitations techniques telles que l'hétérogénéité des plantes et l'insuffisance du matériel à la plantation. Le transfert du matériel de plantation des sols contaminés vers les sols sains est une voie de dissémination des micro-organismes pathogènes et constitue ainsi une autre limitation à cette technique. Par conséquent, la micropropagation *in vitro* des bananiers apparaît comme une technique d'amélioration des systèmes de production bananière. Elle permet une production à grande échelle de vitroplants désinfectés, conformes et homogènes. Leur développement au champ se caractérise par une précocité et une homogénéité de la floraison, et par un poids moyen des régimes souvent supérieur de 10 à 20 % au matériel traditionnel (Robinson, 1990). Cependant, cette technique a une grande limitation liée à la variation somaclonale par laquelle des hors-types ou des variants somaclonaux apparaissent dans les cultures *in vitro* de bananiers (Israeli *et al.*, 1995). Il a été observé l'existence de grandes différences entre les cultivars quant à la fréquence et la nature des variations phénotypiques (Stover, 1987; Vuylsteke *et al.*, 1988, 1991). La variation somaclonale est une source des problèmes notamment de confusion des cultivars. Les autres inconvénients de la micropropagation *in vitro* des bananiers sont le risque de propagation des virus lorsque des précautions appropriées ne sont pas prises (Dwew *et al.*, 1989) ainsi que le coût élevé de la technologie.

1.2. Contexte socio-économique

Les bananiers sont cultivés sur environ 10 millions d'hectares dans les régions tropicales et subtropicales, avec une production annuelle d'environ 88 millions de tonnes selon les estimations de 1998 (Sharrock et Frison, 1999). Chacune des trois régions, Afrique, Amérique Latine-Caraïbe, et Asie-Pacifique produit approximativement un tiers de cette production. Les bananes dessert représentent 55%, les bananes des hauts plateaux et autres bananes à cuire, 24%, et les plantains 21% de la production mondiale de bananes. La grande majorité des producteurs sont des agriculteurs avec de petites exploitations qui cultivent les bananiers pour leur

propre consommation et/ou pour la vente sur des marchés locaux. Seulement 13% de la production totale sont exportés.

Outre la surface occupée et le volume de leur production, l'importance des bananiers est aussi marquée par la diversité de la manière de consommer les fruits et d'utiliser les autres parties de la plante. Selon les cultivars de bananiers, les bananes vertes peuvent être consommées après avoir été chauffées au four ou cuites à l'eau ou à l'huile (frites), elles peuvent être mûries pour être consommées comme desserts ou pour servir à la production de jus qui peut être bu comme tel et le plus souvent fermenté pour la fabrication de boissons alcoolisées. En Asie, par exemple, les fruits sont consommés, mais aussi à la récolte, la vraie tige ou "cœur" du bananier peut être enlevée du faux-tronc et cuite pour être consommée. De même, les jeunes feuilles et les fleurs mâles (après avoir dégagé les bractées externes) sont aussi cuites comme légumes. Dans cette même région, les fibres de bananiers sont utilisées pour la production de divers objets artisanaux.

Les bananes constituent l'alimentation de base d'environ 100 millions de personnes en Afrique subsaharienne avec un record observé en Ouganda où la consommation moyenne atteint 243 kg/personne/an. Au Burundi, les bananiers à bière sont de loin les plus importants et représenteraient environ 63 % de l'ensemble des bananiers de ce pays. Ils produisent des bananes utilisées dans la fabrication artisanale de la bière par un procédé de fermentation du jus extrait des fruits bien maîtrisé par les paysans. Le plus souvent, chaque ménage transforme lui-même sa production. La bière ainsi produite est souvent commercialisée et de ce fait, les bananiers constituent la principale source de revenu de la plupart des ménages. Elle joue aussi un rôle important dans la vie sociale des campagnes: elle agrmente les fêtes et marque les rapports sociaux entre les villageois (Rishirumuhirwa, 1997).

1.3. Contexte pédologique

Les bananiers pour l'exportation sont cultivés en système intensif souvent sur des andosols d'origine volcanique (Figure 1). Ces sols souvent peu évolués sont très fertiles avec des pH faiblement acides ou proches de la neutralité (Delvaux, 1988). Les problèmes liés à l'acidité et à la toxicité aluminique ne s'y posent pas. Il en est de même des bananiers en exploitation locale cultivés près des cases des ménages et qui bénéficient des apports réguliers en matière organique (les déchets de cuisine, le compost et le fumier d'étable) et en éléments minéraux (les cendres et les produits de la décomposition de la matière organique). Sur ces sols enrichis et sans contrainte

liée à l'acidité, la production bananière est maintenue élevée pendant plusieurs années (Champion, 1970; Wilson, 1987; Wilson *et al.*, 1987).

Dans d'autres systèmes d'exploitation locale, dans les zones forestières d'Afrique de l'Ouest par exemple, les bananiers sont parmi les premières plantes cultivées en ouverture (Wilson, 1987) profitant de la richesse en éléments nutritifs accumulés à partir de la décomposition de la matière organique et surtout des éléments minéraux contenus dans les cendres issues du brûlage des herbes, des feuilles et des branches d'arbres (Figure 2). Dans un tel système, la fertilité du sol diminue très rapidement, l'acidité du sol augmente et la production des bananiers décline rapidement au cours des années (Wilson *et al.*, 1987; Nweke *et al.*, 1988; Ruhigwa *et al.*, 1994; Ruhigwa *et al.*, 1995). Généralement les bananiers occupent le sol en monoculture ou en association avec d'autres cultures comme le café ou les cultures vivrières (Devos et Wilson, 1979; Rao et Edmund, 1984) pendant 4 à 5 ans avant de céder complètement la place aux plantes les moins exigeantes ou aux arbres (mise en jachère) (Wilson, 1987). Une croissance médiocre a été aussi observée chez les bananeraies récentes et il fallait des apports cumulés de matières organiques et minérales pendant plusieurs années pour un établissement d'une bonne végétation (Champion, 1970).

Dans les régions d'Afrique de l'Est, une répartition auréolaire des cultures dans l'exploitation a été observée par certains auteurs (Frankart, 1985; Godefroy *et al.*, 1991; Rishirumuhirwa, 1997a). Les bananiers occupent principalement la sole située autour de l'habitat et, selon la densité de plantation qui diminue avec l'augmentation la distance par rapport à la case d'habitation, ils sont installés soit en culture pure soit



Figure 1. Culture intensive de bananiers à fruits d'exportation à Nyombé au Cameroun.



Figure 2. Culture de bananiers dans les zones forestières au Cameroun:

(a) défrichement des forêts pour l'implantation des plantains;



(b) remplacement des plantains par d'autres cultures vivrières (B) ou mise en jachère (A).

en association avec d'autres cultures vivrières comme la colocase, le haricot, le maïs et le manioc (Rishirumhirwa, 1997b). Cette sole est la plus fertile de l'exploitation car elle reçoit en priorité les déchets de ménages, les composts, le fumier d'étable et les cendres ménagères (Champion, 1970).

D'autre part, plusieurs auteurs ont démontré le rôle important de la matière organique apportée en couverture ("organic mulch") pour obtenir et maintenir une productivité élevée des bananiers et ont fait remarquer que la matière organique avait plus d'effet que la fertilisation inorganique (Wilson *et al.*, 1987; Salau *et al.*, 1992; Ruhigwa *et al.*, 1994; Ruhigwa *et al.*, 1995). Ces effets bénéfiques ont été associés à l'efficacité du paillage dans le maintien de la fertilité du sol, dans la protection du sol contre l'érosion, dans le contrôle du développement de mauvaises herbes et des maladies racinaires (Swennen *et al.*, 1988).

Cependant, il est important de noter, par exemple, que le sol des sites d'expérimentation de Wilson *et al.* (1987) et Ruhigwa *et al.*, (1995) présentait des valeurs de pH (H_2O) de 4.0 à 4.4 alors que les observations faites près des cases se rapportent aux bananiers se développant sur des sols enrichis régulièrement par des apports en matière organique et en éléments minéraux avec des valeurs de pH proches de la neutralité (Wilson *et al.*, 1987). Très récemment, Blomme (2000) a observé que la croissance des bananiers cultivés en sols acides de pH (H_2O) d'environ 3.5 était faible même après une application de fertilisants inorganiques et la toxicité aluminique était une des hypothèses avancées pour expliquer ces résultats. L'hypothèse de la toxicité aluminique est basée sur le fait que la solubilité de l'aluminium augmente quand le pH du sol diminue (Lindsay, 1979) et que l'aluminium est le facteur principal limitant la croissance et la production de la plupart des plantes cultivées (Horst, 1995; Ishikawa et Wagatsuma, 1998). Il est aussi connu que la matière organique peut atténuer ou éliminer les effets néfastes de l'aluminium par effet de complexation (Ahmad et Tan, 1986).

Il faut donc constater que, dans la plupart des cas, la culture de bananiers est limitée aux sols naturellement riches ou enrichis par des apports extérieurs à la parcelle et qu'ils nécessitent un entretien intense. Le bananier est en effet l'une des plus exigeantes parmi les plantes cultivées (Martin-Prével, 1980; Lahav, 1995). Or, la plupart des sols tropicaux sont des sols acides chimiquement pauvres et les problèmes d'ordre nutritionnel liés à l'acidité du sol jusqu'ici étudiés sur la croissance des bananiers cultivés en sols acides apparaissent comme des effets secondaires de l'acidité. Les déficiences en Ca et en Mg sont souvent associées aux sols acides. Ainsi les déficiences magnésiennes induites par un excès de potassium connues sous le nom de "banane bleue" ou "bleu magnésien" apparaissent favorisées en conditions acides. L'acidité des sols conduit généralement à une plus grande mobilisation de l'aluminium et du manganèse, et si les besoins du bananier en manganèse sont importants, la toxicité aluminique est très peu connue chez cette plante (Delvaux, 1995).

2. L'aluminium dans le sol

Comme nous l'avons déjà mentionné dans la partie Introduction, l'aluminium est le métal le plus abondant dans la croûte terrestre, présent dans les sols sous différentes formes (Lindsay, 1979; Ritchie, 1995). Malgré sa prédominance dans le sol, l'aluminium phytotoxique se retrouve uniquement dans des conditions acides où sa solubilisation peut conduire à des niveaux toxiques pour les plantes. L'acidité du sol modifie aussi la forme de l'aluminium dans la solution du sol. Les ions Al^{3+} sont largement dominants dans la solution du sol à pH inférieur à 4, et la proportion des monomères hydroxylés d'aluminium incluant AlOH^{2+} , $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ augmente avec l'augmentation du pH (Kinraide, 1991). Bien entendu, la concentration en aluminium total diminue dans la solution du sol avec l'augmentation du pH.

Si la toxicité aluminique est unanimement considérée comme un facteur majeur limitant la croissance et la production des plantes cultivées en sols minéraux acides (Horst, 1995; Ishikawa et Wagatsuma, 1998), l'identification des espèces ioniques d'aluminium responsables de cette toxicité a fait l'objet de discussions parfois contradictoires (Ahlrichs *et al.*, 1990). Plusieurs auteurs considèrent que, dans les sols acides, l'ion Al^{3+} est la seule espèce ionique d'aluminium phytotoxique (Adams et Lund, 1966; Brenes et Pearson, 1973; Wright *et al.*, 1987; Kinraide, 1991). Cependant, Kinraide (1991) a fait remarquer qu'au départ cette hypothèse a été abusivement utilisée sans vérification, car les premiers auteurs supposaient que l'aluminium était présent sous forme d'ion trivalent quel que soit le pH de la solution et montraient alors une bonne corrélation entre l'activité de l'aluminium soluble total (qu'ils confondaient avec l'activité en ions Al^{3+}) et l'élongation des racines des plantes étudiées (Adams et Lund, 1966; Brenes et Pearson, 1973).

A partir des travaux réalisés sur du soja [*Glycine max* (L.) Merr.] cultivé en solution nutritive à des pH variant de 4 à 5 et de la réinterprétation des données obtenues dans d'autres études sur le trèfle (*Trifolium subterraneum* L.), la luzerne (*Medicago sativa* L.) et le tournesol (*Helianthus annuus* L.), Alva *et al.* (1986) ont observé que les formes hydroxylées d'aluminium principalement AlOH^{2+} et $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, sont plus toxiques que les ions Al^{3+} dans cette gamme de pH supérieurs à 4. Dans d'autres études, Kinraide et Parker (1990) ont montré qu'en apparence, les ions Al^{3+} étaient les plus toxiques pour les monocotylédones alors que les monomères hydroxylés d'aluminium paraissaient plus toxiques pour les dicotylédones. Par contre, en évaluant d'une manière critique les hypothèses courantes relatives aux types d'espèces ioniques d'aluminium phytotoxique, Kinraide (1991) conclut que l'ion Al^{3+} est la principale espèce mononucléaire toxique pour les plantes. Cette conclusion a

été ensuite appuyée par les résultats obtenus sur des expériences réalisées sur le blé (*Triticum aestivum* L.) (Kinraide *et al.*, 1992; Kinraide, 1994).

Mis à part l'aluminium hydroxylé, d'autres composés d'aluminium monovalent et divalent pourraient se former dans la solution du sol. Ils résulteraient des liaisons entre l'aluminium et des ligands comme les sulfates, les phosphates, les anions organiques et les fluorures, lorsqu'ils sont présents dans la solution du sol. La non-toxicité de ces complexes a été démontrée dans beaucoup d'études (Cameron *et al.*, 1986; Hue *et al.*, 1986; Wright *et al.*, 1987), ce qui amène à considérer que les ions aluminiques Al^{3+} sont phytotoxiques comme d'autres cations trivalents tels que La^{3+} , et que les ligands réduisent la phytotoxicité en réduisant la charge (Kinraide, 1991). La complexation de l'aluminium est par ailleurs utilisée comme une technique de détoxification des sols sur lesquels la limitation de la croissance des plantes est liée à la toxicité aluminique, celle-ci pouvant être atténuée ou éliminée par l'addition de composés de fluor comme NaF (Konishi et Miyamoto, 1983; Kinraide *et al.*, 1985), de composés sulfatés comme le gypse (Alva *et al.*, 1990), de matière organique (Ahmad et Tan, 1986) et de phosphates (Vo Dinh Quang *et al.*, 1996).

3. Caractéristiques chimiques de la rhizosphère

La rhizosphère est un compartiment de sol proche des racines des plantes et dont les propriétés chimiques, physiques et biologiques sont influencées par ces racines (Gregory et Hinsinger, 1999). Chez les plantes en croissance, elle est le lieu de transferts intenses d'eau, d'éléments nutritifs, de substances organiques et de gaz entre la plante et le sol. Dans la plupart des cas, les changements de pH et de potentiel redox sont le reflet de cette influence.

De nombreuses études ont montré des différences pouvant atteindre 2 unités pH entre le pH du sol rhizosphérique et le pH du sol situé en dehors de la rhizosphère. Ces différences liées à l'excrétion de protons, d'ions OH^- (ou HCO_3^-) et de substances organiques par les racines des plantes sont fonction du déséquilibre dans le rapport d'absorption cation/anion et dépendent du type de plante et d'autres facteurs du sol comme le pouvoir tampon du sol (Marschner, 1995). Il est reconnu que la forme de la nutrition azotée de la plante influence beaucoup le rapport cation/anion dans l'absorption et peut entraîner une modification du pH rhizosphérique par les plantes (Marschner et Römheld, 1983). L'alimentation des plantes en nitrate est corrélée avec un taux élevé d'excrétion nette d'ions OH^- (ou une consommation d'ions H^+). L'inverse est observé lorsque l'azote est sous forme ammoniacale.

Le pH rhizosphérique est particulièrement important puisque les formes chimiques de l'aluminium dans le sol sont fortement liées au pH du sol. La diminution du pH du sol autour des racines des plantes peut augmenter significativement la solubilisation de l'aluminium et modifier sa spéciation (Lindsay, 1979; Ohno, 1989). Beaucoup d'études dont celle réalisée par Ohno (1989) ont donné des résultats illustrant cette relation thermodynamique entre le pH et l'aluminium et elles ont effectivement montré que la diminution du pH dans la rhizosphère entraînait une augmentation de l'aluminium extractible au KCl 1 M, de l'aluminium soluble à l'eau et de l'activité en ions Al^{3+} dans le sol rhizosphérique comparativement au sol non-rhizosphérique.

4. Le stress aluminique et la croissance des plantes

4.1. Absorption de l'eau et des éléments nutritifs

Il a été observé que l'absorption de l'eau (Lance et Pearson, 1969; Arp et Strucel, 1989) et des éléments nutritifs (Clarkson et Sanderson, 1971; Galvez et Clark, 1991; Keltjens, 1995; Calba et Jaillard, 1997) est inhibée chez les plantes cultivées en présence de concentrations toxiques d'aluminium. Dans la plupart des cas, la diminution de l'absorption de l'eau est attribuée à la diminution de la perméabilité à l'eau des membranes cytoplasmiques des cellules corticales des racines (Kruger et Sucoff, 1989). Au niveau de l'absorption des cations, cette diminution serait le résultat d'une compétition entre l'aluminium et les autres cations sur les sites d'échange racinaires (Galvez et Clark, 1991; Keltjens, 1995), du blocage des canaux spécifiques à certains éléments dans les membranes plasmiques (Huang *et al.*, 1992), ou du blocage des sites de fixation des protéines de transport des cations (Rengel et Robinson, 1989c). Que ce soit au niveau de l'absorption de l'eau ou de l'absorption des éléments nutritifs, nous constatons que l'interprétation des résultats fait appel à diverses hypothèses et que les mécanismes physiologiques par lesquels l'aluminium agirait ne sont pas complètement élucidés.

4.2. Système racinaire

L'inhibition rapide de l'élongation racinaire est considérée comme un symptôme primaire du stress aluminique chez différentes espèces végétales (Rengel, 1992; Delhaize et Ryan, 1995; Parker, 1995). Chez le maïs (*Zea mays* L.) par exemple, l'inhibition de la croissance des racines est obtenue lorsque le méristème et la coiffe racinaire sont exposés à l'aluminium (Ryan *et al.*, 1993; Sivaguru et Horst, 1998). Plusieurs auteurs ont attribué cette inhibition de la croissance des racines à

l'inhibition de la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et à l'inhibition des divisions cellulaires (Wallace et Anderson, 1984). Cependant, comme l'inhibition de l'élongation racinaire se passe dans un délai relativement court, puisqu'elle peut être observée une heure après l'exposition des racines à l'aluminium (Ownby et Popham, 1990; Horst *et al.*, 1992; Sivaguru *et al.*, 1999), et sachant que la division cellulaire est un processus relativement lent, Kochian (1995) suggéra que soit considéré que l'inhibition de l'expansion des cellules déjà divisées contribuerait en grande partie à l'inhibition rapide de l'élongation racinaire et que l'inhibition des divisions cellulaires jouerait plus un rôle dans l'inhibition à long terme.

Un autre sujet qui a attiré l'attention de plusieurs chercheurs surtout au cours de la présente décennie est la localisation des sites d'action de l'aluminium dans les racines. La toxicité aluminique est considérée par certains auteurs comme un phénomène apoplasmique (Horst, 1995; Rengel, 1996). Suivant cette conception, l'aluminium se lierait rapidement aux sites d'échange racinaire et s'accumulerait dans les parois en quantité dépendant de la capacité d'échange cationique racinaire (CECR). Certains auteurs ont d'ailleurs souvent relié les effets physiologiques des ions Al^{3+} et d'autres ions toxiques comme La^{3+} à leurs concentrations (Gibrat *et al.*, 1989; McLaughlin, 1989) ou à leurs activités (Kinraide *et al.*, 1992; Kinraide, 1994) à la surface des membranes des cellules racinaires. Il a été même proposé l'utilisation du modèle Gouy-Chapman-Stern qui permet d'estimer l'activité des ions à la surface des membranes cellulaires en relation avec leur concentration dans la solution externe, pour de futures interprétations de la rhizotoxicité minérale (Kinraide, 1994).

Cette présence d'aluminium dans l'apoplasme aurait alors des conséquences sur les propriétés physiques des parois cellulaires comme l'extensibilité et la perméabilité, mais aussi sur leur fonctionnement. L'aluminium interagit avec les autres constituants de la paroi cellulaire comme les enzymes et altère la structure des parois cellulaires (Sivaguru *et al.*, 1999). Il affecte aussi les caractéristiques des membranes plasmiques notamment lorsqu'il induit l'inhibition rapide de l'influx de certains éléments comme les cations Ca et Mg (Ryan *et al.*, 1992). Cette inhibition a été expliquée dans certaines études comme le résultat du blocage des canaux spécifiques aux éléments dans les parois cellulaires (Ding *et al.*, 1993), et dans d'autres études comme le résultat de l'effet compétitif de l'aluminium vis-à-vis d'autres cations sur les sites d'échange des parois cellulaires (Horst, 1995) ou des membranes cellulaires (Kinraide, 1994).

Très récemment, une autre hypothèse sur le mode d'action de l'aluminium a été développée principalement à partir des recherches qui ont permis de localiser en

quantité importante l'aluminium dans le cytoplasme (voir article de Kochian, 1995). Le fait que Lazof *et al.* (1994) aient démontré que l'aluminium peut entrer dans le symplasme des cellules racinaires après une courte exposition des racines à l'aluminium a amené Kochian (1995) à proposer que la toxicité aluminique soit attribuée aux interactions de l'aluminium avec d'autres constituants du cytoplasme. Une telle hypothèse a été appuyée par les résultats obtenus dans d'autres études (Vázquez *et al.*, 1999). Dans les conditions de pH cytoplasmique d'environ 7.5 et compte tenu de l'abondance de ligands surtout organiques, la concentration en ions Al^{3+} libres est estimée dans la gamme des pico à nanomolaires dans le cytoplasme (Martin, 1988). Quoique cette quantité d'aluminium physiologiquement toxique soit faible, l'aluminium pourrait, par exemple, interagir avec le magnésium et altérer ainsi un certain nombre de processus cellulaires dont le magnésium est le régulateur.

Cependant, il importe de noter que toutes les explications basées sur l'hypothèse de mécanismes apoplasmiques ou sur l'hypothèse de mécanismes symplasmiques de toxicité aluminique ne montrent pas assez les mécanismes par lesquels l'aluminium inhibe l'élongation des racines. D'autres recherches sont encore nécessaires pour confirmer ou infirmer ces différentes hypothèses.

4.3. Parties aériennes

La faible absorption de l'eau et des éléments minéraux liée à la perturbation du fonctionnement du système racinaire des plantes cultivées en présence d'aluminium se répercute sur la croissance et le développement des parties aériennes. Plusieurs auteurs ont mentionné que l'aluminium provoque la réduction de la croissance des parties aériennes des plantes et de la production de leur biomasse (Foy *et al.*, 1967; Pavan et Bingham, 1982; Gourley *et al.*, 1990; Care, 1995; Vo Dinh Quang *et al.*, 1996; Costa de Macedo *et al.*, 1997). Au niveau des feuilles, des symptômes liés au déséquilibre nutritionnel induit par le stress aluminique sont souvent observés et sont apparentés, suivant les cas, aux symptômes de déficience en magnésium (Pavan et Bingham, 1982; Clark, 1977), en fer (Furlani et Clark, 1981) et en phosphore (Foy, 1974; Furlani et Clark, 1981).

5. Résistance au stress aluminique

La sensibilité au stress aluminique exprimée au niveau de la baisse de l'absorption de l'eau et des éléments minéraux et des paramètres de croissance des racines et des parties aériennes varie fortement suivant les espèces végétales (Fageria et Santos,

1998), mais aussi suivant les variétés au sein d'une même espèce végétale (Nelson, 1983; Foy et Murray, 1998). Cette variabilité est d'ailleurs utilisée dans les programmes de sélection des plantes résistantes au stress aluminique (Costa de Macedo, 1998). D'après Horst (1995), Kochian (1995) et Taylor (1995), la résistance au stress aluminique comprend deux types de mécanismes: (i) des mécanismes qui facilitent l'exclusion de l'aluminium et qui limitent son entrée à travers la membrane plasmique (**exclusion de l'aluminium**), et (ii) des mécanismes qui confèrent à la plante la capacité à tolérer l'aluminium dans l'apoplasme et dans le symplasme (**tolérance de l'aluminium**).

5.1. Exclusion de l'aluminium

Les arguments en faveur de l'exclusion d'aluminium comme mécanisme de résistance au stress aluminique se basent sur les études qui ont montré que les espèces ou cultivars sensibles accumulaient plus d'aluminium dans leurs racines par rapport à ceux qui étaient moins sensibles (Tice *et al.*, 1992). Ce mécanisme inclurait l'excrétion de substances organiques par les cellules de l'apex racinaire, l'augmentation du pH rhizosphérique, et la faible capacité des parois cellulaires à fixer l'aluminium.

L'un des mécanismes limitant l'entrée de l'aluminium dans les racines pourrait être l'excrétion des chélateurs organiques et inorganiques qui sont capables de former des complexes relativement stables avec l'aluminium en dehors du tissu racinaire et qui diminuent ainsi son activité dans la zone rhizosphérique. Les substances ou composés organiques excrétées par les racines comprennent des substances organiques de poids moléculaire élevé comme les polysaccharides constituant des mucilages qui coiffent les apex des racines et les ectoenzymes comme les phosphatases excrétés surtout par les zones apicales des racines. Elles comprennent aussi des substances organiques de faible poids moléculaire comme les anions (ou acides) organiques, les sucres, les phénols et les acides aminés (Marschner, 1995).

L'état ionique de ces substances organiques dépend du pH du milieu. Dans le vacuole avec des pH pouvant atteindre 4.5, la déprotonation des groupes carboxyliques est faible. Par contre, dans le cytoplasme avec un pH d'environ 7.3-7.6, la quasi-totalité des groupes carboxyliques se trouverait déprotonée, si bien que le terme "anion" organique convient dans ces conditions. De même, dans les parois cellulaires (apoplasme) avec un pH d'environ 5.5, une partie importante des groupes carboxyliques de ces substances serait aussi déprotonée (Marschner, 1995). Il faut aussi penser à la formation des complexes entre ces substances organiques et certains

cations dans les parois et dans les cellules. Cela montre la complexité de l'état de ces substances organiques qui seraient excrétées surtout sous forme d'anions, mais la question se pose sur la nature des cations qui les accompagnent. Dans la plupart des cas, ce seraient les protons, puisqu'il est possible que les anions organiques soient cotransportés avec les protons lors de l'excrétion.

Plusieurs études ont montré que l'aluminium stimulait l'excrétion de malate (Delhaize *et al.*, 1993; Ryan *et al.*, 1995), de citrate (Miyasaka *et al.*, 1991; Pellet *et al.*, 1996; de la Fuente *et al.*, 1997), de pyruvate (Larsen *et al.*, 1998), d'oxalate (Larsen *et al.*, 1998; Zheng *et al.*, 1998) et du phosphore inorganique (Pellet *et al.*, 1996) chez les génotypes résistants et non chez les génotypes sensibles. D'autres études ont données des résultats qui mettent en doute le rôle réel des excréments organiques comme mécanisme de résistance des plantes à la toxicité aluminique. Les résultats obtenus dans les expériences réalisées par Costa de Macedo (1998) ont effectivement confirmé la stimulation de l'excrétion de malate par l'aluminium mais les quantités excrétées étaient identiques chez les cultivars résistants et chez les cultivars sensibles. D'autre part, certains auteurs doutent que les quantités excrétées ne soient insuffisantes pour réellement détoxifier l'aluminium présent dans la rhizosphère (Parker et Pedler, 1998; Zheng *et al.*, 1998).

La capacité d'échange cationique des racines (CECR) a été aussi impliquée dans le contrôle de l'entrée d'aluminium dans les racines. Des résultats obtenus dans plusieurs études ont amené certains auteurs à considérer que la résistance des plantes au stress aluminique est favorisée par une faible capacité d'échange cationique des parois cellulaires parce que dans ces conditions, l'aluminium se fixerait en faibles quantités dans les parois cellulaires (Mugwira et Elgawhary, 1979; Rengel et Robinson, 1989b; Blamey *et al.*, 1990; Büscher *et al.*, 1990). Cependant, la corrélation entre la CECR et la résistance à l'aluminium des espèces végétales ou des cultivars a été observée dans certains cas et non dans d'autres (Blamey *et al.*, 1992; Kochian, 1995; Ishikawa et Wagatsuma, 1998). Ce manque de convergence sur la relation CECR-résistance à l'aluminium pourrait être dû à la diversité des techniques de mesure de la CECR et surtout au fait que la CECR varie beaucoup en fonction de l'âge de la racine, la CECR étant normalement élevée dans les zones racinaires jeunes par rapport aux zones plus âgées (Godbold et Jentschke, 1998). Or, la plupart des mesures de la CECR ont été effectuées sur des racines entières, leurs valeurs étant alors influencées par la proportion des parties jeunes par rapport aux parties âgées des racines.

Un autre mécanisme d'exclusion d'aluminium fréquemment avancé est la modification du pH rhizosphérique. Cette hypothèse est basée sur le fait que la solubilité, la spéciation et la phytotoxicité d'aluminium sont liées au pH du milieu. Une alcalinisation de la rhizosphère pourrait alors réduire la concentration et l'activité des ions d'aluminium toxiques. Plusieurs études réalisées en solutions nutritives et en sol ont montré des différences pouvant atteindre 2 unités pH entre la zone rhizosphérique et la zone non-rhizosphérique (Gijsman, 1990; Haynes, 1990; Hinsinger et Gilkes, 1995), et beaucoup d'entre-elles ont montré que l'augmentation du pH rhizosphérique était corrélée avec la résistance des plantes à l'aluminium (Foy *et al.*, 1967; Mugwira et Elgawhary, 1979). Cette modification de pH rhizosphérique comme moyen des plantes à résister à la toxicité aluminique est une hypothèse à considérer avec beaucoup de réserves (Kochian, 1995) parce que les plantes excrètent les ions H^+ ou OH^- en fonction de la balance cations-anions absorbés (Moorby *et al.*, 1985; Gijsman, 1990; Haynes, 1990; Loss *et al.*, 1993; Hinsinger et Gilkes, 1995). Cependant, Degenhardt *et al.* (1998) ont récemment appuyé cette hypothèse en mettant en évidence une augmentation de pH à la surface des racines d'*Arabidopsis thaliana* en présence d'aluminium et non en absence d'aluminium, et cette augmentation de pH était deux fois plus élevée chez un mutant résistant (Alr-104) par rapport au type sauvage sensible.

5.2. Tolérance à l'aluminium

Beaucoup de recherches sur les mécanismes de résistance des plantes à la toxicité aluminique ont été orientées sur les mécanismes d'exclusion de l'aluminium par rapport aux mécanismes de tolérance de l'aluminium (Kochian, 1995). Pourtant, certaines espèces végétales résistantes à l'aluminium comme le thé (*Camellia sinensis*) (Matsumoto *et al.*, 1976), le *Richeria grandis* (Cuenca *et al.*, 1991) et le *Melastoma malabathricum* (Watanabe *et al.*, 1998) accumulent de grande quantité d'aluminium dans leurs racines et aussi dans leurs feuilles ce qui implique des mécanismes de tolérance de l'aluminium présent dans leurs tissus. La complexation de l'aluminium par des peptides de faible poids moléculaire (Aniol, 1984) ou par des anions d'acides organiques comme le citrate (Ma *et al.*, 1997) et l'oxalate (Watanabe *et al.*, 1998) a été considérée comme une possibilité de réduction de l'activité de l'aluminium dans les tissus de ces plantes. Cependant, des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ou infirmer ces hypothèses. En effet, la synthèse de protéines particulières induite par la présence d'aluminium a été observée mais parfois en proportions comparables chez les plantes résistantes et chez les plantes sensibles (Cruz-Ortega et Ownby, 1993). De même, Watanabe *et al.* (1998) ont observé que la concentration en oxalate dans les racines des plantes traitées avec

l'aluminium ne différait pas de celle observée chez les racines des plantes cultivées en absence d'aluminium. Ces observations mettent en doute les mécanismes de tolérance proposées.

5.3. Quelques aspects génétiques de la résistance à l'aluminium

La sélection des espèces et des variétés végétales résistantes à la toxicité aluminique et leur culture sur des sols acides est une technique utilisée depuis longtemps et qui permet d'augmenter les rendements sur ce type de sols. Plusieurs études réalisées pour identifier les gènes responsables de cette résistance indiquent que celle-ci serait liée à un caractère dominant contrôlé par plusieurs gènes additifs (Gourley *et al.*, 1990; Aniol, 1991; Bona *et al.*, 1994; Spehar et Galwey, 1996).

L'identification des gènes de résistance à l'aluminium constitue la préoccupation de nombreux programmes de recherche visant à sélectionner des plantes à cultiver sur des sols acides. La production de génotypes résistants à l'aluminium à partir des génotypes sensibles a été réalisée chez différentes espèces végétales, notamment par voie de variations somaclonales obtenues lors des cultures des cellules *in vitro* (Arihara *et al.*, 1991; Van Sint Jan *et al.*, 1997). Cependant, cette technique présente des limitations pouvant retarder ou bloquer son exploitation à grande échelle. Après avoir sélectionné des lignées cellulaires résistantes à l'aluminium, il faut pouvoir régénérer des plantules et tester la stabilité des caractères sélectionnés au niveau de la descendance (Conner et Meredith, 1985; Wersuhn *et al.*, 1994). La limitation de cette technique provient également de la fertilité très réduite des plantes issues de ce type de sélection (Van Sint Jan *et al.*, 1997).

Les manipulations génétiques permettant de produire des génotypes transgéniques résistants à l'aluminium à partir des génotypes sensibles sont également une voie de recherche explorée (de la Fuente *et al.*, 1997). Ces auteurs ont introduit chez le tabac (*Nicotiana tabacum*) et la papaye (*Carica papaya*) un gène de citrate-synthétase isolé d'une bactérie *Pseudomonas aeruginosa* et ont produit ainsi des plantes transgéniques pouvant accumuler 10 fois et excréter 4 fois plus d'acide citrique que les plantes non modifiées. Corrélativement, ces plantes transgéniques manifestaient une grande résistance à l'aluminium. La transformation génétique des plantes est actuellement utilisée dans plusieurs domaines de la biologie des plantes et de nombreux auteurs ont démontré le succès de cette nouvelle technologie (voir l'article de Birch, 1997).

6. Mycorhizes

La mycorhization est présentée par Marschner (1995) comme une association symbiotique entre les microorganismes fongiques et les plantes supérieures. Wilcox (1991) estime que 83 % des dicotylédones, 79 % des monocotylédones et tous les gymnospermes sont mycorhizés. Cette mycorhization ne dépend pas uniquement des plantes, mais elle est aussi influencée par le type de sol. Elle est généralement absente chez les plantes qui grandissent sur des sols de fertilité extrêmement élevée ou extrêmement faible (Brundrett, 1991). Les effets bénéfiques de la mycorhization se traduisent par une croissance des plantes mycorhizées supérieure à celle des plantes non mycorhizées et une diminution de la sensibilité des plantes à l'acidité et à la toxicité aluminique (Cumming et Weinstein, 1990; Clark et Zeto, 1996; Clark, 1997), à la toxicité des métaux lourds (Díaz *et al.*, 1996) mais aussi à d'autres contraintes abiotiques et biotiques (Umesch *et al.*, 1989; Perrin, 1990).

6.1. Les groupes de mycorhizes

D'après Marschner (1995), les mycorhizes se répartissent essentiellement en deux groupes majeurs en fonction de la manière dont les mycélium fongiques s'associent aux structures des racines: les ectomycorhizes et les endomycorhizes.

Les **ectomycorhizes** se caractérisent principalement par un manchon dense d'hyphes autour de la surface racinaire qui se prolongent vers l'extérieur dans le sol par des hyphes qui forment un réseau extra-racinaire et vers la racine par des hyphes qui pénètrent dans les espaces intercellulaires du cortex racinaire. On parle de réseau de Hartig. La plupart de ces champignons sont des Basidiomycètes (environ 95%), les autres étant des Ascomycètes et des Zygomycètes.

Chez les **endomycorhizes**, le champignon vit dans les cellules corticales des racines où il développe des hyphes intercellulaires, et s'étend dans le sol par un réseau mycélien lâche (hyphes externes ou mycélium extraradriculaire). Les endomycorhizes sont de plusieurs types dont les plus connus sont (1) les mycorhizes à vésicules et arbuscules plus communément appelées mycorhizes à arbuscules (MA) (Morton et Benny, 1990), (2) les mycorhizes éricoïdes et (3) les mycorhizes orchidoïdes. Les mycorhizes à arbuscules sont de loin les plus abondantes (Smith et Read, 1997) et sont caractérisées par la formation de vésicules inter- et intracellulaires et d'arbuscules intracellulaires. Ces champignons sont des Zygomycètes qui appartiennent à 6 genres, *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*,

Sclerocystis et *Scutellospora*. Lamont (1982) pense que le genre *Glomus* est le plus abondant dans les champignons du sol.

Il existe aussi un autre groupe qui présente des caractéristiques communes aux ectomycorhizes et aux endomycorhizes. Ce sont les **ectendomycorhizes**, qui ne concerneraient que quelques espèces végétales appartenant aux familles des Monotropacées et Arbutacées.

6.2. Associations mycorhizes à arbuscules - plante hôte

La colonisation des racines des plantes hôtes par les mycorhizes à arbuscules (MA) s'effectue à partir des propagules du sol (spores ou résidus racinaires) ou d'autres racines environnantes (Miller et McGonigle, 1992). Les hyphes perforent les parois cellulaires du cortex racinaire et jamais du cylindre central et ne franchissent pas le plasmalemme. La paroi de la cellule racinaire est alors remplacée par une couche d'isolement constituée essentiellement de polysaccharides. La zone d'apposition correspond donc à un apoplaste mixte qui remplit une double fonction, d'une part l'isolement, et d'autre part, la communication.

La colonisation des racines par les MA est influencée par plusieurs facteurs liés à l'espèce fongique, à la plante-hôte et à l'environnement de la racine, et ces facteurs interagissent. Des différences de réponse des plantes sont souvent observées entre les espèces végétales mais aussi entre les variétés d'une même espèce végétale (Mercy *et al.*, 1990; Vierheilig et Ocampo, 1991). Chez les plantes non-hôtes des MA, par exemple les *Chenopodiaceae* et les Crucifères, l'incompatibilité serait causée par la composition des exsudats racinaires qui contiendraient des toxines ou à une augmentation des réactions de défense de l'hôte contre la colonisation, à la manière de la défense contre les agents pathogènes (Anderson, 1988; Parra-Garcia *et al.*, 1992). L'environnement influence la colonisation de la racine notamment par sa composition chimique ou la présence d'autres microorganismes. Clark (1997) a montré que la colonisation des racines par les champignons MA peut être inhibée par les faibles pH du sol, mais cette influence dépend de l'espèce fongique (Howeler *et al.*, 1987) et de la plante hôte (Nurlaeny *et al.*, 1996). La colonisation des racines peut aussi être augmentée ou supprimée par l'apport d'éléments nutritifs. Par exemple, à des teneurs extrêmement élevées (Amijee *et al.*, 1990, 1993; Thomson *et al.*, 1990) ou faibles (Bolan *et al.*, 1984) en phosphore dans le sol, la colonisation des racines par les champignons MA est faible. D'autre part, Pacovsky *et al.* (1985) ont observé une stimulation de la colonisation des racines par les endomycorhizes en présence d'*Azospirillum*.

6.3. Intérêt agronomique des mycorhizes

La croissance des racines et parties aériennes est stimulée chez la plupart des plantes mycorhizées par rapport aux plantes non-mycorhizées (Nurlaeny *et al.*, 1996; Clark, 1997). Cependant, l'effet de la mycorhization est parfois différent en fonction du génotype (Borie et Rubio, 1999), de l'espèce fongique (Lambais et Cardoso, 1990) et de la nature du substrat de croissance (Clark et Zeto, 1996). La croissance élevée des plantes mycorhizées par rapport aux plantes non-mycorhizées a été attribuée à la contribution des champignons à l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs par les plantes. Sur un substrat pauvre en éléments nutritifs, les mycélium externes des champignons augmentent la surface d'absorption et permettent aux plantes mycorhizées d'accéder aux éléments en quantité limitée tels que le phosphore et les autres éléments de faible mobilité dans le sol comme le zinc et le cuivre (Marschner et Dell, 1994). La mycorhization améliore aussi souvent la croissance des plantes cultivées sur des substrats présentant des problèmes, tels que les sols acides à toxicité aluminique. Plusieurs études ont montré que dans les sols acides ou dans un autre milieu riche en aluminium soluble, les plantes mycorhizées produisent plus de matière sèche que les plantes non-mycorhizées (Clark et Zeto, 1996; Mendoza et Borie, 1998; Borie et Rubio, 1999). Dans ce cas, les mycorhizes agiraient en piégeant les éléments toxiques dans les réseaux mycéliens extra-racinaires, ce qui protégerait les racines contre les dommages causés par cet élément toxique (Cumming et Weinstein, 1990).

Chez le bananier, l'efficacité des champignons mycorhiziens a été démontrée notamment par le gain de biomasse végétale (Lin et Chang, 1987; Declerck *et al.*, 1994, 1995), l'augmentation de la teneur en éléments minéraux (Declerck *et al.*, 1994; Jaizme-Vega et Azcon, 1995) et par l'aptitude prophylactique à l'égard de nombreux microorganismes telluriques (Umesch *et al.*, 1989). Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée jusqu'à nos jours sur les effets de la mycorhization sur la résistance des bananiers à la toxicité aluminique.

Objectif de la Recherche et Méthodologie

1. Objectif de la Recherche

Certaines études citées dans la partie "Revue bibliographique" (Champion, 1970; Wilson, 1987; Wilson *et al.*, 1987; Nweke *et al.*, 1988; Ruhigwa *et al.*, 1994; Ruhigwa *et al.*, 1995) ont donné des résultats qui montrent que la croissance et la productivité des bananiers sont faibles en sols acides et pauvres en éléments minéraux présentant un risque de toxicité aluminique. La toxicité aluminique a été étudiée sur la plupart de espèces végétales, et les résultats obtenus ont montré qu'elle constitue le facteur majeur limitant la croissance et la production de la plupart des plantes cultivées en sols minéraux acides. Dès lors, l'étude de la toxicité aluminique chez le bananier apparaît donc comme pertinente particulièrement chez les bananiers nouvellement installés sur des sols acides sans apport de matière organique. C'est aussi un problème susceptible d'apparaître chez les bananiers cultivés sur des sols après un défrichement marqué par une baisse rapide de taux de matière organique, un appauvrissement en éléments basiques et une augmentation de l'acidité du sol: ce problème peut sans doute se poser avec une certaine acuité au niveau des "fronts pionniers".

Mais à notre connaissance, aucune étude approfondie n'a été réalisée sur le bananier jusqu'à ce jour alors que cette plante est principalement cultivée dans les régions tropicales où les sols minéraux acides sont largement dominants (von Uexküll and Mutert 1995). Pourtant, le bananier est une culture d'une grande importance dans la vie sociale et économique surtout dans les pays des régions tropicales. Notre travail est donc motivé par le souci de combler cette lacune.

2. Méthodologie

2.1. Choix des cultivars

Les cultivars utilisés dans cette recherche sont parmi les plus importants dans les deux zones écologiques d'Afrique les plus productrices de bananes. Ces zones sont d'une part, la région forestière de basse à moyenne altitude et de climat chaud et humide d'Afrique Centrale et de l'Ouest (Wilson, 1987), et d'autre part, les régions

montagneuses d'Afrique de l'Est à climat tempéré par l'altitude (Sebasigari, 1987). Parmi les bananiers cultivés dans les régions de basse à moyenne altitude d'Afrique Centrale et de l'Ouest, un cultivar de bananier à dessert Grande Naine (Sharrock et Frison, 1999), et deux cultivars de bananier plantain Agbagba (Swennen et De Langhe, 1985) et Obino l'Ewai (Swennen, 1990) ont été choisis. Ces cultivars sont d'une grande importance dans l'exportation (source de devises) pour le premier cultivar et dans la consommation locale pour les deux autres. Quant aux cultivars rencontrés dans les régions montagneuses d'Afrique de l'Est le choix a porté sur les cultivars de bananier à bière Kayinja et Igitsiri (synonyme Intuntu au Rwanda) en raison de leur importance comme source de revenus des ménages (Champion, 1970; Sebasigari, 1987; Sebasigari, 1990). Leurs principales caractéristiques sont données au tableau 1. Tous ces cultivars sont des triploïdes répartis en quatre groupes, AAA, AAA-EA, AAB et ABB. En terme d'importance, les triploïdes sont en effet plus importants que les diploïdes et les tétraploïdes (Shepherd, 1957).

Tableau 1: Principales caractéristiques des cultivars utilisés dans l'expérience.

Caractéristiques	Cultivars				
	Grande Naine	Igitsiri	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewai
Groupe	AAA	AAA-EA	ABB	AAB	AAB
Catégorie	-	-	-	medium false horn	medium french
Zone agricole	Basse altitude	Plateaux de l'Afrique de l'Est		Basse altitude de l'Afrique de l'Ouest	
Utilisation	Banane à dessert	Banane à bière		Plantains à cuire	

2.2. Milieux de culture

Les différentes expériences ont été réalisées en phytotron et en serres. Ils nous fallait en effet des milieux permettant le contrôle des paramètres de l'environnement comme la luminosité, l'humidité et la température.

Le système de culture en hydroponie avec flux continu de solution nutritive (Declerck *et al.*, 1998a) a été utilisé pour étudier les effets de l'aluminium sur l'absorption de l'eau et des éléments minéraux et sur la croissance des bananiers. Il offre l'avantage de pouvoir suivre l'évolution dans le temps des taux d'absorption d'eau et des éléments minéraux, en plus d'autres observations qui peuvent être réalisées sur les paramètres de croissance des plantes. Le système de culture sur sable

avec alimentation en flux continu de solution nutritive a été utilisé pour les expériences qui ne pouvaient pas être réalisées en culture hydroponique. Du sable quartzitique a été utilisé comme substrat solide parce qu'il est inerte et n'influence pas d'une manière significative les propriétés chimiques du milieu de culture.

2.3. Composition des solutions nutritives de culture

D'une part, la composition de cette solution nutritive a été déterminée en tenant compte des données disponibles sur la composition minérale des jeunes bananiers (Marchal et Mallessard, 1979; Lahav, 1995) comme indicateur des besoins en éléments nutritifs et des rapports de ces éléments dans les jeunes bananiers. Par exemple, les immobilisations des éléments minéraux par des vitroplants de bananiers sont dans des rapports pondéraux suivants: Ca/Mg = 2-3, Mg/K = 0.06-0.1, Ca/K = 0.1-0.3, N/K = 0.5-1, N/P = 10-15, P/S = 1-1.6 et Cl/S = 2-3.

D'autre part, on a tenu compte des concentrations réalistes en éléments minéraux dans la solution des sols tropicaux acides. Le calcium a été considéré comme "bruit de fond" comme dans le sol. Une concentration de 1 mM en Ca a été considérée comme réaliste dans une solution de sol. Ce calcium permettra d'ajouter le N-NO_3 jusqu'à 2 mM. Cette concentration de 2 mM a été ensuite fixée comme le maximum en azote total. Par conséquent, en ajoutant du N-NH_4 à la solution, on maintiendra le calcium à 1 mM avec anions SO_4 et Cl en rapports molaires fixes de 2 Cl pour 1 SO_4 . De même pour le N-NH_4 , on l'accompagnera du Cl et SO_4 dans le même rapport. La teneur en N-NH_4 a été fixée de manière à obtenir N-NH_4 qui représente 10% de l'azote total, sauf pour les expériences dont les résultats sont montrés au Chapitre 5 où le N-NH_4 représente 30% de l'azote total en vue de stimuler davantage l'excrétion de protons par les racines.

La concentration en potassium a été fixée à 1 mM et celle de Mg à 0.1 mM. Le rapport Ca/Mg et Ca/K observé dans les plantes ne sera donc pas respecté. Mais il en est ainsi dans le sol où le calcium est toujours en excès par rapport au magnésium. La teneur en phosphore a été fixée de manière à ne pas avoir des carences pour les plantes, mais aussi cette teneur ne devrait pas être trop élevée pour éviter le risque de complexation de tout l'aluminium. Le sodium est apporté comme cation accompagnateur du phosphate. Des oligo-éléments (Fe, Mn, Mo, Cu Zn et B) ont été aussi ajoutés. A titre indicatif, la concentration de la plupart des macroéléments (notamment le calcium, potassium et phosphore et soufre, rapport $\text{N-NH}_4/\text{N-NO}_3$) est du même ordre de grandeur que celle des solutions récoltées par lysimétrie dans des sols acides en Côte d'Ivoire (Roose, 1981).

La concentration en aluminium a été déterminée de la façon suivante:

(1) Nous avons supposé un sol minéral acide à pH 4.2 et nous avons considéré que la solubilité de l'aluminium obéit à la relation $\log(\text{Al}^{3+}) = A - 3\text{pH}$ (Lindsay, 1979), avec A compris entre 6.73 lorsque la kaolinite est le minéral contrôlant cette solubilité et 8.03 dans le cas de la gibbsite, ce qui correspond à une activité en Al^{3+} comprise entre 1.3×10^{-6} et 2.7×10^{-5} M, respectivement.

(2) Nous avons ensuite fixé une activité en Al^{3+} de 10^{-5} M correspondant à une constante A égale à 7.6, soit une situation intermédiaire de solubilité d'aluminium.

(3) Nous avons ensuite introduit dans le Programme SPECIES (Barak, 1990) les concentrations des différents éléments contenus dans la solution nutritive et la concentration totale en aluminium a été fixée comme concentration qui correspondait à l'activité fixée à 10^{-5} M en ions Al^{3+} selon les résultats de calcul de ce Programme. Cette concentration en aluminium total était de 78.5 μM (Traitement aluminique indiqué par +Al dans les Chapitres 1, 2 et 3, et par Al_2 dans le Chapitre 6).

Ce Programme SPECIES montrait que l'aluminium était présent dans cette solution nutritive sous les formes principales suivantes:

- (1) AlHPO_4^+ qui représente 63% de l'aluminium total;
- (2) Al^{3+} libre qui représente 26% de l'aluminium total;
- (3) AlSO_4^+ qui représente 7% de l'aluminium total;
- (4) $\text{Al}(\text{OH})^{2+}$ qui représente 3% de l'aluminium total.

Le phosphore se trouve presque entièrement sous forme de complexe avec l'aluminium, $\text{Al}(\text{HPO}_4)^+$ à 99.5%.

La concentration de 180 μM en aluminium (Traitement Al_2 dans le Chapitre 6) a été utilisée parce que, lors d'une expérience préliminaire visant à établir le protocole expérimental, les résultats obtenus avaient montré une moindre sensibilité à la dose de 78.5 μM en aluminium chez les bananiers (cv Grande Naine) cultivés sur du sable. Nous avions alors été amenés à ajouter un autre traitement aluminique à une dose élevée, fixée arbitrairement à 180 μM en aluminium.

Le pH des solutions est celui qui résulte naturellement de la préparation des solutions: 5.1 à 5.2 pour la solution nutritive sans Al, 4.2 pour la solution nutritive avec 78.5 μM Al et 4.0 pour la solution nutritive avec 180 μM Al.

Les détails sur la composition et la spéciation des éléments en solutions nutritives sont donnés au tableau 1 et 2 en annexe 1.

1

Effect of aluminium on five banana (*Musa* spp.) cultivars. I. Water and nutrient uptake¹

Abstract

Although Al is a major limiting growth factor for most cultivated plants in acid soils, no detailed studies were reported so far for banana (*Musa* spp.) despite of its importance in the tropical regions. This chapter aims at providing scientific baselines on the effect of Al on young banana plants. Vitroplants of 5 cultivars, Grande Naine, Agbagba, Obino l'Ewaï, Igitsiri and Kayinja, were grown for 40 d in a phytotron with a temperature close to that of their cropping areas. Dilute nutrient solutions were supplied continuously with peristaltic pumps. Two treatments were compared, i.e. input solutions without Al, and input solutions with 78.5 μM Al. Measurements of daily water use and nutrient uptake were carried out twice a week. Plant water uptake was reduced in Al treatments and cumulative detrimental effects were observed. After 40 d, water uptake was only 30-40 % of the control. Nutrient uptake (Ca, Mg, K, P, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, Mn, Fe, Mo, B, S, Cl) increased with time in control treatments, whereas Al inhibited the uptake of all elements, particularly Mg and Mn. As for water absorption, cumulative effects were observed: after 40 d, most nutrient uptake rates were reduced by more than 50% relatively to the control. The nutrient uptake rates in the presence of Al were similar to those in the control at similar water uptake rates. This suggests that effects on convective nutrient uptake along with water flow should first explain Al effects on nutrient uptake. The plantain bananas, Agbagba and Obino l'Ewaï, are more resistant to Al than the others. Rhizosphere acidification or alcalinisation were also monitored. In control treatments, acidification was first noticed in all cases due to preferential uptake of $\text{NH}_4\text{-N}$ over $\text{NO}_3\text{-N}$. In some cases, alcalinisation occurred after about 4 weeks when N needs increased to such an extent that the daily input $\text{NH}_4\text{-N}$ quantities were exhausted and that $\text{NO}_3\text{-N}$ uptake drastically increased. In Al treatments, only little changes of pH were observed, because of the acidity of the input solutions (pH 4.2) and the inhibition of plant metabolism.

1.1. Introduction

Aluminium excess is a major stress limiting plant growth and crop yield in acid soils of tropical and subtropical regions (Foy, 1984; Horst, 1995; von Uexküll and Mutert, 1995). Although bananas (*Musa* spp.) are among the most important crops in the tropics, only very limited studies were reported so far on the sensitivity of these plants to Al stress (Delvaux, 1995). Plantains, a subgroup of bananas, have been reported to be more resistant to soil acidity than other banana cultivars. Spain *et al.* (1975) consider plantains as suitable crops for acid soils and Rodriguez-Garcia *et al.* (1985) observed that plantains can tolerate up to 77 % Al on the effective cation exchange capacity.

Systematic studies on this topic are needed because bananas represent an important food source for the populations in the tropics because only 13 % of the world banana production is exported (Sharrock and Frison, 1999). Besides, bananas exhibit a very large diversity. Banana is a generic term to denominate dessert or sweet bananas, cooking bananas, plantains, and East African Highland bananas (comprising cooking and beer bananas) (Swennen and Rosales, 1994). Genomes A and B refer to the banana species *Musa acuminata* and *Musa balbisiana*, respectively (Simmonds and Shepherd, 1955). Banana involves the diploid, triploid and tetraploid hybrids deriving from these two species. For example, exported dessert bananas mostly belong to the cultivar Grande Naine, Cavendish subgroup, *Musa acuminata* Colla cv AAA while plantains are AAB hybrids.

The purpose of our research was to assess the Al sensitivity of young banana plants in controlled nutrient solutions in order to provide scientific baselines for further applied studies. A screening of 5 cultivars was carried out. This chapter focusses on the effect of Al on plant water uptake and nutrient uptake. A second chapter deals specifically with plant growth and chemical composition.

1.2. Material and methods

This study concerns 3 banana cultivars that are very common in low altitude areas of West Africa, i.e. Grande Naine (AAA dessert banana) (Champion, 1963), Agbagba (AAB medium false horn plantain) (Swennen and Vuylsteke, 1987) and Obino l'Ewaï (AAB french plantain) (Swennen and Vuylsteke, 1987), and 2 banana varieties cultivated in the East African highlands, i.e. Igitsiri (AAA-EA, "beer variety") (Sebasigari, 1990) and Kayinja (ABB, a "cooking variety" but known in the Eastern Africa as a "beer variety") (Sebasigari, 1987). The experiments were conducted in

¹ Text submitted for publication to *Plant and Soil* with the following authors: Gervais RUFYIKIRI, Joseph E. DUFÉY, Didier NOOTENS and Bruno DELVAUX

growth chambers at $448 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ photon flux density 12 h per day, 90 % relative humidity, 28/25°C day/night temperature for the 3 low altitude cultivars, and 24/20°C day/night temperature for the 2 "beer varieties" cultivated in the highlands; these temperatures are close to those encountered in the respective cropping areas. One experiment at 28/25°C was also performed with Kayinja to assess possible effects of temperature on Al sensitivity.

Vitroplants supplied by Vitropic (Montpellier, France) for Grande Naine and produced by ourselves in the Musa Germplasm Transit Centre (Heverlee, Belgium) of the International Network for Improvement of Banana and Plantain (INIBAP) for the four other cultivars were weaned for 3 weeks in aerated nutrient solution tanks. Among the tallest out of 50 vitroplants for each cultivar, six homogeneous individuals of average height of 7.5, 15.0, 17.1, 17.1 and 8.0 cm for Grande Naine, Kayinja, Agbagba, Obino l'Ewai and Igitsiri, respectively, were selected and transferred to 2.5 L pots (one plant per pot).

Nutrient solution was supplied continuously by peristaltic pumps at a rate of $104 \text{ mL h}^{-1} \text{ pot}^{-1}$ so that the mean residence time of solution in pots was one day (Declerck *et al.*, 1998a). Half of the plants (i.e. 3 pots per cultivar) were supplied with a solution having the following composition, in macroelements (mM): 0.9 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.05 CaSO_4 , 0.05 CaCl_2 , 0.5 KCl, 0.25 K_2SO_4 , 0.05 MgCl_2 , 0.05 MgSO_4 , 0.1 NH_4Cl , 0.05 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.05 NaH_2PO_4 , and in microelements (μM): 80 H_3BO_3 , 80 FeEDTANa , 8 MnCl_2 , 0.8 ZnSO_4 , 0.8 CuSO_4 , 5.6 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$. This composition was determined from (1) the nutrient requirements and the mineral equilibria as established for young bananas (Marchal and Mallessard, 1979; Lahav, 1995) and, (2) the realistic ion concentrations in solutions of tropical acid soils (Roose, 1981). The other banana plants were supplied with the same solution to which $78.5 \mu\text{M}$ Al was added as $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$. The two treatments are noted (-Al) and (+Al) respectively.

The reference Al concentration was fixed as a plausible value in soil solution at pH 4.2 assuming that monomeric Al^{3+} activity should obey the thermodynamic relationship $\log(\text{Al}^{3+}) = A - 3 \text{ pH}$ in mineral soil horizons, where A is a constant ranging between 6.73-8.03 (Lindsay, 1979) corresponding to Al^{3+} activity ranging between $10^{-5.87}$ - $10^{-4.57}$ M, respectively. We choose an Al^{3+} activity of 10^{-5} M (corresponding to $A = 7.6$). The Al concentration was computed as the value of total Al which gave this fixed Al^{3+} activity, in the presence of other elements given above, with the program SPECIES (Barak, 1990). The details on mineral element speciations in the nutrient solutions are given in Annexe 1 (Table 1). The pH of the

nutrient solutions was not adjusted but was the one which naturally resulted from the preparation of the solutions: 5.2 for the -Al treatment and 4.2 for the +Al treatment.

Water and nutrient absorption measurements were carried out twice a week during 40 d. Water uptake was assessed by weighing input and output solutions of each pot over 1 d. Nutrient uptake was calculated as the difference between daily input and output quantities for each pot, i.e. the difference between the product of concentration and solution volume at input and output. The cumulative water and nutrient uptake was calculated using the General Linear Models (GLM) procedure of the statistical software SAS (SAS institute, 1985). Calcium, Mg, Fe, Mn, Cu, Mo, B, and Al were measured by Direct Current Plasma (DCP) emission spectroscopy, K by atomic absorption spectrophotometry, $\text{NO}_3\text{-N}$ and $\text{NH}_4\text{-N}$ by Kjeldahl distillation, S and P by colorimetry, and Cl and pH by specific electrodes.

The net release of H^+/OH^- ions by roots was assessed from the pH values observed in output solutions. To that purpose pH buffering curves (i.e. pH vs H^+/OH^- added) were established for solutions similar to those supplied to plants. Regression polynomial equations fitting these curves were then used to back-calculate the net H^+/OH^- release by plant roots.

The General Linear Models (GLM) procedure of the statistical software SAS (SAS Institute, 1985) was used for statistical analysis of the data. Significant differences were considered at $P \leq 0.05$ and mean values were ranked by the Scheffé's multiple range test when more than two groups of data were compared by analysis of variance (ANOVA) or by T-test paired method when only two groups of data were compared.

1.3. Results and discussion

1.3.1. Water uptake

Fig. 1.1 shows plant water uptake rate as a function of time. Absolute values (L d^{-1}) are given for the control treatment (-Al) whereas relative values are given for Al treatments (+Al) in order to easily compare the depressive Al effects for different banana cultivars. In experiments without Al, the daily water consumption regularly increased with time in response to increasing plant needs. Three groups of plants can be discriminated statistically (Table 1.1): Grande Naine and Kayinja at 28/25°C, Agbagba and Obino l'Ewai at 28/25°C, and Igitsiri and Kayinja at 24/20°C with high, intermediate, and low water uptake rate, respectively.

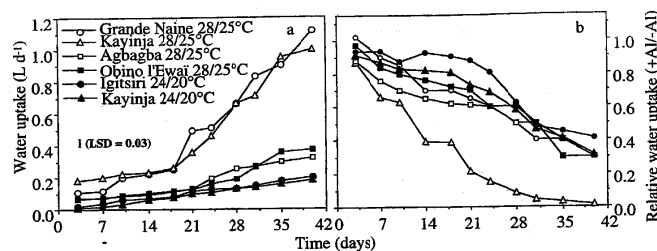


Figure 1.1. Plant water uptake in the course of experiments (a) without Al and (b) with $78.5 \mu\text{M Al}$ (Al^{3+} activity = 10^{-5} M) for 5 banana cultivars at 2 temperatures. Absolute water uptake rates are given for control treatments (left) and relative values, i.e. ratio of water uptake rates with and without Al, are given for Al treatments (right). Average values of 3 replicates. Vertical bar represents the LSD between the average values of cultivars.

In the presence of Al, water uptake is significantly depressed (Table 1.1 and 1.2) and the Al detrimental effect is increasing with time as compared to the control treatment. After 40 d, the relative water uptake rate is in the range 30-40 % except for the Kayinja cultivar at $28/25^\circ\text{C}$ that was almost dying at the end of the experiment. It is worth noticing that Kayinja behaves like the other cultivars when temperature is lower ($24/20^\circ\text{C}$), close to that of its cropping area.

The reduction of banana water uptake in the presence of Al corroborates with previous studies involving different plant species. Various reasons were given to explain this effect: (1) Al decreases membrane permeability in the root cortex by inducing structural changes in bilipidic layers (Zhao *et al.*, 1987; Ishikawa and Wagatsuma, 1998); (2) Al decreases the root hydraulic conductivity due to the impairment of root metabolism (Kruger and Sucoff, 1989); (3) Al increases the production of abscisic acid (ABA) in roots (Foy, 1988) and the translocation of ABA to leaves might reduce the opening of stomata (Lösch, 1989); (4) Al decreases the water permeability of the plasma membrane, and increases the cytoplasm viscosity (Arp and Struel, 1989). In these respects the effects of Al on water uptake should be similar to the effect of anoxic conditions (Taylor, 1983), although the mechanisms might be different.

1.3.2. Nutrient uptake

Figure 1.2 shows the rate of macro- and micro-nutrient uptake during the 40 days of experiment. As in Figure 1.1 absolute values (mg d^{-1}) are given for the control treatment without Al, whereas relative values are presented for the Al treatment. Qualitatively, these curves are similar to those shown for water uptake: in solutions without Al, nutrient uptake rate increases with time; the Grande Naine and Kayinja cultivars at $28/25^\circ\text{C}$ have the highest average uptake rates for most elements (Table 1.1), but the differences with the other cultivars tend to vanish for K, P and $\text{NH}_4\text{-N}$ uptake after about 30 d.

In the presence of Al, nutrient uptake is significantly depressed (Table 1.1 and 1.2) and, as for water use, by cumulative effect, the difference with the control treatment increases with time. Magnesium and Mn uptake rates are the most affected by Al. Among the cultivars, Kayinja at $28/25^\circ\text{C}$ presents the lowest uptake rates except for P and Fe. One can notice that the earliest difference between this cultivar at $28/25^\circ\text{C}$ and the others concerns boron uptake which is quickly reduced in the presence of Al to 10 % of the control.

The effect of Al on nutrient uptake is more documented in literature than the effect on water use, but to our knowledge no data were reported for banana. With various other crops, Al was shown to particularly reduce N, Mg, and Ca absorption (Clarkson and Sanderson, 1971; Tang Van Hai *et al.*, 1989; Galvez and Clark, 1991; Keltjens, 1995; Calba and Jaillard, 1997). It seems well established that the detrimental Al effect on ion uptake does not result from a straightforward and unique mechanism. Aluminium can compete with other cations, for the exchange sites in root cell walls (Dufey *et al.*, 1991; Galvez and Clark, 1991; Horst, 1995; Godbold and Jentschke, 1998); different authors found relationships between the uptake of given cations and their loading rate on root exchange capacity, especially for Mg (Keltjens, 1995); Al can also impair most transport processes through the plasmalemma (Rengel and Robinson, 1989; Huang *et al.*, 1992).

Figure 1.3 shows that the Al uptake rate remains low for the 5 cultivars as compared to the Al quantities supplied daily in nutrient solutions ($196 \mu\text{moles}$ or 5.3 mg d^{-1}). A shape parallelism is observed with most curves of Fig. 1.2: the values of Al uptake rate tend to stabilize after 30 d, and similarly, the relative uptake rate of most nutrients also reaches more or less constant values in the last 10 d of experiment. Marked differences of Al absorption are observed among cultivars.

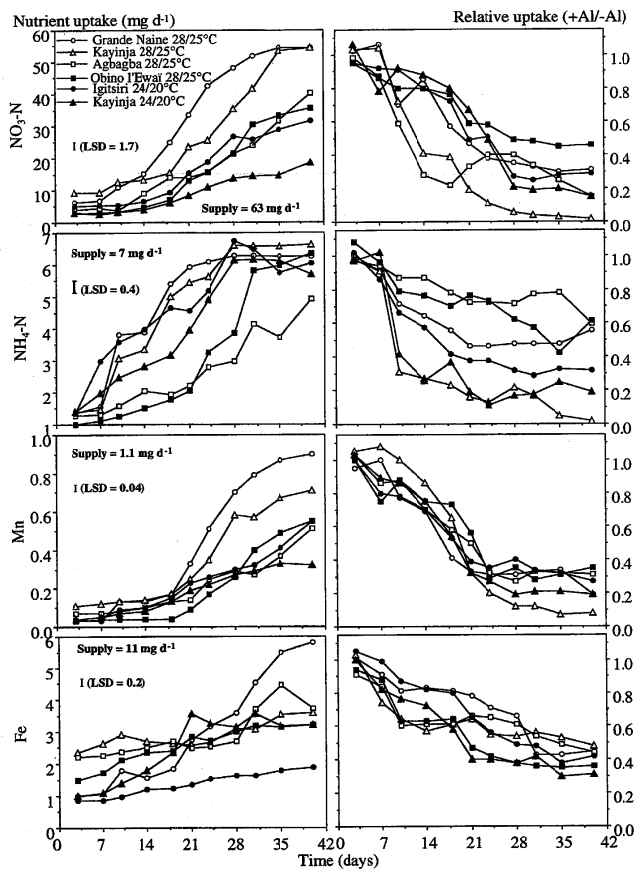
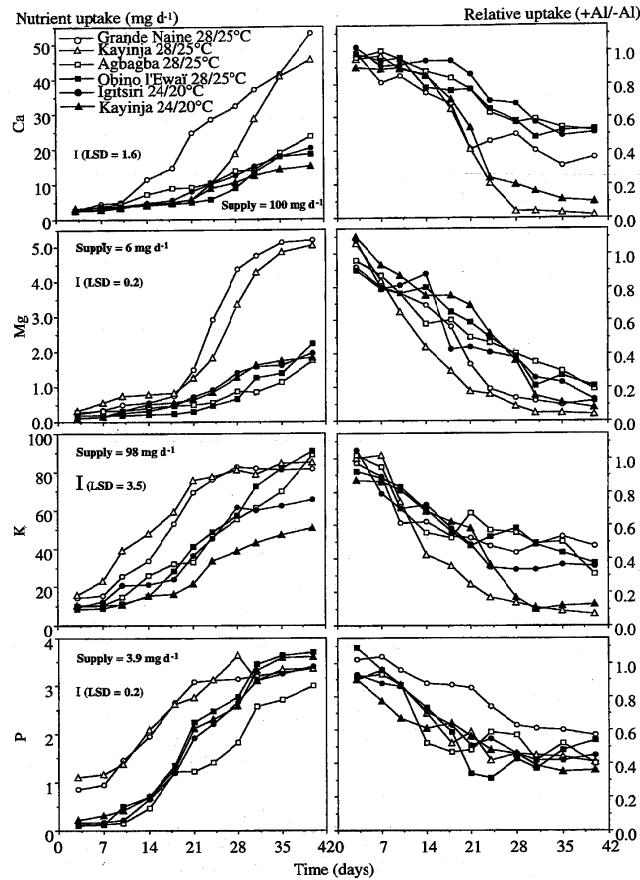


Figure 1.2. (Following)

Figure 1.2. Macro- and micro-nutrient uptake in the course of experiments without Al (left) and with 78.5 μM Al (Al^{3+} activity = 10^{-5} M, right) for 5 banana cultivars at 2 temperatures. Absolute uptake rates are given for control treatments (left) and relative values, i.e. ratio of uptake rates with and without Al, are given for Al treatments (right). Average values of 3 replicates. Vertical bars represent the LSD between the average values of cultivars.

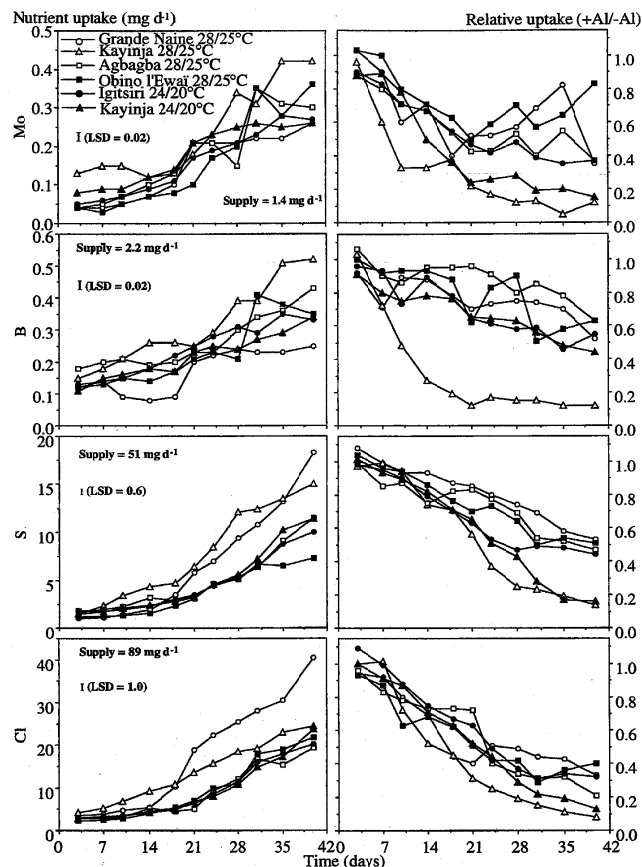


Figure 1.2. (Following)

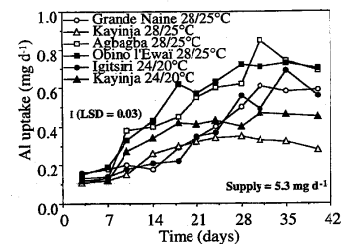


Figure 1.3. Aluminium uptake rate of 5 banana cultivars at 2 temperatures; input solutions contained $78.5 \mu\text{M}$ Al (Al^{3+} activity = 10^{-5} M). Average values of 3 replicates. Vertical bar represents the LSD between the average values of cultivars.

Three groups distinctly discriminate: (i) the two plantains Agbagba and Obino l'Ewai, (ii) Grande Naine and Igitsiri, and (iii) Kayinja at both temperatures with the highest, intermediate and lowest uptake rate, respectively (Table 1.1). Comparing Figures 1.1, 1.2 and 1.3 suggests that the greatest Al detrimental effect on water and nutrient uptake, i.e. for Kayinja at $28/25^\circ\text{C}$, is obtained with the lowest Al uptake rate. This observation suggests that Al toxicity does not result from a simple antagonistic mechanism between Al and the essential nutrient cations.

1.3.3. Relationship between water and nutrient uptake

As observed in Figure 1.1 and 1.2, water and nutrient uptake present similar curve shapes in both control and Al treatments. Plots of nutrient uptake against plant water uptake are shown in Figure 1.4. The straight line corresponds to calculated uptake rate resulting only from convective transport in water flow, i.e. the product of water uptake by input nutrient concentration. In our experimental protocol, a pure convective transport (massflow) should give identical concentrations in both output and input solutions. In this type of diagram, data above the full line mean that nutrient uptake involves an active process besides convective flow. In the control treatment without Al, Ca uptake is governed by simple convection. Magnesium uptake seems to be only convective at low water uptake rate, whereas active transport processes take place at high water uptake. Potassium, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, P and Mn uptake rates are clearly depending on active mechanisms. For most microelements, we noticed greater concentrations in output than in input solutions when water uptake exceeded about 0.4 L d^{-1} . It means that exclusion mechanisms can take place in roots

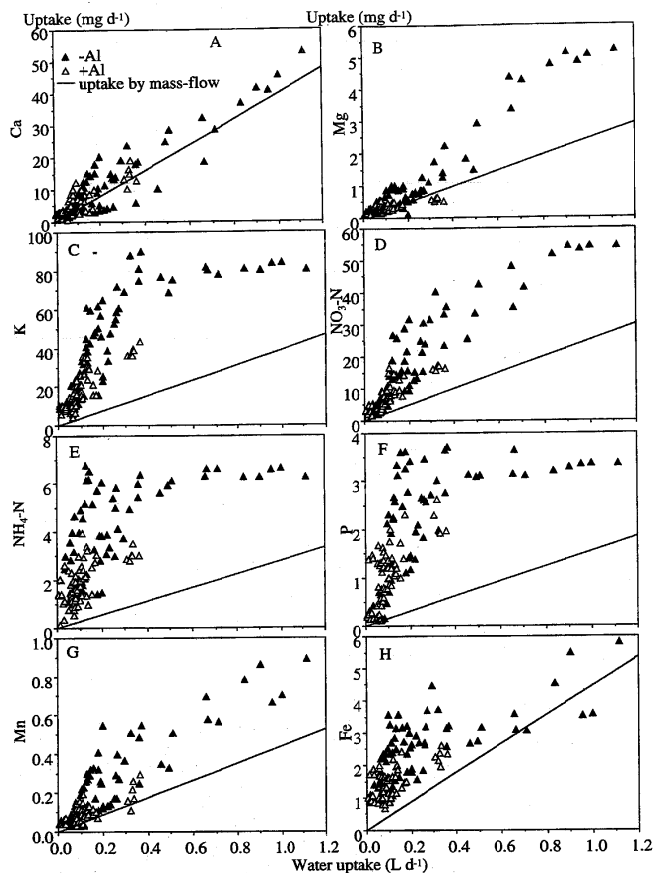


Figure 1.4. Relationship between ion uptake and water use for all banana cultivars of this study: ▲ input solutions without Al, △ input solutions with 78.5 μM Al (Al^{3+} activity = 10^{-5} M).

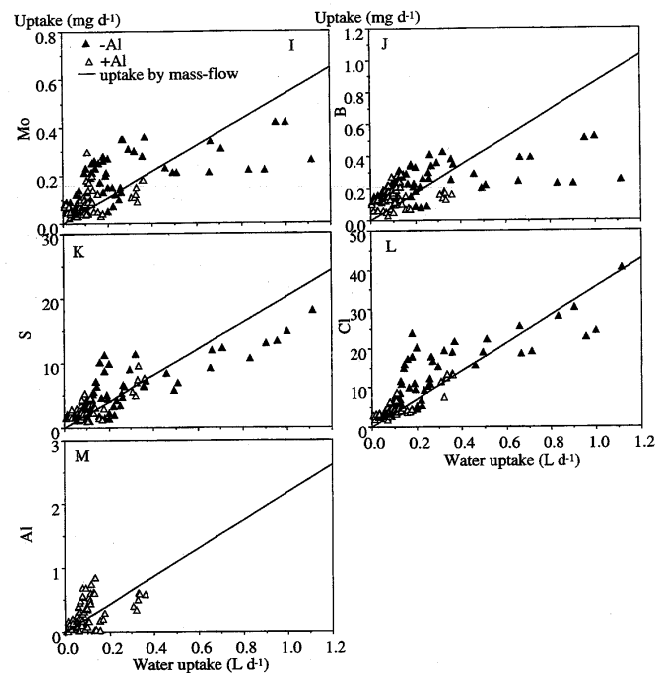


Figure 1.4. (Following)

when supply is greater than demand. These results on banana corroborates well with established characteristics for many other plant species (Higinbotham, 1973; Cheeseman and Hanson, 1979; Sentenac and Grignon, 1985; Haynes, 1990).

As far as Al treatments are concerned, nutrient uptake is reduced to values which are similar to those observed in control treatments at the same water uptake rate. In other words, water and nutrient uptake seem to be related by a single relationship which is independent of metabolism inhibition by Al toxicity. The question is therefore twofold: (i) does the nutrient uptake in Al treatment decrease due to water uptake impairment or (ii) does water uptake decrease due to nutrient uptake inhibition? It is likely more realistic to believe that water uptake reduction by Al uptake is the main

cause for decreasing nutrient uptake. Indeed ion uptake is clearly depending on water flow through plants whereas water absorption is not so closely related to nutrient environment than to other factors such as leaf surface area, ambient humidity, etc. In the cortical root zone and in the presence of external hydrostatic gradients, water primarily moves through the free spaces in the apoplasm (Steudle *et al.*, 1987). Consequently, the mineral elements are transported in the apoplasm passively by massflow (Marschner, 1995). When the apoplasmic pathway is restricted, especially in the endodermis because of the presence of the Casparian band, water and mineral elements are transported from cell to cell crossing the plasma membranes (Newman, 1973; Steudle and Jeschke, 1983; Steudle and Frensch, 1996). They are transported through channels or membrane carriers (Marschner, 1995) which can be specific for water transport, i.e. the aquaporins (Steudle and Henzler, 1995), or for ion transport (Huang *et al.*, 1994; Tyerman and Schachtman, 1992). Tyerman *et al.* (1999) noted that water and ions can be transported together in some aquaporins meaning that passive mineral element transport by massflow may also occur in the symplasmic and the transcellular transport pathway.

Thus, the presence of Al may instantaneously cause a cross-linking of pectates by Al in the root cell wall (Horst, 1995) and in the root cell plasma membrane (Staß and Horst, 1995) as a result of the high affinity of Al to negative exchange sites (Dahlgren *et al.*, 1991; Tice *et al.*, 1992). Therefore, the resulting decrease of the root cell membrane permeability to water (Horst, 1995; Ishikawa and Wagatsuma, 1998) may affect the mineral element absorption by decreasing the massflow component. In the long term, the low water and nutrient uptake by plants grown in the presence of Al relative to plants grown without Al can be explained also by the differences in the absorbing surface area as the root biomass production have been shown to be reduced in the presence of Al (Noble *et al.*, 1988; Dufey *et al.*, 1991; Godbold and Jentschke, 1998) as the elongation of the already divided cells and the cellular division are inhibited by Al (Kochian, 1995).

As the plant transpiration is considered as the driving force for water upward movement in the plant tissues (Mengel and Kirkby, 1982), the low development of the leaf surface area and the presence of necrotic spots on leaves of plants grown in the presence of Al (Foy, 1974; Clark, 1977; Furlani and Clark, 1981) are another cause of the low water uptake which may also affect the absorption and the upward movement of nutrients. Moreover, as mentioned above, other direct and indirect Al effects on mineral element uptake exist and can also affect the water uptake by alteration of the plant metabolism. However, this aspect is very complex and should be more documented to elucidate causal relationships.

1.3.4. pH changes

Fig. 1.5 shows the pH values measured in the output solutions in the course of experiments. These values are to be compared with those of the input solutions, i.e. 5.2 for control treatments, and 4.2 for Al treatments. In the experiments without Al, the pH drops quickly in the output solutions to values that are depending on cultivars and temperature. Less acidification is noticed for Igitsiri and Kayinja at 24/20°C. In the other cases, pH changes from 5.2 in input solution to about 4 or less in output solutions. The rhizospheric acidification phase is followed by an alcalinisation phase with pH rising up to about 6.5 for Grande Naine, Kayinja, and Agbagba, all three cultivated at 28/25°C. Only one low altitude cultivar, Obino l'Ewaï, grown at 28/25°C, did not give rise to alcalinisation before 40 d. One notices that Igitsiri, grown at 24/20°C, was likely starting alcalinisation by the end of the experiment. In Al treatments, only small pH changes were observed compared to the input solution which was already quite acidic. No alcalinisation phase occurred for any cultivar.

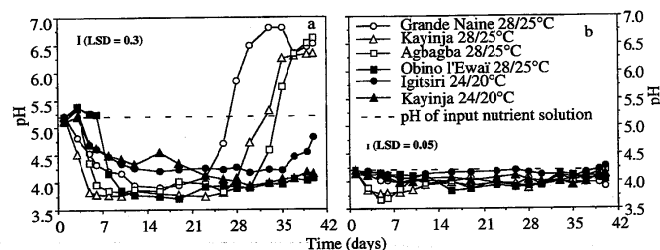


Figure 1.5. Evolution of pH in output solutions for 5 banana cultivars at 2 temperatures: input solutions without Al at pH 5.2 (a), and input solutions with 78.5 μM Al (Al^{3+} activity = 10^{-5} M) at pH 4.2 (b).

Net H^+/OH^- release was calculated for all pH data from the buffering curves of the nutrient solutions as outlined in the "Material and Methods" section. On the other hand, cation/anion balance of plant uptake was also calculated from the detailed analysis of solutions. Fig. 1.6 shows an excellent linear correlation ($r = 0.99$), close to the 1:1 line, between the difference $[\text{OH}^-] - [\text{H}^+]$ released by roots and the difference $[\text{mol}_{+}] - [\text{mol}_{-}]$ of uptake. It means that the net proton excretion by roots is quantitatively associated with excess uptake of cations over anions, and that the net OH^- release by roots is associated with excess anion uptake. As root respiration produces CO_2 , alcalinisation amounts to say that HCO_3^- concentration increases in the rhizosphere as a result of excess anion uptake (Mengel and Kirkby, 1982).

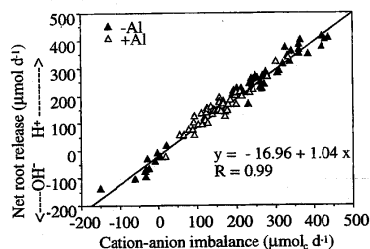


Figure 1.6. Relationship between net H^+/OH^- release by roots and cation-anion balance of uptake: $\blacktriangle$ input solutions without Al, $\triangle$ input solutions with $78.5 \mu\text{M}$ Al (Al^{3+} activity = 10^{-5} M).

Numerous studies showed similar effects of plant nutrition on pH changes in the rhizosphere (Moorby *et al.*, 1985; Gijssman, 1990; Haynes, 1990; Loss *et al.*, 1993; Hinsinger and Gilkes, 1995). These changes were mostly related to N nutrition. Indeed, nitrogen is the only nutrient which can be supplied either as a cation (NH_4^+) or as an anion (NO_3^-). In our experiments, both N forms were supplied to banana at concentrations 1.8 mM $\text{NO}_3\text{-N}$ and 0.2 mM $\text{NH}_4\text{-N}$. This can explain that both acidification and alcalinisation were observed (Fig. 1.5) for some cultivars in the control treatments. Despite $\text{NH}_4\text{-N}$ represented only 10% of the available N, all bananas were found to prefer this N form, i.e. as far as the N needs remained lower than the supplied $\text{NH}_4\text{-N}$ quantities, the NH_4/NO_3 uptake ratio was greater than the input NH_4/NO_3 ratio, until $\text{NH}_4\text{-N}$ was depleted in the nutrient solution. Knowing that $\text{NH}_4\text{-N}$ was supplied at a rate of 6.7 mg d^{-1} , one notices in Figure 1.2 that complete uptake of this N form was reached for some cultivars on and after about 28 days. Therefore increasing absolute and relative $\text{NO}_3\text{-N}$ uptake rate resulted in excess anion uptake and consequently pH increased in output solutions, except for the two cultivars grown at low temperature.

No such pH changes were observed when Al was added to input solutions. These solutions were more buffered than the control solutions due to Al hydrolysis; as the input pH was lower, identical H^+/OH^- release would have resulted in smaller pH changes than in control solutions because of the logarithmic scale between H^+ activity and pH. Anyway if a small acidification occurred in two cases during the first week (Fig. 1.5), alcalinisation was not expected because the metabolic inhibition caused by Al was reducing N needs and, as shown for control treatments, pH increased only at high N demand.

Finally, such pH changes showed that the pH of the input solutions are of a little importance in interpreting mineral uptake which could be influenced by the changes in proton activity. In our experiment, although nutrient solutions were not adjusted and maintained at the same pH by the addition of acid or basic solution as was done in other studies (Lazof *et al.*, 1994; Calba and Jaillard, 1997; Ishikawa and Wagatsuma, 1998), the acidification induced by the roots maintained the pH values of the solution in contact with roots in the range 3.75–4.25 for both cultivars grown with or without Al during a period of 22–33 days depending on cultivar. In the absence of Al, although the pH values were almost as low as those observed in the presence of Al, water and nutrient uptake rates remained large and increased with time. On the contrary, in the presence of Al, water and nutrient uptake rates decreased. This indicated that all differences observed between banana plants grown without Al and with Al were mainly related to Al toxicity rather than to the low pH due naturally to the presence of Al or due to proton excretion by the roots.

1.3.5. Statistical ranking of cultivars

The question of relative Al resistance or sensitivity among cultivars can be tackled by statistical variance analysis as shown in Table 1.1. First of all, it must be recalled that any conclusion in this respect is only valid for the growth conditions imposed in the experiments, and for the parameters that were measured. Therefore, no hasty conclusion about the effect of Al on banana yield under field conditions can be drawn from this basic research conducted with young plants in nutrient solutions of fixed composition. Isolating the effect of Al for ranking cultivars is also difficult because differences already existed in the control treatments: for example, Table 1.1 shows that Grande Naine was absorbing more water and nutrients during 40 d than the others, whereas the 2 cultivars grown at $24/20^\circ\text{C}$ showed lower water uptake and also often lower nutrient uptake rates than the others. Therefore the effect of Al can only be assessed in relative terms with respect to controls. The data on Al effect in Table 1.1 refer to the cumulative water and nutrient uptake during 40 days of the experiment. The % +Al/-Al ratios superior to 50 was observed in 9 of the 14 parameters for the two plantains, Agbagba and Obino l'Ewai, 7 for Grande Naine, 5 for Igitsiri and 1 to 2 for Kayinja. So, the two plantains, Agbagba and Obino l'Ewai, can be considered as resistant to Al and Kayinja appears to be more sensitive than the others.

Table 1.1. Cumulative water and nutrient uptake by banana plants grown 40 days in the nutrient solution without Al (-Al) and with 78.5 μM Al (Al^{3+} activity = 10^{-5} M) (+Al). Values are means $\pm$ SE of three replicates. In the same line, means followed by the same small letter are not significantly different ($P \leq 0.05$, Scheffé's multiple range test); in the same column and for the same parameter, significant differences between -Al and +Al treatments are indicated by different capital letters following the means ($P \leq 0.05$, T-test paired method).

Parameter	Al treatments	Day/night temperature 28/25°C				Day/night temperature 28/25°C	
		Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewai	Igitsiri	Kayinja
Water	-Al	18.7 aA	18.5 aA	6.7 aB	6.8 aB	4.0 aC	3.5 aC
	+Al	9.2 bA (49) ^{\$}	3.4 bB (18)	3.5 bB (52)	3.6 bB (52)	2.6 bC (65)	2.0 bD (57)
Ca	-Al	881 aA	591 aB	408 aC	339 aCD	367 aC	301 aD
	+Al	402 bA (46)	92 bE (16)	271 bB (66)	192 bD (57)	246 bC (67)	100 bE (33)
Mg	-Al	92 aA	84 aA	26 aC	25 aC	33 aB	34 aB
	+Al	18 bA (19)	12 bB (14)	11 bBC (42)	10 bBC (40)	12 bB (36)	11 bBC (32)
K	-Al	2154 aA	2345 aA	1550 aBC	1632 aB	1471 aC	1054 aD
	+Al	1160 bA (54)	647 bC (28)	846 bB (55)	842 bB (52)	665 bC (45)	349 bD (33)
P	-Al	95 aA	99 aA	52 aD	73 aB	66 aB	71 aB
	+Al	71 bA (75)	54 bB (55)	26 bC (50)	34 bC (47)	32 bC (48)	32 bC (45)
$\text{NO}_3\text{-N}$	-Al	1217 aA	1035 aB	632 aC	594 aC	627 aC	347 aD
	+Al	522 bA (41)	202 bD (20)	206 bD (33)	317 bB (53)	266 bC (42)	140 bE (40)
$\text{NH}_4\text{-N}$	-Al	187 aA	182 aA	102 aC	105 aC	181 aA	154 aB
	+Al	104 bA (56)	39 bC (21)	79 bB (77)	77 bB (73)	80 bB (44)	45 bC (29)
Mn	-Al	16.0 aA	13.2 aA	7.9 aB	7.5 aB	8.6 aB	7.0 aB
	+Al	5.6 bA (35)	3.6 bB (27)	3.4 bB (43)	2.8 bBC (37)	3.5 bB (41)	2.3 bC (33)
Fe	-Al	115 aA	114 aA	115 aA	100 aA	54 aB	97 aA
	+Al	70 bA (61)	72 bA (63)	71 bA (62)	52 bB (52)	34 bC (63)	47 bB (48)
Mo	-Al	5.7 aC	9.1 aA	6.8 aBC	6.0 aC	6.1 aC	7.0 aB
	+Al	3.5 bAB (61)	2.2 bC (24)	3.4 bA (50)	4.1 bA (68)	2.9 bB (48)	2.4 bBC (34)
B	-Al	6.7 aC	12.2 aA	10.2 aA	8.9 aB	9.4 aB	8.4 aB
	+Al	5.0 bC (71)	3.1 bD (25)	8.8 bA (86)	6.6 bB (74)	6.2 bB (66)	5.4 bC (64)
S	-Al	251 aA	295 aA	178 aB	144 aC	173 aB	185 aB
	+Al	175 bA (70)	110 bB (37)	119 bB (67)	93 bB (65)	99 bB (57)	77 bC (42)
Cl	-Al	666 aA	527 aB	338 aC	362 aC	352 aC	347 aC
	+Al	315 bA (47)	158 bB (30)	146 bBC (43)	159 bB (44)	167 bB (47)	125 bC (36)
Al	-Al	-	-	-	-	-	-
	+Al	14.2 B	4.1 C	19.5 A	18.7 A	14.0 B	5.6 C

^{\$} The values in parentheses are % +Al/-Al ratios for each parameter.

Table 1.2. Time (days) from which significant differences ($P \leq 0.05$, T-test paired method) were observed in water and nutrient uptake rates between banana plants grown without Al and with 78.5 μM (Al^{3+} activity = 10^{-5} M) added in the nutrient solution.

Cultivars	Water	Ca	Mg	K	P	$\text{NO}_3\text{-N}$	$\text{NH}_4\text{-N}$	Mn	Fe	Mo	B	S	Cl
Grande Naine ¹	14	10	7	10	21	18	10	18	10	3	18	18	3
Kayinja ¹	7	7	10	10	14	10	10	18	7	7	7	14	10
Agbagba ¹	10	14	7	10	14	10	21	21	7	7	31	10	7
Obino l'Ewai ¹	10	14	7	10	14	7	14	21	10	14	21	18	10
Igitsiri ²	18	10	7	7	14	10	10	10	10	14	10	14	14
Kayinja ²	14	3	14	3	3	7	10	10	10	3	10	14	10

^{1,2} Day/night temperature 28/25°C and 24/20 °C respectively.

1.4. Conclusion

Young bananas, as most cultivated plant species, are sensitive to Al stress. The most interesting finding of this study is that the inhibition of nutrient uptake by Al was closely related to reduction of plant water uptake. For nutrients involved both in active and convective uptake, the data obtained in the presence of Al were similar to those obtained in control treatments at similar water uptake rate. This leads to believe that Al should first impair water absorption and transfer, and that the reduction of ion uptake rate could be explained to a large extent by such water uptake decrease. In any case, studies dealing with Al toxicity should always consider possible primary effects on water use before attempting to explain physiological Al effects on nutrient uptake. Statistical analysis indicates that the plantains Agbagba and Obino l'Ewai are generally more resistant to Al than the other cultivars, at least for the nutrient uptake rates reported in this chapter. Changes of temperature are likely to modify Al sensitivity: indeed one cultivar, Kayinja, showed greater Al sensitivity at 28/25°C than at 24/20°C.

Acknowledgements

This work was supported by the EU contract INCO-DC CEE CT 970208 and by the research programme N°2.4595.98 of the Belgian *Fonds de la Recherche Fondamentale et Collective* (FNRS-FRFC). We thank Pr. Charles Renard for stimulating discussions and suggestions, Ir. Inès van den Houwe of the INIBAP Transilut Centre at the Katholieke Universiteit Leuven for many advices and services during the *in vitro* culture phase of bananas, Patrick Populaire and Anne Iserentant for their technical support during the experiments and for the chemical analyses.

2

Effect of aluminium on five banana (*Musa* spp.) cultivars. II . Plant growth and chemical composition²

Abstract

Five banana (*Musa* spp.) cultivars (Grande Naine, Agbagba, Obino l'Ewaï, Igitsiri, and Kayinja) were grown in nutrient solutions without and with 78.5 mM Al in a phytotron at temperatures close to that of their cropping areas. Various growth parameters were determined twice a week. Biomass yield and mineral content were measured in different plant parts after 40 d. Though Al did not affect the rate of appearance of new leaves, it decreased the total biomass, pseudostem height, leaf surface area, growth of lateral roots, number and diameter of root axes. Aluminium induced Mg-like deficiency symptoms on Kayinja leaves after one week of treatment. Similar symptoms appeared on Grande Naine after 10 d and later on the other cultivars. Independently of cultivars and temperature, about 0.5 water L was required to produce 1 g (dry weight) of total biomass in the control. The same requirement was assessed for the two plantains, Agbagba and Obino l'Ewaï, grown in Al solutions. However, Al reduced water efficiency to an average requirement of 0.65 water L per g of biomass for the other bananas. In all plant parts for all cultivars, Al reduced Ca and Mg contents whereas K and P concentrations were increased and N content was not significantly affected. This was related to differences in uptake mechanisms: Ca and Mg uptake was governed by mass flow whereas the other major nutrients were taken up actively by roots. The reduction of water uptake by Al is therefore responsible for depressing Ca and Mg concentrations in banana plants. This finding is supported by the observation of Mg-deficiency symptoms on banana leaves treated with Al. Such symptoms appeared later on the two plantains, Agbagba and Obino l'Ewaï, because their transpiration efficiency was less affected.

2.1. Introduction

In acid soils with low organic matter content, excess Al in soil solution limits plant growth and yield of cultivated crops, whereas in natural ecosystems acidity and soluble Al determine to a large extent the type of spontaneous vegetation (Foy, 1974;

Horst, 1995). Most studies on Al toxicity show that plant roots are drastically affected when soluble monomeric Al ions increase in soil or nutrient solutions (Adams and Lund, 1966; Clark, 1977; Pavan and Bingham, 1982; Noble *et al.*, 1988; Dufey *et al.*, 1991; Godbold and Jentschke, 1998). Root elongation and root hair development are inhibited by Al (Care, 1995; Costa de Macedo, 1998; Voigt *et al.*, 1999). Plant shoots also suffer from Al stress (Vo Dinh Quang *et al.*, 1996; Costa de Macedo *et al.*, 1997), although usually less than roots (Pavan and Bingham, 1982; Bernal and Clark, 1998). Element concentrations in roots and shoots are modified when Al concentration increases in the rhizosphere (Bernal and Clark, 1997) which leads to nutritional disorders. As a consequence, different symptoms can develop on plant leaves: phosphorus (Foy, 1974; Furlani and Clark, 1981), magnesium (Clark, 1977) and iron (Furlani and Clark, 1981) deficiency symptoms were reported on plant grown in nutrient solutions with Al.

Aluminium tolerance varies among plant species, and also among varieties or cultivars of the same plant species (Tang Van Hai *et al.*, 1993; Zaifnejad *et al.*, 1997; Zhang and Jessop, 1998). Great research effort has long been devoted to Al sensitivity of cultivated plants, especially tropical crops. Breeding programs were developed to select Al resistant cultivars for sustainable agriculture on acid soils (Van Sint Jan *et al.*, 1997). Surprisingly no systematic studies were reported so far on banana despite of its crucial importance as local staple food and export product in tropical countries. In the chapter 1, we showed that water and nutrient uptake by bananas were reduced in the presence of Al, to an extent which depends on cultivar and temperature. This chapter reports complementary results on root and shoot growth parameters and element concentrations in the different plant parts.

2.2. Material and methods

Details on plant material and experimental conditions were given in the chapter 1. Briefly, this study concerns 3 banana cultivars that are very common in low altitude area of West Africa, i.e. Grande Naine (AAA dessert banana), Agbagba (AAB medium false horn plantain) and Obino l'Ewaï (AAB french plantain), and 2 banana varieties cultivated in the East African highlands, i.e. Igitsiri (AAA-EA, "beer variety") and Kayinja (ABB, a "cooking variety" but known in the Eastern Africa as a "beer variety"). Vitroplants were supplied by Vitropic (Montpellier, France) for Grande Naine or produced by ourselves in the Musa Germplasm Transit Center (Heverlee, Belgium) of the International Network for Improvement of Banana and Plantain (INIBAP) for the other four cultivars. After a 3-weeks weaning, among the

² Text submitted for publication to *Plant and Soil* with the following authors: Gervais RUFYIKIRI, Joseph E. DUFÉY, Didier NOOTENS and Bruno DELVAUX

tallest out of 50 vitroplants for each cultivar, six homogeneous individuals of average height of 7.5, 15.0, 17.1, 17.1 and 8.0 cm for Grande Naine, Kayinja, Agbagba, Obino l'Ewai and Igitsiri, respectively, were grown in individual 2.5 L pots for 40 d.

Nutrient solution was supplied continuously by peristaltic pumps (Declerck *et al.*, 1998a) at a rate of 104 mL h⁻¹ pot⁻¹. Two treatments were used: (i) a solution without Al (referred as -Al treatment) and (ii) the same solution with 78.5 µM Al added as Al₂(SO₄)₃.18H₂O (referred as +Al treatment). The composition of the -Al solution was the following, in macroelements (mM): 0.9 Ca(NO₃)₂, 0.05 CaSO₄, 0.05 CaCl₂, 0.5 KCl, 0.25 K₂SO₄, 0.05 MgCl₂, 0.05 MgSO₄, 0.1 NH₄Cl, 0.05 (NH₄)₂SO₄, 0.05 NaH₂PO₄, and in microelements (µM): 80 H₃BO₃, 80 FeEDTA, 8 MnCl₂, 0.8 ZnSO₄, 0.8 CuSO₄, 5.6 (NH₄)₆Mo₇O₂₄. The pH values were 5.2 for the -Al treatment and 4.2 for the +Al treatment. This composition of the solution for the -Al treatment and the concentration of Al in the solution for the +Al treatment were determined as described in Chapter 1. The 3 low altitude cultivars were grown at 28/25°C day/night temperature and the 2 varieties cultivated in the highlands were grown at 24/20°C. Besides, Kayinja was also cultivated at 28/25°C to assess possible temperature effect on Al toxicity. All experiments were carried out in triplicates.

Different plant growth measurements were carried out once a week: pseudostem height from the top of the rhizome to the crossing point of the last 2 unfurled leaves, length (l) and width (w) of the last unfurled leaf which allows to calculate approximate leaf surface area (LS) as $LS = \alpha \cdot l \cdot w$. Accurate LS measurements on 3 leaves of each cultivar using computer scanning and surface calculation gave a mean value of 0.7 for α . Particular disorder symptoms were noted on leaves and photographs were taken. At the end of the experiment, i.e. after 40 d, the plants were cut in different parts: root axis, lateral root, pseudostem, lamina, midrib. The length and diameter (at 1 cm from root to bulb inserting point) of all root axes were measured. Dry weight was determined after storing all plant parts at 60°C for 1 week. Mineral analysis was carried out after calcination at 450°C for 1 d, followed by ash dissolution with concentrated HNO₃. Calcium, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B, P, and Al were measured by plasma emission spectroscopy (DCP), K by flame absorption spectrophotometry, and N by Kjeldahl distillation.

The General Linear Models (GLM) procedure of the statistical software SAS (SAS Institute, 1985) was used for statistical analysis of the data. Significant differences were considered at $P \leq 0.05$ and mean values were ranked by the Scheffé's multiple range test when more than two groups of data were compared by analysis of variance (ANOVA) or by T-test paired method when only two groups of data were compared.

2.3. Results and discussion

2.3.1. Shoot growth

Weekly measurements of pseudostem height and last expanded leaf surface area are given in Table 2.1. In control treatments, the pseudostem height increased by about 30 cm in 40 d in all cases except Kayinja that was growing more slowly at 24/20°C. New leaves were formed at an approximate rate of one per 4-5 d at 28/25°C and one per 6 d at 24/20°C, and each of them had a larger surface area than the previous one. In some cases, the most recent leaves were twice as great than the preceding ones. The effect of temperature was clearly marked for Kayinja: pseudostem height and leaf surface area were doubled at 28/25°C as compared to 24/20°C.

In nutrient solutions with Al, the pseudostem height increased by about 15 cm in 40 d for all cultivars except Kayinja that grew only by 3-5 cm. Cumulative detrimental effects were observed on leaf surface area; differences with control increased with

Table 2.1. Evolution of pseudostem height and surface area of the last unfurled leaves of banana cultivars grown for 40 d in nutrient solution without (-Al) and with 78.5 µM Al (Al³⁺ activity = 10⁻⁵ M) (+Al). Mean values ± S.E. of 3 replicates.

Days	Al	Day/night temperature 28/25 °C				Day/night temperature 24/20°C	
		treat.	Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewai	Igitsiri
Height (cm)							
0	-Al	7.5 ± 0.1	14.9 ± 0.1	17.3 ± 1.3	17.8 ± 0.3	8.0 ± 0.5	7.0 ± 0.4
	+Al	7.5 ± 0.1	15.0 ± 0.1	16.8 ± 0.3	17.6 ± 0.6	8.0 ± 0.5	6.3 ± 0.1
7	-Al	9.8 ± 0.7	16.7 ± 0.8	20.3 ± 0.6	19.3 ± 0.4	9.7 ± 0.6	8.5 ± 0.7
	+Al	10.5 ± 0.6	16.9 ± 1.5	18.5 ± 1.6	18.7 ± 0.6	8.8 ± 1.5	6.8 ± 0.3
14	-Al	16.1 ± 1.0	21.7 ± 0.8	21.5 ± 0.5	20.7 ± 0.6	14.8 ± 1.5	9.8 ± 0.4
	+Al	14.2 ± 1.6	17.8 ± 1.0	18.7 ± 2.3	19.3 ± 1.1	10.4 ± 0.8	7.8 ± 0.9
21	-Al	21.3 ± 1.3	28.0 ± 1.0	26.2 ± 0.9	23.4 ± 0.6	20.5 ± 2.2	11.7 ± 2.5
	+Al	17.5 ± 1.1	18.8 ± 0.6	19.7 ± 1.0	19.7 ± 1.2	14.4 ± 0.6	9.4 ± 0.6
28	-Al	29.0 ± 1.5	33.2 ± 1.0	31.2 ± 1.5	32.2 ± 2.9	28.0 ± 3.5	15.5 ± 2.4
	+Al	19.7 ± 0.5	18.3 ± 0.3	24.3 ± 0.6	25.1 ± 1.8	18.0 ± 1.0	10.9 ± 1.3
35	-Al	36.0 ± 2.6	42.2 ± 1.9	38.4 ± 1.8	40.6 ± 1.0	35.8 ± 3.2	20.0 ± 3.1
	+Al	22.0 ± 1.1	18.1 ± 0.5	28.0 ± 1.6	32.0 ± 2.6	21.5 ± 0.8	12.0 ± 0.6
40	-Al	40.2 ± 2.9	44.1 ± 1.9	44.0 ± 1.7	44.0 ± 1.7	41.3 ± 4.2	22.5 ± 2.8
	+Al	24.1 ± 1.1	18.5 ± 0.6	30.4 ± 0.8	34.8 ± 3.3	24.8 ± 0.8	11.3 ± 0.6

Table 2.1. Following

Days	Al	Day/night temperature 28/25 °C				Day/night temperature 24/20°C	
		treat.	Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewai	Igitsiri
<i>Leaf surface area (cm²)</i>							
0	-Al	36 ± 1	117 ± 12	136 ± 24	147 ± 11	31 ± 6	52 ± 11
	+Al	35 ± 1	90 ± 7	133 ± 12	145 ± 22	22 ± 6	36 ± 5
7	-Al	78 ± 6	177 ± 13	180 ± 23	161 ± 36	56 ± 10	79 ± 20
	+Al	90 ± 5	149 ± 18	144 ± 29	160 ± 9	45 ± 4	55 ± 4
14	-Al	159 ± 38	268 ± 18	127 ± 21	186 ± 22	122 ± 14	114 ± 30
	+Al	126 ± 10	150 ± 6	115 ± 31	173 ± 29	61 ± 10	80 ± 7
21	-Al	289 ± 18	429 ± 63	159 ± 31	176 ± 30	175 ± 18	155 ± 63
	+Al	217 ± 21	159 ± 21	132 ± 17	142 ± 22	105 ± 14	93 ± 3
28	-Al	465 ± 48	596 ± 54	306 ± 30	288 ± 77	216 ± 26	287 ± 78
	+Al	298 ± 41	161 ± 7	183 ± 15	213 ± 25	130 ± 18	115 ± 5
35	-Al	645 ± 71	798 ± 67	518 ± 41	372 ± 73	342 ± 50	379 ± 56
	+Al	348 ± 42	120 ± 30	306 ± 35	264 ± 46	171 ± 21	114 ± 9
40	-Al	846 ± 79	908 ± 36	641 ± 80	606 ± 50	449 ± 62	390 ± 61
	+Al	423 ± 14	100 ± 33	365 ± 67	455 ± 17	224 ± 22	117 ± 15

time, more particularly for Kayinja. Reduced leaf size is a typical response of banana to water deficit (Turner, 1995). Unlike the other growth parameters described above, the rate of new leaves formation did not change in Al treatments, so that leaves choked throat was observed at the top of pseudostem. Choking resulting in a rosette-like foliage insertion was particularly marked for Kayinja and Grande Naine. Similar symptoms are known to appear in water stressed plants (Turner, 1995; Zaifnejad *et al.*, 1997). Such a stunted growth might therefore result from an Al-induced water uptake decrease as shown in the chapter 1.

2.3.2. Leaf symptoms

Bananas grown in solutions with Al showed particular leaf symptoms as illustrated in Figure 2.1. Symptoms started as a leaf yellowing at lamina margin extending throughout the leaf in about 1 d without affecting the midrib. Marginal necrosis further developed. These Al-related symptoms affected young leaves 3 days after unfurling. However, they appeared at different times and with distinct severity depending on the cultivar (Table 2.2). Kayinja was most particularly affected: the

symptoms appeared after 7 d of contact with Al both at 28/25°C and at 24/20°C. All leaves except the youngest one withered progressively. Severe symptoms were also observed on Grande Naine after 10 d of Al treatment. Less serious symptoms appeared after 13, 27, and 35 d on Igitsiri, Agbagba, and Obino l'Ewai, respectively. A large part of the surface of each leaf remained green till the end of the experiment. These Al-related symptoms observed on young bananas are similar to those reported for young coffee plants grown in nutrient solutions with Al (Pavan and Bingham, 1982).



Figure 2.1. Aluminium stress symptoms observed on a leaf of Grande Naine banana cultivar after 13 d growing in nutrient solution with 78.5 µM Al (Al³⁺ activity = 10⁻⁵ M).

Table 2.2. Appearance and severity of symptoms on leaves of five banana cultivars grown in nutrient solution with 78.5 µM Al (Al³⁺ activity = 10⁻⁵ M).

Cultivars	Symptoms on leaves	
	Time of symptom appearance (d)	Appreciation of severity level ³
Grande Naine ¹	10	++
Kayinja ¹	7	+++
Agbagba ¹	27	+
Obino l'Ewai ¹	35	+
Igitsiri ²	13	+
Kayinja ²	7	+++

^{1,2} Day/night temperature 28/25°C and 24/20 °C respectively;

³ The severity of symptoms increases with the number of sign +.

Increased leaf yellowness is one of the banana response to water deficit (Stover and Simmonds, 1987). However, both marginal yellowing extending to near the midrib and marginal necrosis are considered by Martin-Prével (1980) and Lahav (1995) as some of the leaf symptoms attributed to Mg deficiency in banana. Mg deficiency symptoms were also observed on leaves of inbred Oh40B maize grown at high Al levels (10 and 20 mg L⁻¹) (Clark, 1977).

2.3.3. Root growth

The growth of root axes was evaluated by considering their number, length, and diameter after the 40 d experiment; results are presented in Table 2.3. In solutions without Al, Grande Naine and Kayinja at 28/25°C had more root axes with greater length than the other cultivars; root diameters were not much different among cultivars. The effect of Al treatment was particularly marked on root number and diameter in all cases; root length was significantly reduced only for Kayinja at 28/25°C. Lateral roots were much shorter in solutions with Al than in control treatment for all cultivars, on the basis of visual observations.

The inhibiting effect of Al on banana root development reported here corroborates with previous observations carried out on different plants (Foy *et al.*, 1969; Rhue and Grogan, 1977; Marschner, 1991; Krizek *et al.*, 1997). However, most reports on Al toxicity conclude to significant impairment of root elongation, whereas we clearly noticed such effect only for one banana cultivar (Kayinja) at the highest temperature (28/25°C). According to Foy *et al.* (1969, 1972), reduction of root elongation by Al might be due to a competition with Ca, leading to Ca deficiency in roots. In our experiment, it is possible that Ca concentration in the nutrient solution was high enough to avoid Ca deficiency, whereas in acid soils, increasing soluble Al concentrations eventually involve decreasing Ca concentrations. Rhue and Grogan (1977) also noticed that increasing Ca concentration (i) reduced detrimental Al effect on Al-sensitive maize cultivars, and (ii) alleviated it completely for Al-tolerant cultivars. Noble *et al.* (1988), Cronan and Grigal (1995), and Sanzonowicz *et al.* (1998) also reported that Al toxicity is more related to Ca/Al balance than to absolute Al concentrations, but the mechanisms are still far from fully elucidated (Marschner, 1995) even though Ca-Al competition for root exchange sites, mainly located in cell walls, has been demonstrated (Dufey *et al.*, 1991; Horst, 1995; Godbold and Jentschke, 1998). The inhibition of lateral root growth observed for all banana cultivars was also reported for white clover (Care, 1995) and maize (Calba, 1996).

Table 2.3. Growth parameters of root axes of five banana cultivars grown for 40 d in nutrient solutions without (-Al) and with 78.5 µM Al (Al³⁺ activity = 10⁻⁵ M) (+Al). Mean values ± SE of 3 replicates. In the same column, means followed by the same small letter are not significantly different ($P \leq 0.05$, Scheffé's multiple range test); in the same line and for the same parameter, differences between -Al and +Al treatments are indicated by different capital letters following the means ($P \leq 0.05$, T-test paired method).

Cultivars	Root axis growth parameters					
	Number		Length (cm)		Diameter (mm)	
	-Al	+Al	-Al	+Al	-Al	+Al
Grande Naine ¹	25 ± 2.6 aA	16 ± 2.6 aB	45 ± 7.6 bA	49 ± 7.4 aA	4.6 ± 0.4 aA	3.0 ± 0.2 bB
Kayinja ¹	24 ± 1.0 aA	13 ± 3.2 bcB	65 ± 4.5 aA	28 ± 6.0 bB	4.1 ± 0.2 aA	2.3 ± 0.2 cB
Agbagba ¹	18 ± 2.5 bcA	13 ± 1.0 bB	22 ± 1.6 dA	21 ± 0.7 cA	4.4 ± 0.3 aA	3.7 ± 0.1 aB
Obino l'Ewai ¹	20 ± 2.0 bcA	14 ± 1.0 bB	18 ± 2.9 dA	17 ± 0.5 dA	3.6 ± 0.1 bA	2.8 ± 0.1 bB
Igitsiri ²	14 ± 3.4 dA	13 ± 3.0 bcA	33 ± 3.3 cA	39 ± 7.7 abA	3.4 ± 0.1 bA	2.2 ± 0.3 cB
Kayinja ²	17 ± 2.1 cdA	11 ± 1.3 cB	31 ± 4.3 cA	26 ± 3.0 bA	3.4 ± 0.2 bA	2.8 ± 0.1 bB

^{1, 2} Day/night temperature 28/25°C and 24/20°C respectively;

2.3.4. Biomass production

The dry matter of different plant parts measured at the end of the experiment is presented in Table 2.4. In control treatments without Al, the total biomass of Grande Naine and Kayinja at 28/25°C was greater than that of the other cultivars. Marked effect of temperature was observed for Kayinja, especially for roots: indeed shoot dry weight was about 3 times smaller at 24/20°C than at 28/25°C, whereas root dry weight was reduced by a factor of about 4.

In solutions with Al, the total biomass was severely reduced in all cases. With respect to the control treatments, Agbagba and Obino l'Ewai were more Al-tolerant than the other cultivars. In all cultivars, Al particularly reduced the pseudostem biomass relatively to the other shoot parts, as well as the weight of lateral roots relative to root axes. These observations on biomass production after 40 d confirm those reported for the various growth parameters. The total biomass production after 40 d was compared to the cumulated values of water uptake during the same period (data from chapter 1). As shown in Fig. 2.2a, these two parameters strongly correlated ($r = 0.97$) for the 5 cultivars grown in control solutions, whatever the temperature. The slope of the regression line in Fig. 2.2a indicates that bananas required about 0.5 water L to produce 1 g dry matter in the control treatments. In solutions with Al (Fig. 2.2b), the banana cultivars did not follow one single biomass/transpiration relationship and the correlation is weaker ($r = 0.76$). Nevertheless, as an indication, the slope of the line in

Fig. 2.2b corresponds to an average requirement of 0.65 water L for 1 g dry matter. These results suggested that the water use efficiency was decreased by Al toxicity in banana plants grown in the solution containing Al, as was reported for pitch pine (*Pinus rigida*) (Cumming and Weinstein, 1990). The plantain cultivars, Obino l'Ewai and Agbagba, still consumed less water than the other cultivars in the Al treatments; in fact, they keep obeying the relationship calculated for the control treatments. This observation suggests that the transpiration efficiency of the two plantains was less affected by Al than that of the three bananas.

Table 2.4. Root and shoot dry matter production (g) and shoot-root ratio of five banana cultivars grown for 40 d in nutrient solution without (-Al) and with 78.5 μM Al (Al^{3+} activity = 10^{-5} M) (+Al). Mean values $\pm$ SE of 3 replicates. In the same line, means followed by the same small letter are not significantly different ($P \leq 0.05$, Scheffé's multiple range test); in the same column and for the same parameter, significant differences between -Al and +Al treatments are indicated by different capital letters following the means ($P \leq 0.05$, T-test paired method).

Parameter	Al	Day/night temperature 28/25°C				Day/night temperature 28/25°C	
		treat.	Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewai	Igitsiri
Roots							
Root axes	-Al	6.4 ± 0.7 aA	6.5 ± 1.1 aA	3.4 ± 0.2 bA	3.1 ± 0.5 bA	1.9 ± 0.4 cA	1.8 ± 0.7 dA
	+Al	2.6 ± 0.2 cB	0.5 ± 0.2 eB	2.2 ± 0.2 aB	1.7 ± 0.3 bB	0.6 ± 0.1 dB	0.2 ± 0.1 eB
Lateral roots	-Al	8.4 ± 0.8 aA	5.3 ± 1.2 bA	4.1 ± 0.6 cA	3.3 ± 0.4 dA	1.5 ± 0.2 eA	1.5 ± 0.2 cA
	+Al	0.8 ± 0.1 dB	0.1 ± 0.0 eB	2.1 ± 0.1 aB	1.4 ± 0.1 bB	0.19 ± 0.1 cB	0.1 ± 0.0 dB
Total roots	-Al	14.8 ± 0.9 aA	12.9 ± 1.0 aA	7.5 ± 0.4 bA	6.4 ± 0.5 bA	3.4 ± 0.4 cA	3.3 ± 0.6 cA
	+Al	3.3 ± 0.2 cB	0.6 ± 0.1 eB	4.2 ± 0.2 aB	3.1 ± 0.2 bB	0.8 ± 0.1 cB	0.3 ± 0.1 dB
Shoots							
Lamina	-Al	20.6 ± 2.8 aA	18.7 ± 1.3 aA	9.1 ± 0.4 cA	12.3 ± 1.1 bA	8.4 ± 0.6 cA	7.3 ± 0.4 dA
	+Al	8.6 ± 0.8 cB	2.9 ± 0.4 eB	5.3 ± 0.2 aB	6.3 ± 1.0 bB	2.9 ± 0.4 dB	2.2 ± 0.5 dB
Midrib	-Al	7.2 ± 0.9 aA	5.7 ± 0.5 bA	3.9 ± 0.3 cA	4.0 ± 0.1 cA	2.3 ± 0.2 dA	1.9 ± 0.3 cA
	+Al	2.8 ± 0.2 cB	0.8 ± 0.0 eB	2.4 ± 0.4 aB	2.2 ± 0.1 bB	0.8 ± 0.1 cB	0.5 ± 0.1 dB
Pseudostem	-Al	17.1 ± 1.1 aA	15.4 ± 1.3 aA	7.8 ± 0.8 bA	9.0 ± 0.3 bA	8.7 ± 0.3 bA	4.9 ± 0.6 cA
	+Al	4.6 ± 0.6 bB	1.4 ± 0.1 eB	3.9 ± 0.7 aB	4.5 ± 0.6 aB	1.6 ± 0.5 cB	0.7 ± 0.1 dB
Total shoots	-Al	44.9 ± 2.9 aA	39.8 ± 2.5 aA	20.8 ± 0.9 cA	25.3 ± 2.9 bA	19.4 ± 2.1 cA	14.1 ± 2.3 cA
	+Al	16.2 ± 0.7 bB	5.2 ± 0.8 dB	11.4 ± 1.8 aB	12.9 ± 3.1 aB	5.0 ± 0.8 cB	3.4 ± 0.5 cB
Shoot/root ratio	-Al	2.9 ± 0.2 cB	3.1 ± 0.4 cB	2.8 ± 0.6 cA	4.0 ± 0.3 bA	5.6 ± 0.4 aA	4.4 ± 0.3 bB
	+Al	5.0 ± 0.5 dA	8.7 ± 0.6 bA	2.7 ± 0.2 fA	4.3 ± 0.2 eA	6.4 ± 0.6 cA	11.4 ± 0.5 aA

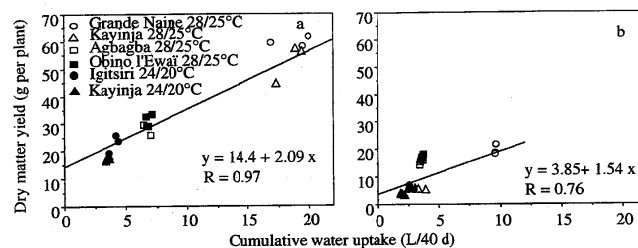


Figure 2.2. Relationship between cumulated water uptake and total biomass yield (dry weight) of bananas after 40 d experiment; (a) control treatment without Al, and (b) treatment with 78.5 μM Al (Al^{3+} activity = 10^{-5} M).

2.3.5. Element concentrations in roots and shoots

Element concentrations in the dry matter of bananas after 40 d are presented in Table 2.5. It is of course not possible to discuss all tendencies in the frame of this chapter; however these exhaustive results may be of use for comparison in further researches. We will just point out the most straightforward differences between the different plant parts, and the main effects of Al. For all bananas grown in solutions without Al, Ca was more concentrated in midrib, Mg in root, K in pseudostem and midrib, and N in lamina; P concentrations were similar in all plant parts. Microelements were more concentrated in root for Fe, Cu, and B, and in lamina for Mn. Mo was especially located in root and lamina. In addition to these general trends, significant differences were noticed between cultivars for most elements contents in most plant parts. Nitrogen content was less depending on cultivars than the other nutrients.

Al reduced Ca and Mg concentrations in all plant parts for all cultivars, but increased K and P, whereas it did not significantly affect N content. Aluminium affected microelement concentrations in different ways: Fe content clearly increased in root; Mn concentration decreased for bananas grown at 28/25°C, especially in lamina; Cu content increased in all plant parts; B concentration increased in pseudostem and lamina, whereas variations in different ways were observed for Mo and Zn contents depending on cultivars. As far as Al is concerned, translocation from root to shoot was obviously very limited for all cultivars, so that Al concentrations were at least 30 times larger in roots than in shoots.

Table 2.5. Element concentrations in dry matter of different parts of banana plants grown for 40 days in nutrient solutions without Al (-Al) and with $78.5 \mu\text{M}$ Al (Al^{3+} activity = 10^{-5} M) (+Al). Mean values $\pm$ SE of 3 replicates (ND = Not determined). In the same line, means followed by the same small letter are not significantly different ($P \leq 0.05$, Scheffé's multiple range test); in the same column and for the same parameter, differences between -Al and +Al treatments are indicated by different capital letters following the means ($P \leq 0.05$, T-test paired method).

Al	Day/night temperature 28/25°C				Day/night temperature 28/25°C	
	treat.	Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewai	Kayinja
Roots						
<i>Macroelements (g kg⁻¹ dry wt.)</i>						
Ca	-Al	4.6 $\pm$ 0.2 aA	4.9 $\pm$ 0.4 aA	5.2 $\pm$ 0.8 aA	5.1 $\pm$ 0.5 aA	4.9 $\pm$ 0.3 aA
	+Al	3.5 $\pm$ 0.1 bB	3.4 $\pm$ 0.3 bB	3.9 $\pm$ 0.2 aB	3.4 $\pm$ 0.1 bB	3.6 $\pm$ 0.5 abB
Mg	-Al	2.87 $\pm$ 0.21 aA	2.55 $\pm$ 0.25 aA	1.80 $\pm$ 0.15 bA	2.09 $\pm$ 0.20 bA	1.39 $\pm$ 0.23 cA
	+Al	0.85 $\pm$ 0.07 bB	0.71 $\pm$ 0.05 cB	0.95 $\pm$ 0.02 aB	0.92 $\pm$ 0.01 bB	0.87 $\pm$ 0.05 bB
K	-Al	45 $\pm$ 7 cA	53 $\pm$ 2 cB	60 $\pm$ 4 bB	53 $\pm$ 1 cB	71 $\pm$ 4 aB
	+Al	81 $\pm$ 9 bB	74 $\pm$ 5 bA	121 $\pm$ 18 aA	64 $\pm$ 3 cA	84 $\pm$ 7 bA
P	-Al	2.9 $\pm$ 0.2 bB	2.3 $\pm$ 0.3 cB	3.9 $\pm$ 0.4 aB	4.1 $\pm$ 0.6 aA	3.0 $\pm$ 0.2 bB
	+Al	4.3 $\pm$ 0.3 dA	6.8 $\pm$ 0.7 cA	9.0 $\pm$ 0.3 bA	4.7 $\pm$ 0.4 dA	9.1 $\pm$ 1.0 bA
N	-Al	25 $\pm$ 2 aA	27 $\pm$ 3 aA	24 $\pm$ 2 aA	26 $\pm$ 3 aA	24 $\pm$ 2 aA
	+Al	25 $\pm$ 3 abA	28 $\pm$ 2 aA	23 $\pm$ 2 bA	29 $\pm$ 2 aA	24 $\pm$ 2 bA
-Al	-Al	ND	ND	ND	ND	0.2 $\pm$ 0.1 bB
	+Al	2.9 $\pm$ 0.1 d	7.8 $\pm$ 0.9 b	4.3 $\pm$ 0.5 c	3.8 $\pm$ 0.3 c	6.9 $\pm$ 0.5 bA
<i>Macroelements (mg kg⁻¹ dry wt.)</i>						
Fe	-Al	760 $\pm$ 100 bB	330 $\pm$ 50 dB	1400 $\pm$ 170 aB	550 $\pm$ 30 cB	500 $\pm$ 52 cB
	+Al	3000 $\pm$ 210 bA	990 $\pm$ 40 dA	4420 $\pm$ 80 abA	1290 $\pm$ 150 cdA	1650 $\pm$ 120 cA
Mn	-Al	260 $\pm$ 40 bA	200 $\pm$ 20 cA	140 $\pm$ 40 dA	190 $\pm$ 10 cA	160 $\pm$ 20 dB
	+Al	90 $\pm$ 10 dB	120 $\pm$ 20 cB	90 $\pm$ 40 cdA	170 $\pm$ 30 bA	190 $\pm$ 10 bA
Mo	-Al	160 $\pm$ 10 bB	140 $\pm$ 10 cA	140 $\pm$ 10 cA	120 $\pm$ 30 cB	170 $\pm$ 20 bB
	+Al	330 $\pm$ 30 bA	90 $\pm$ 50 dA	110 $\pm$ 60 dA	280 $\pm$ 10 cA	360 $\pm$ 50 bA
Cu	-Al	60 $\pm$ 9 bB	56 $\pm$ 4 bB	47 $\pm$ 16 bB	76 $\pm$ 20 bA	147 $\pm$ 31 aA
	+Al	91 $\pm$ 10 cA	122 $\pm$ 12 bA	92 $\pm$ 8 cA	92 $\pm$ 7 cA	176 $\pm$ 37 aA
B	-Al	57 $\pm$ 7 aA	72 $\pm$ 13 aA	42 $\pm$ 12 bA	40 $\pm$ 5 bB	19 $\pm$ 8 cA
	+Al	41 $\pm$ 3 bB	35 $\pm$ 9 bB	50 $\pm$ 3 aA	48 $\pm$ 2 aA	12 $\pm$ 2 dA
Zn	-Al	46 $\pm$ 20 cA	65 $\pm$ 15 cB	168 $\pm$ 25 aA	144 $\pm$ 5 abA	131 $\pm$ 5 bB
	+Al	58 $\pm$ 14 dA	105 $\pm$ 8 bA	112 $\pm$ 17 bB	84 $\pm$ 6 cB	178 $\pm$ 22 aA

Table 2.5. Following

Al	Day/night temperature 28/25°C				Day/night temperature 28/25°C	
	treat.	Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewai	Kayinja
Pseudostem						
<i>Macroelements (g kg⁻¹ dry wt.)</i>						
Ca	-Al	14.2 $\pm$ 0.2 abA	15.6 $\pm$ 1.4 aA	13.3 $\pm$ 0.6 bA	11.9 $\pm$ 0.5 cA	13.8 $\pm$ 0.1 bA
	+Al	12.5 $\pm$ 1.2 aB	8.5 $\pm$ 0.9 bcB	8.9 $\pm$ 0.3 bB	9.6 $\pm$ 1.0 bB	7.9 $\pm$ 0.4 cB
Mg	-Al	1.4 $\pm$ 0.2 aA	1.2 $\pm$ 0.1 aA	0.8 $\pm$ 0.1 cA	0.9 $\pm$ 0.0 cA	1.1 $\pm$ 0.1 bA
	+Al	0.71 $\pm$ 0.06 aB	0.63 $\pm$ 0.01 bB	0.51 $\pm$ 0.12 bB	0.56 $\pm$ 0.08 bB	0.66 $\pm$ 0.11 abB
K	-Al	71 $\pm$ 2 cB	63 $\pm$ 4 dB	80 $\pm$ 4 bB	91 $\pm$ 5 aB	82 $\pm$ 3 bB
	+Al	115 $\pm$ 9 bA	156 $\pm$ 14 aA	93 $\pm$ 3 cA	116 $\pm$ 5 bA	121 $\pm$ 10 bA
P	-Al	2.7 $\pm$ 0.1 cB	2.1 $\pm$ 0.8 cB	4.3 $\pm$ 0.3 aB	3.4 $\pm$ 0.4 bB	3.6 $\pm$ 0.2 bB
	+Al	5.1 $\pm$ 0.5 bA	6.4 $\pm$ 0.2 aA	5.1 $\pm$ 0.1 bA	6.5 $\pm$ 0.5 aA	4.8 $\pm$ 0.6 bA
N	-Al	19 $\pm$ 2 aA	21 $\pm$ 3 aA	20 $\pm$ 1 aA	22 $\pm$ 3 aA	21 $\pm$ 1 aA
	+Al	22 $\pm$ 2 aA	24 $\pm$ 4 aA	16 $\pm$ 2 bB	21 $\pm$ 1 aA	18 $\pm$ 1 abB
Al	-Al	ND	ND	ND	ND	0.09 $\pm$ 0.1 aA
	+Al	0.24 $\pm$ 0.03 b	0.16 $\pm$ 0.01 c	0.13 $\pm$ 0.04 c	0.13 $\pm$ 0.03 c	0.19 $\pm$ 0.14 bA
<i>Macroelements (mg kg⁻¹ dry wt.)</i>						
Fe	-Al	170 $\pm$ 30 cB	460 $\pm$ 59 aA	240 $\pm$ 14 bA	170 $\pm$ 21 cB	190 $\pm$ 19 cA
	+Al	340 $\pm$ 63 aA	220 $\pm$ 32 bcB	180 $\pm$ 12 cB	250 $\pm$ 23 bA	180 $\pm$ 22 cA
Mn	-Al	160 $\pm$ 11 cA	200 $\pm$ 25 bA	190 $\pm$ 15 bA	160 $\pm$ 9 cA	150 $\pm$ 19 cA
	+Al	160 $\pm$ 9 cA	190 $\pm$ 13 bA	120 $\pm$ 23 dB	120 $\pm$ 14 dB	170 $\pm$ 24 bcA
Mo	-Al	160 $\pm$ 56 aA	140 $\pm$ 46 aA	60 $\pm$ 36 bA	60 $\pm$ 41 bA	60 $\pm$ 23 bA
	+Al	100 $\pm$ 2 aB	120 $\pm$ 12 aA	90 $\pm$ 5 bA	90 $\pm$ 3 bA	50 $\pm$ 15 cA
Cu	-Al	22 $\pm$ 1 cA	38 $\pm$ 8 aA	29 $\pm$ 5 abA	24 $\pm$ 1 bA	48 $\pm$ 9 aA
	+Al	29 $\pm$ 7 bA	47 $\pm$ 12 abA	35 $\pm$ 9 bA	28 $\pm$ 13 bA	37 $\pm$ 4 bA
B	-Al	29 $\pm$ 2 bB	33 $\pm$ 1 aB	28 $\pm$ 3 bB	29 $\pm$ 1 bB	14 $\pm$ 4 cA
	+Al	44 $\pm$ 3 aA	44 $\pm$ 2 aA	38 $\pm$ 1 bA	38 $\pm$ 3 bA	15 $\pm$ 2 cA
Zn	-Al	58 $\pm$ 22 bA	73 $\pm$ 15 abB	78 $\pm$ 10 abB	105 $\pm$ 14 aA	104 $\pm$ 16 aB
	+Al	84 $\pm$ 12 cA	114 $\pm$ 10 bA	97 $\pm$ 9 bcA	76 $\pm$ 21 cA	160 $\pm$ 31 aA

Table 2.5. Following.

	Al	Day/night temperature 28/25°C				Day/night temperature 28/25°C	
		treat.	Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewaï	Igitsiri
Lamina							
Macroelements (g kg ⁻¹ dry wt.)							
Ca	-Al	16.2 ± 1.1 aA	10.1 ± 1.9 cA	15.1 ± 0.1 abA	11.9 ± 0.8 cA	14.9 ± 0.1 bA	11.5 ± 0.6 cA
	+Al	15.6 ± 1.4 aA	6.2 ± 0.3 dB	11.3 ± 0.5 bB	8.7 ± 0.4 cB	14.6 ± 0.9 aA	8.5 ± 0.7 cB
Mg	-Al	1.56 ± 0.12 bA	1.51 ± 0.09 bA	1.12 ± 0.08 cA	1.17 ± 0.10 cA	1.90 ± 0.14 aA	0.92 ± 0.08 dA
	+Al	0.85 ± 0.07 aB	0.53 ± 0.05 cB	0.82 ± 0.07 aB	0.78 ± 0.02 aB	0.68 ± 0.01 bB	0.58 ± 0.06 bcB
K	-Al	37 ± 2 dB	45 ± 4 cB	53 ± 3 bA	46 ± 1 cB	33 ± 1 cB	58 ± 2 aB
	+Al	67 ± 2 cA	108 ± 9 aA	51 ± 4 dA	68 ± 5 cA	79 ± 5 bA	69 ± 2 cA
P	-Al	2.5 ± 0.3 cB	1.6 ± 0.3 dB	4.1 ± 0.5 aA	3.5 ± 0.5 abA	2.8 ± 0.1 cB	3.1 ± 0.1 bB
	+Al	5.5 ± 0.5 bA	8.3 ± 0.4 aA	4.9 ± 0.9 bcA	5.5 ± 0.4 bA	4.3 ± 0.3 cA	4.6 ± 0.2 cA
N	-Al	36 ± 3 bA	41 ± 1 aB	40 ± 3 abA	46 ± 5 aA	38 ± 1 bA	43 ± 3 aA
	+Al	38 ± 3 bA	45 ± 2 aA	40 ± 2 bA	39 ± 2 bB	39 ± 3 bA	42 ± 4 abA
Al	-Al	ND	ND	ND	ND	0.06 ± 0.04 bB	0.19 ± 0.08 aA
	+Al	0.13 ± 0.01 ab	0.08 ± 0.03 b	0.11 ± 0.01 b	0.11 ± 0.00 b	0.16 ± 0.04 aA	0.11 ± 0.01 bA
Macroelements (mg kg ⁻¹ dry wt.)							
Fe	-Al	97 ± 60 cB	120 ± 22 cB	253 ± 20 aB	230 ± 24 abA	192 ± 10 bB	180 ± 13 bB
	+Al	194 ± 15 cA	173 ± 28 cA	327 ± 39 aA	262 ± 31 bA	241 ± 22 bA	230 ± 17 bA
Mn	-Al	450 ± 27 cA	355 ± 33 dA	473 ± 20 cA	602 ± 79 bA	854 ± 39 aA	572 ± 25 bA
	+Al	287 ± 13 bB	211 ± 59 cB	262 ± 8 cB	232 ± 37 cB	520 ± 82 aB	255 ± 14 cB
Mo	-Al	134 ± 33 aA	150 ± 51 aA	129 ± 28 aA	137 ± 29 aA	79 ± 12 bA	156 ± 44 aA
	+Al	103 ± 10 aA	138 ± 29 aA	107 ± 13 aA	100 ± 8 aB	87 ± 3 bA	81 ± 5 bB
Cu	-Al	15 ± 3 cB	31 ± 1 bB	39 ± 5 aB	37 ± 4 aB	42 ± 5 aA	34 ± 6 abA
	+Al	31 ± 5 cA	34 ± 2 cA	64 ± 4 aA	65 ± 7 aA	46 ± 2 bA	42 ± 11 bcA
B	-Al	33 ± 2 bB	43 ± 5 aB	33 ± 3 bB	35 ± 2 bB	11 ± 3 cB	6 ± 1 dB
	+Al	51 ± 7 bA	88 ± 16 aA	53 ± 10 bA	51 ± 9 bA	17 ± 2 cA	13 ± 1 dA
Zn	-Al	10 ± 5 cB	31 ± 9 bA	49 ± 5 aB	33 ± 5 bA	54 ± 7 aA	37 ± 3 bB
	+Al	27 ± 8 cA	34 ± 2 cA	81 ± 29 aA	40 ± 3 bA	58 ± 5 aA	46 ± 5 bA

Table 2.5. Following.

	Al	Day/night temperature 28/25°C				Day/night temperature 28/25°C	
	treat.	Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewaï	Igitsiri	Kayinja
Midrib							
Macroelements (g kg ⁻¹ dry wt.)							
Ca	-Al	24.8 ± 1.5 aA	17.3 ± 0.2 cA	19.4 ± 1.4 bA	18.2 ± 0.5 bA	16.8 ± 0.5 cA	18.6 ± 0.8 bA
	+Al	18.6 ± 2.1 aB	7.7 ± 0.6 dB	11.7 ± 1.1 cB	12.6 ± 2.6 bcB	14.2 ± 1.7 bB	10.0 ± 1.3 cB
Mg	-Al	0.92 ± 0.06 bA	0.95 ± 0.07 bA	0.83 ± 0.10 bA	0.68 ± 0.03 cA	1.14 ± 0.08 aA	0.84 ± 0.09 bA
	+Al	0.71 ± 0.08 aB	0.56 ± 0.02 bB	0.68 ± 0.08 aA	0.66 ± 0.04 abB	0.63 ± 0.04 abB	0.44 ± 0.06 cB
K	-Al	62 ± 3 cB	59 ± 6 cB	87 ± 5 bB	90 ± 7 abB	87 ± 2 bB	101 ± 12 aA
	+Al	108 ± 8 bA	143 ± 12 aA	138 ± 9 aA	118 ± 5 bA	109 ± 8 bA	96 ± 2 cA
P	-Al	2.9 ± 0.2 bB	2.1 cB	4.1 ± 0.3 aB	2.8 ± 0.2 bB	3.9 ± 0.4 aA	2.8 ± 0.4 bA
	+Al	5.5 ± 0.2 cA	5.8 ± 0.8 bcA	8.6 ± 0.6 aA	6.4 ± 0.5 bA	4.7 ± 0.8 cA	3.1 ± 0.3 dA
N	-Al	14 ± 1 cB	15 ± 4 bcB	16 ± 1 bA	20 ± 1 aA	17 ± 2 bA	16 ± 1 bB
	+Al	22 ± 1 aA	24 ± 4 aA	13 ± 2 bB	22 ± 2 aA	15 ± 3 bA	21 ± 1 aA
Al	-Al	ND	ND	ND	ND	0.12 ± 0.03 bB	0.22 ± 0.02 aA
	+Al	0.16 ± 0.06 bc	0.13 ± 0.02 c	0.22 ± 0.02 b	0.13 ± 0.04 c	0.35 ± 0.05 aA	0.19 ± 0.07 bcA
Macroelements (mg kg ⁻¹ dry wt.)							
Fe	-Al	202 ± 36 aA	74 ± 21 cB	185 ± 15 aB	173 ± 12 aA	153 ± 5 bB	143 ± 16 bA
	+Al	164 ± 32 bcA	130 ± 29 cA	278 ± 46 aA	177 ± 15 bA	240 ± 22 aA	151 ± 9 cA
Mn	-Al	212 ± 20 bA	223 ± 56 bA	237 ± 41 bA	204 ± 91 bA	244 ± 40 bA	446 ± 28 aA
	+Al	206 ± 23 cA	195 ± 24 cA	145 ± 12 dB	173 ± 34 cdA	296 ± 17 bA	340 ± 25 aB
Mo	-Al	90 ± 19 aA	84 ± 12 aB	101 ± 23 aB	92 ± 21 aB	21 ± 12 cB	65 ± 5 bA
	+Al	133 ± 39 abA	104 ± 14 bA	161 ± 19 aA	163 ± 22 aA	64 ± 12 cA	42 ± 8 cB
Cu	-Al	14 ± 2 cA	13 ± 1 cB	20 ± 3 bA	20 ± 2 bB	36 ± 6 aA	43 ± 5 aA
	+Al	20 ± 8 bA	29 ± 9 bA	22 ± 11 bA	53 ± 12 aA	50 ± 9 aA	60 ± 22 aA
B	-Al	25 ± 4 aB	25 ± 2 aA	26 ± 6 aB	22 ± 3 aB	16 ± 2 bA	17 ± 1 bA
	+Al	35 ± 3 aA	31 ± 9 aA	44 ± 11 aB	40 ± 17 aA	15 ± 4 bA	17 ± 5 bA
Zn	-Al	24 ± 3 bA	22 ± 5 bB	42 ± 12 aA	24 ± 2 bA	42 ± 10 aA	33 ± 4 aB
	+Al	37 ± 14 abA	40 ± 8 aA	59 ± 17 aA	26 ± 4 bA	54 ± 20 aA	63 ± 26 aA

Nevertheless differences were observed among cultivars: Kayinja exhibited the highest Al concentrations in roots, at both temperatures. Igitsiri, cultivated at 24/20°C, also showed higher Al content than that of the cultivars grown at 28/25°C. It is possible that low temperature favoured Al concentration in roots as judged from the results on Kayinja. Indeed, Turner and Lahav (1985) had shown that temperature can strongly affect the concentration of most mineral elements in most banana tissues.

Noteworthy is the fact that Al decreased the concentrations of elements such as Ca and Mg which are transferred to plants chiefly by mass flow. Aluminium did not affect or even increased the concentrations of elements the uptake of which is depending to a large extent on active mechanisms, i.e. K, P, and N. These results strongly support the main conclusion of the chapter 1: Al reduced transpiration of all banana cultivars, and this was suggested to be the first reason for Al detrimental effects on nutrient uptake. If Al affected in a lesser extent the uptake of growth promoting major elements (N, P, K) than that of elements linked to the water flux from solution to roots, it is understood that Ca and Mg contents were reduced by a simple dilution effect in plant tissues. The Mg contents in young bananas grown with Al (0.44 - 0.95 g kg⁻¹) were smaller than the Mg critical concentrations (2 - 3 g kg⁻¹) reported by Lahav and Turner (1983) in distinct parts of banana (*Musa* spp. AAA group, cv Dwarf Cavendish, "fully grown sucker" stage). As young *in vitro* bananas usually show higher levels of most elements than mature field banana, one can conclude that severe Mg deficiency was affecting the bananas grown with Al in this study. Therefore the Al-induced leaf symptoms described above are likely Mg deficiency symptoms. Such deficiency is reinforced by the relative excess of K the uptake of which is controlled mostly by active mechanism. In this respect, it is worth noting that both direct Mg deficiency and K excess-induced Mg deficiency (with symptoms known as "banana blue") are promoted by low soil pH (Delvaux, 1995).

In maize, Clark (1977) found that Mg and Ca contents were drastically reduced by Al, but no correlation was made with possible water uptake inhibition. Forest decline in acid soils was related to leaf Mg deficiency in many regions by several authors (Roberts *et al.*, 1989; Van Praag *et al.*, 1997); other authors attributed tree decay to water stress (Neilson and Marks, 1994; Szepesti, 1997); possibly in acid soils both Mg deficiency and water stress result from Al induced reduction of transpiration.

Aluminium accumulation in roots was observed for many plant species, e.g. maize (Clark, 1977), oat (Alam and Adams, 1979), potato (Lee, 1971), wheat (Zhang and Taylor, 1988), sorghum (Bernal and Clark, 1997), clover (Haynes and Ludecke,

1981), rice (Tang Van Hai *et al.*, 1993; Costa de Macedo, 1998). Aluminium ions have a strong affinity for root exchange sites and can precipitate as hydroxides, Al-phosphate, Al-oxalate in roots (Haynes and Ludecke, 1981; Dahlgren *et al.*, 1991) so that their transfer to aerial part always remains limited, except for Al accumulator plants species such as tea (*Camellia sinensis*) (Matsumoto *et al.*, 1976), *Richeria grandis* (Cuenca *et al.*, 1991) and *Melastoma* (*Melastoma malabathricum*) (Watanabe *et al.*, 1998) which have high Al uptake ability and internal mobility.

2.4. Conclusions

As far as general effects of Al on growth indices are concerned, this study showed that Al decreased pseudostem height and leaf surface area but did not affect the rate of new leaf appearance. Aluminium reduced the number and the diameter of root axes as well as the length of lateral roots, but had few effect on root axis length, except for Kayinja. The chemical composition changes of plant tissues in the presence of Al exhibited some general tendencies for all cultivars: Ca and Mg contents were depressed, K and P were increased, and N was not affected. These differences are likely related to the involved uptake mechanisms; indeed Ca and Mg uptake is essentially controlled by convective transport in water flow, whereas N, P, and K are taken by active mechanisms which are superposing to mass flow. As plant transpiration was much decreased by Al, Ca and Mg uptake was affected in parallel. Magnesium concentration in plant parts was lower than the deficiency threshold concentrations reported in literature; consequently leaf yellowing and marginal necrosis developing on Al-treated bananas have been attributed to Mg deficiency. The two plantains showed symptoms later than the other cultivars; this should be related to the fact that their water uptake efficiency was less reduced by Al.

This chapter and the previous one paint a broad picture of the effect of Al on 5 banana cultivars. As for other plant species, noticeable differences of Al tolerance were observed among cultivars. Kayinja was shown to be the most sensitive to Al stress both at 28/25°C and 24/20°C; the Grande Naine cultivar which produced the greatest biomass in solutions without Al at 28/25°C can also be considered as really sensitive to Al. The biomass of Igitsiri (cultivated at 24/20°C) was drastically reduced in the presence of Al, and this raises the question of possible temperature effect on Al toxicity. The other two cultivars, Agbagba and Obino l'Ewai, grown at 28/25°C produced less biomass in control treatments, but they were less affected by Al than the other cultivars. It is interesting to note that these two more resistant cultivars are plantains whereas the other 3 cultivars are bananas *sensu stricto*. This

observation is in agreement with Spain *et al.* (1975) who considered that plantains are suitable crops for acid soils.

Acknowledgements

This work was supported by the EU contract INCO-DC CEE CT 970208 and by the research programme N°2.4595.98 of the belgian *Fonds de la Recherche Fondamentale et Collective* (FNRS-FRFC). We thank Pr. Charles Renard for stimulating discussions and suggestions, Ir. Inès van den Houwe of the INIBAP Transit Centre at the Katholieke Universiteit Leuven for advices and services during the *in vitro* culture phase of bananas, Patrick Populaire and Anne Iserentant for their technical support during the experiments and for the chemical analyses.

3 Cation exchange capacity and Al-Ca-Mg speciation in roots of bananas (*Musa* spp.) cultivated in soils and in nutrient solutions³

Abstract

In the chapters 1 and 2, we have shown that bananas, as many other crop species, accumulate Al in roots when grown in nutrient solution containing Al ions. Different authors have suggested that Al toxicity can be partly related to ion exchange processes on roots, Al acting as a competitor for Ca and even for Mg. The aim of this work was to measure the cation exchange capacity of roots (CECR) of 5 banana cultivars (Grande Naine, Agbagba, Obino l'Ewai, Igitsiri, and Kayinja) and to assess the composition of the root exchange sites in nutrient solutions with and without Al, and in two soils from Cameroon. Copper was used as an extractant for "exchangeable" cations. Further extraction of Al, Ca, and Mg was carried out using HCl, and residual cations were determined in solubilized ashes after roots were burned. The mean CECR values of the 5 cultivars were similar in the 2 soils and in the nutrient solution without Al (CECR = $23.0 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$), but significantly greater for bananas grown in nutrient solution with Al (CECR = $32.6 \text{ cmol}_c \text{ kg}^{-1}$). Kayinja, the most sensitive cultivar to Al, had greater CECR than the other 4 cultivars, which corroborates with studies on other plant species suggesting that varieties with high CECR might be less Al-tolerant. Exchangeable cations, as extracted by CuSO_4 , were dominated by Ca which was representing 50-60% of the sum of exchangeable Al-Ca-Mg cations in nutrient solutions and in soils. Aluminium amounted to 15-35% of the sum of exchangeable cations. As pointed out in few other studies, Al fixed on root exchange sites was not the dominant form of Al storage in roots, although it might have the most important detrimental effects. Al-precipitates or complexes were accounted for 80-90% of total Al in banana roots. Nevertheless, considering all cultivars and all treatments together, the total Al concentration in roots was well correlated with CECR. The experiments in nutrient solutions showed that the fixation of Al on root exchange sites did not occur to the detriment of Ca but to the detriment of Mg. The Mg proportion dropped from 40% to 5% when Al was competing for the exchange sites, whereas the Ca proportion remained at about 60%. This is to be related to our previous observations of Mg-deficiencies for bananas treated with Al. Therefore we suggest that the Al/Mg ratio on roots could be a better indicator of Al-toxicity than the Al/Ca ratio.

³ Text prepared for publication with the following authors: Gervais RUFYIKIRI, Joseph E.DUFEY, Raphaël ACHARD and Bruno DELVAUX

3.1. Introduction

Banana production in the tropics is of prime importance both for local consumption, foreign exchange earnings, income and employment (Hallam, 1995; Sharrock and Frison, 1999). As banana has high nutrient requirements, lot of research was devoted to fertilisation practices, with special attention to nitrogen, potassium, magnesium, and even trace nutrients (Marchal and Mallesard, 1979; Martin-Prével, 1980; Turner and Barkus, 1980; Godefroy and Dormoy, 1983; Lahav, 1995). However, although acid soils cover considerable areas in the tropics (von Uexküll and Mutert, 1995), few studies were carried out so far on the tolerance of bananas to soil acidity and to aluminium toxicity which was demonstrated to limit most crops yield in these problem soils (Delvaux, 1995). In the last few years, we have conducted several studies on the mineral nutrition of different banana cultivars and results on aluminium toxicity are given in chapters 1 and 2. As shown for many other plant species (Clark, 1977; Alam and Adams, 1979; Haynes and Ludecke, 1981; Zhang and Taylor, 1988; Tang Van Hai *et al.*, 1993; Bernal and Clark, 1997; Costa de Macedo, 1998), aluminium was found to accumulate in banana roots, translocation to aerial parts remaining limited in almost all studied cases. According to literature (Dahlgren *et al.*, 1991; Tice *et al.*, 1992), Al ions are tightly fixed on root exchange sites, which mainly identify to carboxylate groups of uronic acids from pectin and hemicellulose in the root cell walls (Crooke *et al.*, 1960; Horst, 1995). Cross-linking of cell wall polymers by Al bridges involves changes in physical properties of roots which become less plastic and resistant to elongation (Horst 1995; Ishikawa and Wagatsuma, 1998). This is one of the numerous mechanisms invoked in literature to explain Al toxicity. Drastic changes in plasma membrane properties and associated proteins and lipids are certainly to take also a great part in Al detrimental effect on root elongation and plant growth (Horst 1995; Wagatsuma *et al.*, 1995; Blancaklor *et al.*, 1998). In the chapter 1, we found that a reduction of water uptake rate was likely the first cause for nutrient uptake disorders in the presence of Al.

Whatever the actual mechanisms of Al toxicity may be, the accumulation of Al in roots is a well established fact. Therefore identifying the chemical forms of Al in roots, and more especially Al loading on root exchange sites in comparison with other cations, should deserve consideration for proper interpretation of data. In non acid soils, ionic Al activity in solution is low so that calcium, which has also high affinity for carboxylate groups, is dominating the exchange complex of roots (Dufey *et al.*, 1991). Some authors suggested to consider the Al/Ca ratio on soils and roots to assess potential Al toxicity (Noble *et al.*, 1988; Cronan and Grigal, 1995; Sanzonowicz *et al.*, 1998). As magnesium is the second major divalent cation in most

soils, it is also interesting to evaluate its contribution to root exchange capacity, being a possible counteracting cation for Al fixation. Aluminium not only has high affinity for the exchange sites of any cation exchanger but it can also be involved in precipitation reactions depending on pH and accompanying anions. Indeed, Al could form precipitates with phosphate in roots as a result of uptake, and also with oxalate ions which may be produced by the plant and by associated fungi (Dahlgren *et al.*, 1991; Ma *et al.*, 1998; Vázquez *et al.*, 1999). Polynuclear hydroxy-Al and even gibbsite were also hypothesised to precipitate as a result of increasing pH in root tissues as compared to rhizosphere (Dahlgren *et al.*, 1991; Kochian, 1995).

This chapter reports measurements of root cation exchange capacity, exchangeable and non-exchangeable forms of Al, Ca, and Mg on roots of bananas cultivated in two different soils from Cameroon and in nutrient solutions with and without Al. Five banana cultivars were sampled in order to assess possible reasons for differential sensitivity to Al stress.

3.2. Material and methods

3.2.1. Root sampling

This study deals with 5 banana (*Musa* spp.) cultivars that are very common in Africa: 3 cultivars from low altitude area of West Africa, i.e. Grande Naine (dessert banana), Agbagba (medium false horn plantain), and Obino l'Ewai (French plantain), and 2 "beer varieties" cultivated in the East African highlands, i.e. Igitsiri and Kayinja. Vitroplants supplied by Vitropic (Montpellier, France) for Grande Naine and produced by ourselves in the Musa Germplasm Transit Centre (Heverlee, Belgium) of the International Network for Improvement of Banana and Plantain (INIBAP) for the four other cultivars were grown in nutrient solutions for 40 d after weaning. The growth conditions were as follows: 448 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ photon flux density 12 h per day, 90% relative humidity, 28/25°C day/night temperature for the 3 low altitude cultivars, and 24/20°C day/night temperature for the 2 "beer varieties" cultivated in the highlands. The nutrient solution supplied continuously with peristaltic pumps was determined as described in Chapter 1 and had the following composition, (in mM): 0.9 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.05 CaSO_4 , 0.05 CaCl_2 , 0.5 KCl , 0.25 K_2SO_4 , 0.05 MgCl_2 , 0.05 MgSO_4 , 0.1 NH_4Cl , 0.05 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.05 NaH_2PO_4 , and (in μM): 80 H_3BO_3 , 80 FeEDTANA , 8 MnCl_2 , 0.8 ZnSO_4 , 0.8 CuSO_4 , 5.6 $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ (referred as -Al treatment). Half of the bananas were supplied with the above solution to which 78.5 μM Al was added as $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ (referred as +Al treatment). The pH values

were 5.2 for the -Al treatment and 4.2 for the +Al treatment. For each treatment, three homogeneous individuals of 7.5, 15.0, 17.1, 17.1 and 8.0 cm average height for Grande Naine, Kayinja, Agbagba, Obino l'Ewai and Igitsiri, respectively, the tallest out of 50 vitroplants for each cultivar, were grown in separated pots. At the end of the experiment, root axis tips and lateral roots were collected and stored at -10°C .

Banana roots of the same cultivars were also collected from field plots in Cameroon as follows. Roots were progressively extracted from the soil starting at the banana bulb; they were washed with distilled water and root tips of 5 cm length were collected and stored at -10°C . The sampling procedure was repeated on 2 soil types in the Mongo zone in the Littoral Province: an Andisol from the *Centre de Recherches Régionales sur Bananiers et Plantains* (C.R.B.P.) in Nyombe, and an Oxisol 5 km far from this research station. Soil samples were taken in the 0-25 cm layer at 1 m far from the banana bulb; besides rhizosphere soil samples were also taken in the Andisol by collecting the soil material sticking on roots close to the banana bulb. After drying at room temperature and passing through a 2 mm sieve, the soil samples were analysed for pH (in water and 1M KCl at 1/5 soil/solution ratio), organic C (Walkley and Black method), total N (Kjeldahl method), exchangeable Ca, Mg, K, and Na (extracted with 1M NH_4 -acetate pH 7), exchangeable H and Al (extracted with 1M KCl), and cation exchange capacity (CEC measured after saturation with NH_4^+ and extraction with 10% KCl at pH 3). Mean values and standard errors of these characteristics are given in Table 3.1.

Table 3.1. Chemical characteristics of soils sampled in banana fields at Mboumé (Oxisol) and in the CRBP station of Nyombé (Andisol). The values are means $\pm$ SE of triplicate.

Properties	Oxisol	Andisol		Methods
Soil depth (cm) 0 - 25	0 - 25	Rhizosphere		
pH _{H₂O}	4.27 $\pm$ 0.07	6.05 $\pm$ 0.07	5.87 $\pm$ 0.15	1:5 soil:water
pH _{KCl}	4.04 $\pm$ 0.02	5.02 $\pm$ 0.13	4.93 $\pm$ 0.17	1:5 soil:1M KCl
Organic C (g kg ⁻¹)	7.6 $\pm$ 0.6	21.7 $\pm$ 0.5	20.8 $\pm$ 0.8	Walkley-Black
Total N (g kg ⁻¹)	0.8 $\pm$ 0.1	1.9 $\pm$ 0.1	1.6 $\pm$ 0.1	Kjeldahl
Al (cmol _c kg ⁻¹)	2.25 $\pm$ 0.13	0.0	0.0	Extracted with 1M KCl
H (cmol _c kg ⁻¹)	3.15 $\pm$ 0.22	0.66 $\pm$ 0.16	0.36 $\pm$ 0.19	Extracted with 1M KCl
Ca (cmol _c kg ⁻¹)	0.38 $\pm$ 0.02	10.9 $\pm$ 1.7	9.10 $\pm$ 2.1	Extracted with 1M NH_4 -acetate pH 7
Mg (cmol _c kg ⁻¹)	0.08 $\pm$ 0.00	2.0 $\pm$ 0.2	1.34 $\pm$ 0.25	Extracted with 1M NH_4 -acetate pH 7
K (cmol _c kg ⁻¹)	0.09 $\pm$ 0.00	0.50 $\pm$ 0.25	0.60 $\pm$ 0.37	Extracted with 1M NH_4 -acetate pH 7
Na (cmol _c kg ⁻¹)	0.07 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.03	0.17 $\pm$ 0.03	Extracted with 1M NH_4 -acetate pH 7
CEC (cmol _c kg ⁻¹)	6.23 $\pm$ 0.08	34.4 $\pm$ 1.6	30.8 $\pm$ 5.3	Soil saturated with 1M NH_4 -acetate pH 7 and NH_4 extracted with 10 % KCl pH 3

3.2.2. Cation exchange capacity of roots and selective extraction of cations

Root tips of 5 cm length were cut in 0.5 cm fragments and the equivalent of about 0.2 g dry matter was packed in a 20 cm³ column with millipore filter at the bottom, connected to an erlenmeyer flask and a vacuum pump. Root cation exchange capacity and exchangeable cations were measured according to Dufey and Braun (1986). Briefly, the root material was washed with 15 successive aliquots of 15 mL 10^{-2}M CuSO_4 . Contact between roots and each CuSO_4 aliquot was maintained for 10 min before draining. The cations desorbed from roots by Cu^{2+} are considered as "exchangeable cations". The roots were then washed with 10^{-4}M CuSO_4 in order to remove excess CuSO_4 while keeping root exchange sites saturated with Cu^{2+} . The amount of Cu^{2+} retained on roots is considered as a measure of the "cation exchange capacity" (CECR). It was assessed by extracting Cu^{2+} with 0.5 L 10^{-1}M HCl. Finally roots were dried at 60°C to determine dry weight. They were then burned at 450°C and ashes were solubilized with concentrated HNO_3 in order to determine residual amounts of cations. Aluminium, Ca and Mg in CuSO_4 extract, in HCl extract, and in ashes, as well as Cu in HCl extract were measured by DC-Plasma spectroscopy. CECR was also determined on lateral roots for most bananas grown in nutrient solutions, but not on roots collected *in situ* because of obvious sampling difficulties.

The General Linear Models (GLM) procedure of the statistical software SAS (SAS Institute, 1985) was used for the statistical analysis of data. Significant differences were considered at $P \leq 0.05$ and mean values were ranked by the Scheffé's multiple range test.

3.3. Results and discussion

3.3.1. Cation exchange capacity of roots

The CECR values as assessed by Cu adsorption are given in Table 3.2. According to Crooke and Knight (1971) monocotyledons have CECR in the range 10-25 cmol_c kg⁻¹ (dry weight basis) and dicotyledons have CECR in the range 15-60 cmol_c kg⁻¹. Bananas in the present study had CECR of 19-36 cmol_c kg⁻¹ for root axes, which is especially high for monocotyledons. However, as said below, sampling only root tips results in higher CECR values than those obtained on entire root systems. CECR values ranging from 6.8 to 13.5 cmol_c kg⁻¹ were reported for 'Robusta' banana roots by Bhattacharyya and Madhava Rao (1988); these low values were measured by titration of powdered roots with thickness > 4 mm collected from the top 0-45 cm soil layers.

Table 3.2. Root cation exchange capacity of five banana cultivars grown in nutrient solution without (-Al) and with 78.5 μM Al (+Al), and in soils (Andisol and Oxisol). The values are means $\pm$ SE of triplicate.

Cultivars	Growth medium					
	Nutrient solution				Soil <i>in situ</i>	
	-Al		+Al		Andisol	Oxisol
	Root axes	Lateral roots	Root axes	Lateral roots	Root axes	
	$\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1} \text{ dry wt}$					
Grande Naine	21.7 $\pm$ 2.3	34.4 $\pm$ 1.9	27.5 $\pm$ 1.1	ND ^s	23.0 $\pm$ 3.5	25.0 $\pm$ 1.0
Kayinja	29.5 $\pm$ 1.6	37.5 $\pm$ 2.9	34.1 $\pm$ 1.5	47.7 $\pm$ 1.6	25.1 $\pm$ 1.7	30.2 $\pm$ 1.6
Agbagba	22.1 $\pm$ 1.5	33.2 $\pm$ 2.8	35.6 $\pm$ 2.2	ND	23.2 $\pm$ 1.0	23.8 $\pm$ 1.9
Obino l'Ewai	22.9 $\pm$ 2.7	35.3 $\pm$ 7.8	35.0 $\pm$ 1.1	ND	22.5 $\pm$ 1.1	24.6 $\pm$ 2.6
Igitsiri	18.8 $\pm$ 1.1	29.4 $\pm$ 1.6	31.0 $\pm$ 5.8	34.9 $\pm$ 1.1	20.3 $\pm$ 2.1	21.2 $\pm$ 1.9
Means of cultivars	23.0 $\pm$ 3.9	33.9 $\pm$ 3.0	32.6 $\pm$ 3.4	41.3 $\pm$ 9.1	22.8 $\pm$ 1.7	24.9 $\pm$ 3.3

^s Not determined.

The mean CECR for the 5 cultivars are not significantly different in the 2 soils and in the nutrient solutions without Al, whereas CECR is greater for bananas grown in nutrient solutions with Al. Apparently, Al should increase the uronic acid concentration in root cell walls, possibly because of inhibiting secondary wall formation. Indeed secondary walls contain few charged groups but they contribute to the dry matter which is taken as a reference for expressing CECR. However, we did not find data in literature supporting this hypothesis. In fact, some authors reported that Al tends to reduce CECR (Godbold and Jentschke, 1998). These contradictory results might be due to the root sampling procedure and probably to differences in plant species characteristics. If measurements are carried out on the entire root system in which the proportion of young tissues is lowered by toxic elements, then the CECR values can be smaller. It was shown that CECR decreases with increasing root age (Chamuah and Dey, 1982) so that average CECR normally decreases for not healthy root systems. In the present study, CECR was measured only on root axis tips so that the reported values are not average values for entire root system, but reference values on carefully selected young root tissues.

Only small CECR differences were observed among the studied cultivars. Nevertheless, Kayinja had CECR values above the average of the other cultivars. This is worth relating to Al-stress sensitivity. Indeed, we found that Kayinja was less tolerant to Al than the other cultivars (Chapters 1 and 2). This finding corroborates with results of other authors who also showed that plants with high CECR values

should be less resistant to Al-toxicity (Mugwira and Elgawhary, 1979; Rengel and Robinson, 1989; Büscher *et al.*, 1990; Horst, 1995), and this was usually explained by the alteration of cell wall properties which depend on Al-links density between wall polymers. Despite such agreement of our results with other data from literature, we must mention that the correlation between CECR and Al-sensitivity was contradicted by some authors (Wagatsuma, 1983; Blamey *et al.*, 1992; Ishikawa and Wagatsuma, 1998). This is not a surprise because of the many other detrimental effects that Al can induce on plant metabolism, especially on nutrient and water transport through plasma membranes. In any case it is likely that correlation between Al-toxicity and CECR should be limited to cultivars or varieties of the same plant species.

Table 3.2 shows that lateral roots have higher CECR than the root axes. This is also likely to be related to the lower contribution of secondary cell walls to dry weight in small lateral roots. All these observations stress on the necessity of careful description of root sampling methods when dealing with CECR measurements. In terms of Al toxicity, Al adsorption and accumulation should be higher in lateral roots with larger CECR than in root axes with low CECR. Then, we can consider that the difference of Al-sensitivity observed between lateral roots and root axes reported for banana plants (Chapter 2) and for maize (Calba, 1996) is due to the difference in their CECR.

3.3.2. Exchangeable Al, Ca, Mg

Detailed data are given in Table 3.3 and mean values of Al, Ca, and Mg extracted with CuSO_4 solutions for the 5 cultivars are presented in Figure 3.1, both in absolute and in relative scales. The sum of these cations, expressed in $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$, is in the same range as the Cu-CECR values reported in Table 3.2, taking into account that the nutrient solution with Al and the Oxisol had a pH of about 4.

At this pH, in relatively dilute solutions, not all carboxylic groups are deprotonated, so that Cu^{2+} ions replace not only exchangeable cations but also protons; the efficiency of Cu to explore all potential exchange sites, even those still protonated, is due to its high affinity for carboxylate groups and to the rather high CuSO_4 concentration at which adsorption was carried out.

Table 3.3. Total, exchangeable and non-exchangeable Al, Ca and Mg in roots (cmol_c kg⁻¹ dry wt.) of five banana cultivars grown in nutrient solution without (-Al) and with 78.5 μM Al (+Al) and in soils (Andisol and Oxisol). Mean values ± SE of 3 replicates. In the same line, means followed by the same small letter are not significantly different; in the same column and for the same parameter, significant differences between growth media are indicated by different capital letters following the means ($P \leq 0.05$, Scheffé's multiple range test).

Parameter	Growth	Cultivars				
	medium	Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewaï	Igitsiri
Total content						
Aluminium	-Al	-	-	-	-	-
	+Al	54 ± 2 cA	106 ± 16 aA	58 ± 2 bA	45 ± 3 dA	60 ± 3 bA
	Andisol	22 ± 3 bC	29 ± 2 aC	23 ± 2 bC	13 ± 1 cC	24 ± 2 bC
	Oxisol	46 ± 2 bB	68 ± 4 aB	33 ± 1 cB	29 ± 2 dB	35 ± 3 cB
Magnesium	-Al	12.3 ± 1.5 aA	13.0 ± 1.9 aA	10.9 ± 0.8 aA	9.5 ± 0.2 bB	10.8 ± 1.2 abB
	+Al	2.8 ± 0.3 aC	1.4 ± 0.4 cC	2.7 ± 0.2 aC	2.6 ± 0.1 aD	2.3 ± 0.1 bD
	Andisol	13.3 ± 0.9 bA	11.8 ± 2.1 bcA	11.3 ± 0.7 cA	16.0 ± 1.1 aA	16.2 ± 0.9 aA
	Oxisol	5.4 ± 0.3 aB	4.0 ± 0.8 bB	5.0 ± 0.7 abB	5.6 ± 0.2 aC	4.5 ± 0.4 bC
Calcium	-Al	21.0 ± 2.6 aA	17.1 ± 0.6 bA	18.3 ± 2.0 abAB	19.3 ± 0.8 aB	19.3 ± 1.1 aAB
	+Al	16.7 ± 1.5 aB	17.9 ± 0.9 aA	17.4 ± 1.1 aB	17.2 ± 0.6 aC	18.6 ± 1.4 aAB
	Andisol	20.2 ± 2.1 bA	18.7 ± 1.7 bA	20.9 ± 1.6 bA	25.5 ± 1.0 aA	20.2 ± 2.3 bA
	Oxisol	13.2 ± 2.7 aB	9.8 ± 0.9 bB	12.0 ± 1.0 aC	13.2 ± 0.7 aD	15.8 ± 3.4 aB
CuSO ₄ extract						
Aluminium	-Al	-	-	-	-	-
	+Al	8.9 ± 1.4 abA	10.1 ± 1.6 aA	8.4 ± 0.3 bA	8.6 ± 0.1 bA	7.9 ± 0.1 bA
	Andisol	5.4 ± 0.8 bB	7.6 ± 0.2 aB	3.5 ± 0.3 cB	3.0 ± 0.3 cB	5.0 ± 0.4 bB
	Oxisol	3.6 ± 0.4 bC	4.7 ± 0.2 aC	2.3 ± 0.3 dC	2.7 ± 0.4 cdC	3.1 ± 0.3 bcC
Magnesium	-Al	11.6 ± 1.2 aA	11.2 ± 0.9 aA	9.4 ± 0.5 bA	7.3 ± 0.6 cB	9.5 ± 0.3 bB
	+Al	2.0 ± 0.1 aC	0.9 ± 0.1 dC	1.3 ± 0.2 cC	1.7 ± 0.1 bD	1.9 ± 0.1 aD
	Andisol	12.3 ± 1.8 abA	10.4 ± 0.6 bA	9.8 ± 0.4 bA	14.8 ± 1.6 aA	14.6 ± 1.4 aA
	Oxisol	4.0 ± 0.3 aB	2.7 ± 0.2 bB	4.0 ± 0.2 aB	4.1 ± 0.4 aC	2.9 ± 0.2 bC
Calcium	-Al	16.6 ± 1.3 aA	13.1 ± 0.8 bB	15.0 ± 1.0 aA	16.0 ± 0.9 aB	14.9 ± 1.5 abA
	+Al	11.9 ± 1.0 cB	14.5 ± 0.2 aA	13.9 ± 0.1 bB	13.7 ± 0.3 bC	14.8 ± 0.4 aA
	Andisol	13.6 ± 1.4 bcB	12.4 ± 0.8 cB	15.8 ± 1.5 bA	20.2 ± 1.6 aA	14.1 ± 0.7 bA
	Oxisol	7.0 ± 0.4 bC	6.0 ± 1.2 bC	7.7 ± 0.8 bC	9.5 ± 0.5 aD	9.2 ± 0.3 aB

Table 3.3. Following

Parameter	Growth	Cultivars				
	medium	Grande Naine	Kayinja	Agbagba	Obino l'Ewaï	Igitsiri
<i>HCl extract</i>						
Aluminium	-Al	—	—	—	—	—
	+Al	43.2±1.8 cA	93.6±7.8 aA	48.2±3.1 bA	35.1±4.5 dA	50.8±4.2 bA
	Andisol	6.6±0.4 bB	9.9±1.2 aB	5.4±0.6 cB	4.3±0.2 dB	3.7±0.2 dB
	Oxisol	5.3±0.5 bC	6.7±0.6 aC	4.2±0.2 cC	4.7±0.3 bB	3.7±0.4 cB
Magnesium	-Al	0.4±0.2 dC	1.3±0.1 aA	0.8±0.1 cA	1.5±0.2 aA	1.0±0.1 bB
	+Al	0.6±0.1 aBC	0.2±0.1 bC	0.7±0.1 aA	0.3±0.1 bD	0.3±0.1 bC
	Andisol	0.7±0.1 bB	0.9±0.2 bB	0.8±0.1 bA	0.5±0.1 cC	1.3±0.1 aA
	Oxisol	1.1±0.1 aA	1.1±0.2 aAB	0.4±0.1 bB	0.9±0.2 aB	1.1±0.1 aB
Calcium	-Al	3.0±0.3 aB	2.1±0.1 bB	2.2±0.2 bC	2.0±0.2 bB	2.8±0.4 aC
	+Al	3.2±0.1 aB	1.6±0.1 cC	2.2±0.4 bC	2.2±0.4 bB	2.7±0.3 bC
	Andisol	5.2±0.4 aA	4.4±0.7 abA	4.0±0.2 bA	4.1±0.4 bA	3.8±0.3 bB
	Oxisol	4.6±0.5 aA	2.1±0.3 cB	3.1±0.4 bB	2.5±0.5 bcB	5.5±0.7 aA
<i>Residual</i>						
Aluminium	-Al	—	—	—	—	—
	+Al	1.6±0.2 bC	2.1±0.2 aC	0.9±0.3 cC	1.2±0.1 cC	1.7±0.1 bC
	Andisol	10.3±1.4 cB	11.2±2.7 bcB	13.7±0.4 bB	5.6±0.4 dB	15.0±0.5 aB
	Oxisol	37.3±3.4 bA	56.6±2.8 aA	26.4±2.2 cA	21.5±1.9 dA	28.3±2.5 cA
Magnesium	-Al	0.3±0.2 bAB	0.5±0.1 bA	0.7±0.1 aA	0.7±0.1 aA	0.3±0.2 bB
	+Al	0.2±0.2 bB	0.3±0.1 bB	0.7±0.1 aA	0.6±0.1 aAB	0.4±0.1 bB
	Andisol	0.5±0.1 bA	0.3±0.1 cB	0.9±0.2 aA	0.5±0.1 bB	0.7±0.1 aA
	Oxisol	0.5±0.2 aAB	0.3±0.2 aAB	0.3±0.1 aB	0.3±0.1 aC	0.4±0.2 aB
Calcium	-Al	1.4±0.1 bC	1.9±0.2 aB	1.1±0.1 cC	1.3±0.2 bcB	1.6±0.3 abB
	+Al	1.6±0.1 aB	1.8±0.2 aB	1.3±0.1 bB	1.3±0.1 bB	1.1±0.1 cC
	Andisol	2.7±0.3 bcA	2.8±0.2 bA	3.9±0.5 aA	2.1±0.3 dA	2.4±0.1 cdA
	Oxisol	1.4±0.2 aBC	1.7±0.4 aB	1.4±0.4 aBC	1.3±0.1 aB	1.4±0.2 aB

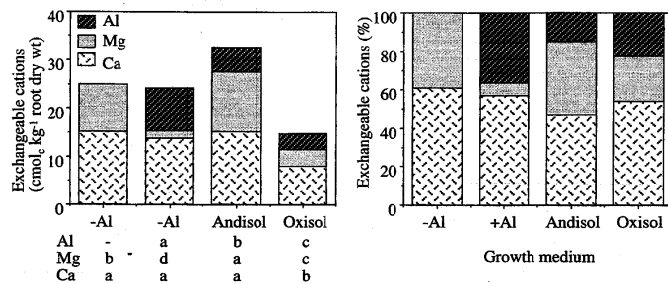


Figure 3.1. Al, Ca, and Mg extracted with CuSO_4 solutions from roots of 5 banana cultivars grown in nutrient solution without Al (-Al) and with $78.5 \mu\text{M}$ Al (+Al), and in soil (Andisol and Oxisol). Mean values are shown both in absolute (left) and in relative scales (right). Significant differences at the 5% level between the growth media are indicated by different letters (left bottom).

In relative terms, Ca was representing 50–60% of the sum of exchangeable Al–Ca–Mg cations in nutrient solutions and in soils. Aluminium was occupying 15 to 35% of the sum of exchangeable cations, except of course in nutrient solutions without Al. It may be surprising to find Al on roots collected from the Andisol at pH about 6, i.e. a pH value at which Al activity in solution should be negligible (Table 3.1 shows that no exchangeable Al was detected in this soil). The reason is likely that nutrient uptake by bananas involves proton release and consequent Al solubilisation in the rhizosphere. Indeed many authors showed that bananas have high cation nutrient requirements (Chapters 1 and 2; Martin-Prével, 1980; Lahav, 1995), which should be balanced by net proton release, and allophanes in Andisols are important potential sources of Al (Delvaux, 1988). The most interesting information from the experiments in nutrient solutions is that the fixation of Al on root exchange sites did not occur to the detriment of Ca but to the detriment of Mg. The Mg proportion dropped from 40% to 5% when Al was competing for exchange sites, whereas the Ca proportion remained at about 60%. This observation corroborates the diagnosis of Al-toxicity reported for these cultivars in the chapter 2. Symptoms on leaves considered as Al-toxicity symptoms were attributed to Mg deficiency. Roots collected from soils were still keeping rather high Mg proportion and bananas did not exhibit particular leave symptoms. This tends to show that Mg concentrations might be increased in nutrient solutions to alleviate Al-toxicity, as reported for other plant species (Rhue and Grogan, 1977; Tang Van Hai *et al.*, 1989).

Also we can question the validity of considering the Al/Ca ratio as an indicator of potential Al-toxicity (Noble *et al.*, 1988; Cronan and Grigal, 1995; Sanzonowicz *et al.*, 1998). According to the present study, it might be more appropriate to consider the Al/Mg ratio. In the nutrient solution with Al, the molar Al/Ca was 0.08 and the molar Al/Mg was 0.79, whereas on root exchange sites we found molar Al/Ca = 0.43 and molar Al/Mg = 4.2 (mean values of 5 cultivars, calculated from data in Table 3.3). Such low values of Al/Ca in solution might lead to conclude that there was no risk of Al toxicity, though all cultivars presented more or less severe Al-induced disorders. Kayinja was the most sensitive to Al, which is to be related to molar Al/Mg = 7.5 on its root exchange sites, a value well above average (4.2), whereas molar Al/Ca = 0.46 for Kayinja which is close to the average value (0.43). In soils, Kayinja had both higher Al/Mg and Al/Ca ratios on CECR than the other cultivars.

3.3.3. Non-exchangeable Al, Ca, Mg

Detailed data of non-exchangeable Al, Ca, and Mg are given in Table 3.3 and mean values of 5 cultivars are presented in Figure 3.2. It appears that in all growth conditions, Ca and Mg contents in roots were to a large extent accounted for exchangeable forms (extracted with CuSO_4), whereas the “exchangeable” Al represented only 10–20 % of total Al in roots. Moreover, as inferred from the extraction procedure, the forms of non-exchangeable Al were depending on the growth conditions. In nutrient solution with Al, almost all Al was extracted with HCl, whereas 50% of total root Al in the Andisol and 80% of total root Al in the Oxisol were not released either by CuSO_4 or by HCl. The measurements carried out in this study do not allow to identify these non-exchangeable Al forms. Precipitation of Al-phosphate, Al-oxalate, and Al-hydroxide within and on root surfaces has been proposed in a number of studies (Dahlgren *et al.*, 1991; Marienfeld *et al.*, 1995; Adamo *et al.*, 1998).

Concerning the marked difference in Al forms stored in roots from nutrient solution and from field, we can just state some hypotheses. In soils, the uptake of phosphate by plants is limited by diffusion processes. The resulting P flux to roots is especially low in soils with high P retention capacity such as Andisols (Delvaux, 1988, 1995), and in soils with low P content such as tropical Oxisols. On the opposite, in stirred nutrient solution, all P is instantaneously accessible to root. It is therefore plausible that Al-phosphate is more easily formed in roots of bananas grown in nutrient solution than in roots from field bananas. We observed indeed in chapter 2 that the

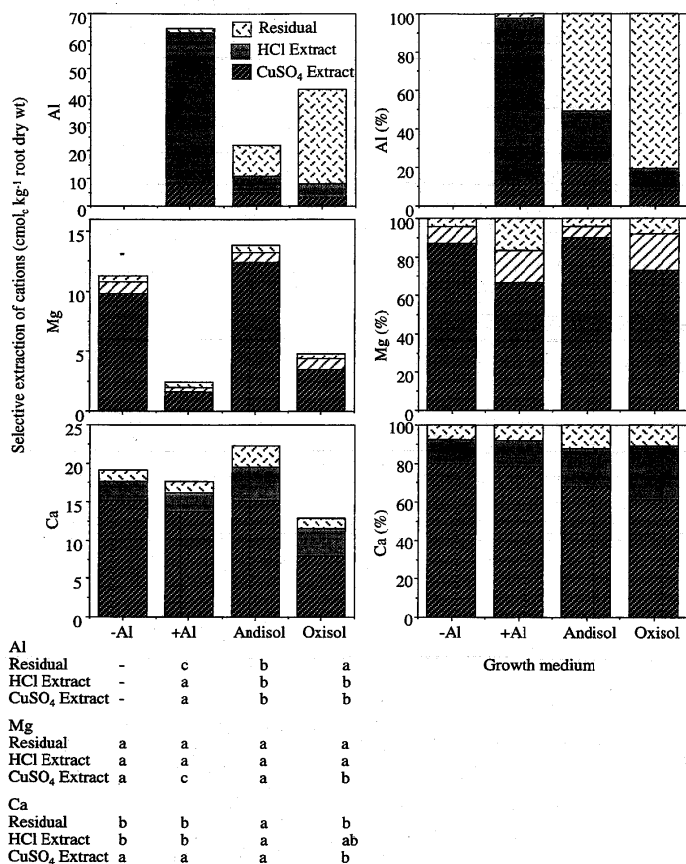


Figure 3.2. Exchangeable (extracted with CuSO_4) and non-exchangeable (extracted with HCl and residual) Al, Ca, and Mg for roots of 5 banana cultivars in nutrient solution without Al (-Al) and with $78.5 \mu\text{M}$ Al (+Al), and in soil (Andisol and Oxisol). Mean values are given both in absolute (left) and in relative scales (right). Significant differences at the 5% level between the growth media are indicated by different letters.

mean P content in roots of the 5 banana cultivars was 3.3 g kg^{-1} in solution without Al and 7.8 g kg^{-1} in solution with Al. In the absence of high P content in roots, Al may preferentially form complexes with organic anions such oxalate or precipitate as Al-hydroxide. Part of the residual Al in roots extracted from soils could possibly be attributed to such Al forms, although Al-oxalate and Al-hydroxide as well as Al-phosphate are expected to be dissolved by acid treatment.

Comparing the 5 cultivars in Table 3.3, we observe that Kayinja, the most sensitive one to Al, accumulated more Al in roots than the others both in nutrient solution and in soils. It is also worth noticing that despite exchangeable Al accounted only for 10-20% of total Al, the total Al concentration in roots was reasonably well correlated with CECR as shown in Figure 3.3. The reason might be that Al fixed on exchange sites serves as starting point for precipitation or complexation reactions with various anions.

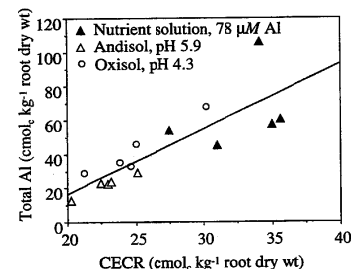


Figure 3.3. Relationship between total Al concentration and cation exchange capacity of banana roots.

4.4 Conclusion

The CECR values measured on 5 cm root tips were similar in nutrient solutions without Al and in soils, but significantly higher in nutrient solutions containing Al. The Kayinja cultivar which was shown in chapters 1 and 2 to be the most sensitive to Al had higher CECR than the others which corroborates with studies in other plant species suggesting that varieties with low CECR might be selected for Al-tolerance. Among the exchangeable cations (as extracted by CuSO_4), Ca was occupying about 50-60% of exchange sites even when Al was present in the growth medium, but Mg

loading was drastically reduced on root exchange sites in nutrient solutions with Al. Therefore we suggest that the Al/Mg ratio on roots could be a better indicator of Al-toxicity than the Al/Ca ratio. As pointed out in few other studies, Al fixed on root exchange sites is far from representing the dominant form of Al storage in roots, although it might have the most important detrimental effects. Al-precipitates or complexes were amounting to 80-90% of total Al in banana roots, and differences were observed between roots grown in nutrient solutions and roots sampled in field, possibly, among other reasons, because of P availability. Nevertheless, there was a correlation between total Al in roots and CECR, which justify further research on relationships between exchange properties of roots and plant response to various environmental factors.

Acknowledgements

This work was supported by the EU contract INCO-DC CEE CT 970208 and by the research programme N°2.4595.98 of the Belgian *Fonds de la Recherche Fondamentale et Collective* (FNRS-FRFC). We thank Ir. Inès van den Houwe of the INIBAP Transit Centre at the Katholieke Universiteit Leuven for advices and services during the *in vitro* culture phase of bananas, Patrick Populaire and Anne Iserentant for their technical support during the experiments and for the chemical analyses.

4

Competitive adsorption of H, Ca, K, Mg and Al on banana roots: experimental data and modelling⁴

Abstract

Recent studies of Al-toxicity on different banana cultivars showed that, as for many other plant species, aluminium was accumulating in roots and that its fixation in roots was accompanied by changes in the concentration of other cations. Experimental measurements of Ca, Mg, K, and Al adsorption on the main root axes of 5 banana cultivars (Grande Naine, Igüsi, Kayinja, Agbagba, and Obino l'Ewai) were carried out at pH values of 3.75 and 4.25. The data obtained were used to calibrate the mathematical model first developed by Sentenac and Grignon [Plant Physiol. 68, 415-419, 1981] for root cell walls and further extended by Genon [Thèse de Doctorat, UCL Louvain-La-Neuve, 1998] to any type of ion exchanger. Adsorption of Ca, K, Mg, and Al ions increased as their concentrations increased in free solutions, and at a given concentration in solution, cation adsorption increased with increasing pH. Calcium, Mg, and K depletion rate on roots upon increasing Al concentration was more marked at pH 4.25 than at pH 3.75. However, the basic cations on roots were not completely depleted in the investigated Al range. At maximum Al charge fraction that was imposed in solutions (0.086), the fixed charge fraction not occupied by Al was about 0.30 at pH 3.75 and 0.25 at pH 4.25. Comparison between experimental values and values calculated with the model presented above for adsorbed Ca, K, Mg, and Al showed good simulations for adsorbed Mg and Al. The calculated values were a little smaller for adsorbed Ca and 1.1 to 2.1 times smaller for adsorbed K than the experimental ones. We concluded that aluminium is very efficient in competing with other cations for root exchange sites despite the low Al concentrations usually found in soil solutions; Mg was confirmed to form only little association with fixed charged groups, so that Al loading on roots occurs mainly to the detriment of Mg. This paper strengthens previous studies showing that mathematical models are reliable for quantitative description of cation exchange equilibria on roots including Al.

⁴ Text prepared for publication with the following authors: Gervais RUFYIKIRI, José G. GENON, Joseph E. DUFEY and Bruno DELVAUX

4.1. Introduction

Recent studies of Al-toxicity on different banana cultivars (Chapters 2 and 3) showed that, as for many other plant species (Alam and Adams, 1979; Zhang and Taylor, 1988; Tang Van Hai *et al.*, 1993; Bernal and Clark, 1997; Costa de Macedo, 1998), aluminium was accumulating in roots and that its translocation to aerial parts remained always limited. Aluminium fixation in roots was accompanied by changes in the concentration of other elements, the most obvious effect being a noticeable decrease in Mg content (Chapters 2 and 3; Clark, 1977). Competition between Al and other cations on the charged constituents in the apoplast was often suggested to be one of the numerous mechanisms which could explain the detrimental effects of Al on plants (Horst, 1995; Keltjens, 1995; Godbold and Jentschke, 1998) even though Al precipitates also form in roots (Chapters 2; Dahlgren *et al.*, 1991). The charged groups responsible for cation fixation in roots are mainly linked to polysaccharides of cell walls (uronic acids of pectin and hemicellulose) and to a lower extent to proteins (Crooke *et al.*, 1960; Haynes, 1980; Horst, 1995). In this respect, roots can be regarded as organic ion exchangers on which cation competition should obey classical physico-chemical laws. Therefore theoretical models of cation exchange could contribute to a better description of the composition of the apoplast and, consequently, of the ionic environment of plasma membranes through which active nutrient transfer takes place. A few studies have attempted to test such models on cell walls (Sentenac and Grignon, 1981; Amory and Dufey, 1984; Calba *et al.*, 1999), on plasma membranes (Kinraide *et al.*, 1992; Kinraide, 1994), or on entire roots (Genon, 1998; Dufey *et al.*, 1999). Interpretation in terms of rhizotoxicity of certain elements, such as Al^{3+} and La^{3+} , was proposed by Kinraide *et al.* (1992) and Kinraide (1994) and such an approach was used by Grauer and Horst (1992) to explain the effect of certain cations such as Ca^{2+} and Mg^{2+} in alleviating Al-toxicity. Calba *et al.* (1999) have recently included the Sentenac and Grignon's model in a mathematical description of Al and protons dynamics in the rhizosphere of maize in acid substrate.

This paper presents a systematic study of the competition between major cations (Ca, Mg, K) for root exchange sites of bananas in acidic conditions where deprotonation of charged groups is not complete and where Al activity in soil solutions must be taken into account. Experimental measurements of Ca, Mg, K, and Al adsorption on the roots of 5 banana cultivars were carried out at 2 low pH values and all the data were used to calibrate the mathematical model first developed by Sentenac and Grignon (1981) for root cell walls and further extended by Genon (1998) to any type of ion exchanger.

4.2. Material and methods

4.2.1. Production and pre-treatment of roots

Five cultivars of bananas (Grande Naine, Kayinja, Agbagba, Obino l'Ewaï, and Igitsiri) were grown in nutrient solutions without Al as described in the chapters 1 and 2. Main root axes were collected after 40 days of cultivation and stored at -10°C before use for the present study. They were washed with 10^{-2}M HCl as described by Dufey and Braun (1986) in order to protonate most acidic groups, and excess acid was removed by rinsing with distilled water until constant pH in filtrate. The roots were then dried at 40°C and cut in 0.5 cm fragments.

4.2.2. Equilibration of roots with salt solutions

Aliquots of 0.2 g dry roots were put into 20 cm^3 glass columns equipped with Millipore filters to which suction could be applied through Erlenmeyer flasks. The roots were leached slowly with 2 liters of nitrate solutions with compositions presented in Table 4.1.

Table 4.1. Cation concentrations (mM) in the solutions used for equilibration with banana roots. Each group of equilibrium solutions was adjusted at pH 3.75 and 4.25.

Groups of equilibrium solutions	Competing cations	Concentration in equilibrium solutions			
		Ca	K	Mg	Al
I.	H-Ca	0.2			
		1			
		5			
II.	H-Ca-K	1	0.2		
		1	1		
		1	5		
III.	H-Ca-K-Mg	1	1	0.02	
		1	1	0.1	
		1	1	0.5	
IV.	H-Ca-K-Mg-Al	1	1	0.1	0.01
		1	1	0.1	0.025
		1	1	0.1	0.05
		1	1	0.1	0.1

The cation composition was progressively extended from H-Ca, to H-Ca-K, H-Ca-K-Mg, and H-Ca-K-Mg-Al in order to achieve systematic calibration of the mathematical model. These equilibrium solutions were adjusted to pH 3.75 and 4.25 with HNO₃, referring to the results given in the Chapter 1 which had shown that the pH values of the solutions in the contact with the roots were maintained for relatively long time between 3.75 and 4.25 by the presence of Al in the +Al treatment or by proton excretion of roots in the -Al treatment. After removing the excess salt solutions by suction, the wet roots were weighed in order to determine the volume of entrapped solutions and to calculate the amounts of residual "free" cations. Adsorbed and free cations were then desorbed by leaching the roots with 15 aliquots of 15 mL 10⁻²M CuSO₄ according to the method proposed by Dufey and Braun (1986). Calcium, Mg, and Al in the leachates were analysed by DCP emission spectroscopy and K by atomic absorption spectrometry. The "adsorbed" cations were calculated by subtracting the "free" cations entrapped in root solutions from the total amounts of cations in the CuSO₄ leachates.

4.2.3. Modelling root-solution equilibria

In the model developed by Sentenac and Grignon (1981) and further extended by Genon (1998), roots are considered as Donnan systems with specific ion-surface interactions. Ions in the "free" external solution are in equilibrium with ions in a given "Donnan volume" associated to the charged fixed groups. Part of the ions in the Donnan volume are closely bound to the charged groups (specific interactions) and the other part is distributed according to attraction-repulsion forces arising from the electric potential that develops around the charges not compensated by tightly bound ions. The Maxwell-Boltzman equation relates the activity (X_{Di}) of any ion in the Donnan free space (i.e. unbound cations in the Donnan volume) to its activity in the equilibrium bulk solution (X_i), as follows:

$$(X_{Di}) = (X_i) \exp \left(- \frac{z_i F \Psi_D}{R T} \right) \quad [4.1]$$

where z_i is the ion charge, Ψ_D is the electric potential in the Donnan free space, F is the Faraday constant, R is the ideal gases constant and T the temperature. Equilibrium between any cation X_i specifically bound to negative charged groups and its activity in the Donnan free space is regarded as resulting from an association-dissociation reaction with the general form:



where R_{zi} refers to z_i mole of fixed negative groups R^- .

Applying the mass action law to this reaction raises the problem of the concentration in $R_{zi}^{(zi)-}$ when multivalent cations are involved. A basic assumption of the model which greatly simplifies further mathematical developments is that the concentration in such multicharged groups is equal to the concentration of the singly charged groups R^- divided by the charge of the compensating cations. An intrinsic dissociation constant, K_{Xi} , can then be written as follows for the ion-surface complex $R_{zi} \cdot X_i$:

$$K_{Xi} = \frac{[R^-] (X_{Di})}{z_i [R_{zi} \cdot X_i]} \quad [4.2]$$

where $[]$ denotes concentrations.

Besides, if we consider that specific surface-ion interactions do not necessarily result in neutral complexes $R_{zi} \cdot X_i$, but that complexes $R_{li} \cdot X_i^{(zi-li)+}$ with $1 \leq l_i \leq z_i$ can also exist (for example $R \cdot Ca^+$, $R \cdot Al^{2+}$, $R_2 \cdot Al^+$), the intrinsic dissociation constant becomes:

$$K_{Xi} = \frac{[R^-] (X_{Di})}{l_i [R_{li} \cdot X_i]} \quad [4.3]$$

As electroneutrality must be achieved in the Donnan volume, the concentration of negative charges R^- and of anions in the Donnan free space must be balanced by the concentration of positive charges $R_{li} \cdot X_i^{(zi-li)+}$ (if $l_i < z_i$) and of cations in the Donnan free space. Combining such a charge balance equation with a conservation equation for the total concentration of fixed groups $[R_{tot}]$ gives:

$$[R_{tot}] = \left(\sum_{ions} z_i [X_{Di}] \right) \left\{ \frac{1 + \sum_{cations} \frac{(X_{Di})}{K_{Xi}}}{1 - \sum_{z_i \neq l_i} \frac{(z_i - l_i) (X_{Di})}{l_i K_{Xi}}} \right\} \quad [4.4]$$

By introducing the (X_{Di}) activities given in Eq. [4.1], we obtain a relationship that allows to calculate the electric potential Ψ_D knowing the ion activities in the bulk solution and the intrinsic dissociation constants. The ion activities in the Donnan free space and the ion-surface complex concentrations can then be directly calculated from Eq. [4.1] and Eq. [4.3].

4.2.4. Model parametrisation

The same set of parameters was used for all five banana cultivars. Part of the dissociation constants were taken from previous studies, and the others were estimated using the non-linear regression NLIN procedure from SAS (SAS Institute, 1985). All equations refer to volume concentrations of charged groups and compensating ions whereas experimental data are always reported with reference to root dry weight. Therefore the question is to know the extent of the solution in roots that is affected by charged fixed groups, i.e. the Donnan volume. The total fixed charge R_{tot} was assimilated to the cation exchange capacity of the roots (CECR). Values for the 5 banana cultivars were obtained by desorbing Cu from roots with HCl according to Dufey and Braun (1986). The CECR measured by Cu adsorption were 21.7 $\text{cmol}_c \text{kg}^{-1}$ for Grande Naine, 18.8 for Igitsiri, 29.5 for Kayinja, 22.1 for Agbagba and 22.9 for Obino l'Ewai. Details are given in the chapter 3.

4.3. Results and discussion

Figure 4.1 presents experimental data at pH 3.75 and 4.25 showing increasing adsorption of Ca, K, Mg, and Al ions with their concentration in free solutions; the concentrations of the accompanying cations in solution were maintained constant (Table 4.1) but, of course, their adsorption on roots was decreasing with increasing concentration of the studied cation. At a given concentration in solution, cation adsorption increased with increasing pH due to deprotonation of the exchange sites which are mainly carboxylate groups. Similar results were obtained on entire roots and on root cell walls of other plant species (Sentenac and Grignon, 1981; Dufey and Braun, 1986; Allan and Jarrell, 1989; Cronan, 1991; Dufey *et al.*, 1991).

Attention must be drawn on possible differences between results obtained in controlled solutions and in soils. Indeed, changes in soil pH involve changes in the solubility of various minerals; decreasing soil pH is normally accompanied by an increase of ionic Al concentration in soil solution so that Al adsorption on roots in soil increases with decreasing pH (Dufey *et al.*, 1991). Little differences were observed among cultivars. However the amounts of adsorbed Al were significantly greater for Kayinja at solution concentrations $\geq 0.05 \text{ mM}$ Al. Also Kayinja adsorbed more Ca than the other cultivars at pH 4.25 and 5 mM Ca in solution. These observations are obviously related to the cation exchange capacities of roots (CECR). In the chapter 3, we reported that the CECR of Kayinja was especially high compared to the other cultivars which exhibited quite similar CECR values.

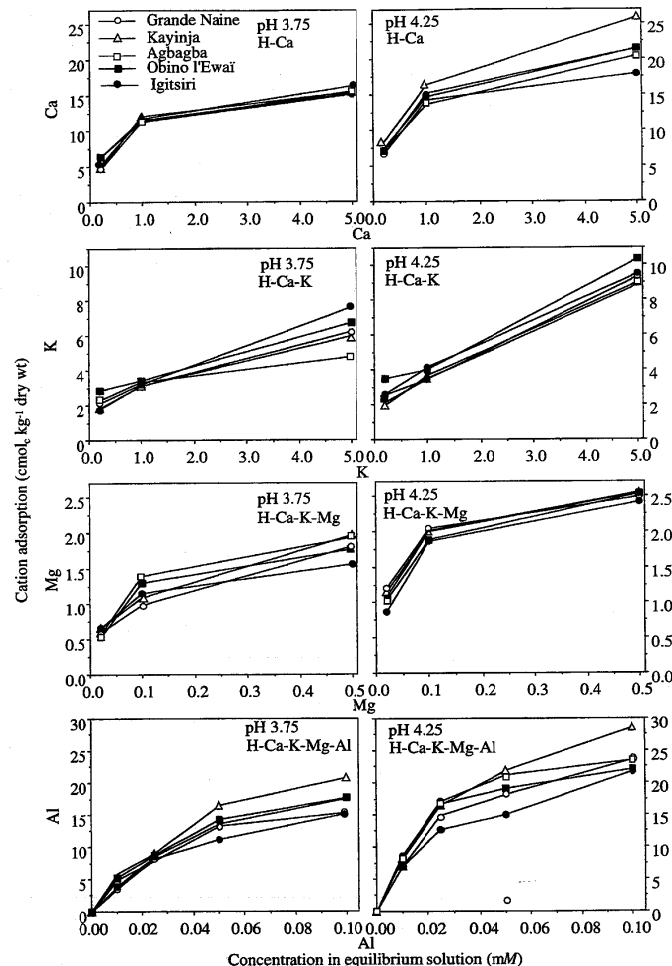


Figure 4.1. Adsorption of Ca, K, Mg, and Al (from top to bottom) at pH 3.75 (left) and 4.25 (right) on the roots of 5 banana cultivars as a function of cation concentrations in equilibrium solutions. Solutions I, II, III, and IV of Table 4.1, from top to bottom.

The amounts of adsorbed Mg could appear very low in Figure 4.1 as compared to adsorbed Ca. But without entering now in a discussion about the affinity of roots for these cations, one must notice that the concentration range in solutions was not the same for the two cations. The maximum concentration was 0.5 mM for Mg and 5 mM for Ca. These values were chosen as representative of soil solutions in which Mg concentrations are normally much lower than Ca concentrations. Besides, in the graphs at the top of Figure 4.1, Ca was not in competition with other cations (except with proton) whereas constant background concentrations of Ca and K were present in the solutions with changing Mg concentrations.

In spite of low Al concentrations in solution (0 to 0.1 mM), the adsorbed Al amounts were comparable to those observed for Ca in the concentration range 0–5 mM. The competitive adsorption of Al with respect to other cations is illustrated in Figure 4.2. Calcium, Mg, and K depletion rate on roots upon increasing Al concentration was more marked at pH 4.25 than at pH 3.75. This means that Al competition for exchange sites was more effective with increasing deprotonation, i.e. for higher concentrations of fixed charges. As usually done in ion exchange studies, relationships between surface and solution composition can be expressed in terms of charge fractions in both phases. Figure 4.3 shows that at a given charge fraction of Al in solution, the charge fraction on roots increased with increasing pH. The reason is likely that the electric potential in the exchanger phase was increasing due to deprotonation and consequently, the attraction for trivalent Al ions was more enhanced than the attraction for di- and monovalent cations according to the Maxwell-Boltzmann law (Eq. [4.1]). The model used in this study should then account for these observations. These results as well as those reported for other plant species (Dufey *et al.*, 1985; Calba *et al.*, 1999) indicate that the proton activity of the solution is an important factor for ion adsorption. This parameter must then be considered when data from different experimental conditions are compared.

Figures 4.2 and 4.3 also show that the base cations on roots were not completely depleted in the investigated Al range: at maximum Al charge fraction that was imposed in solutions (0.086), the fixed charge fraction not occupied by Al was about 0.30 at pH 3.75 and 0.25 at pH 4.25. In a previous study (Chapter 3) on the same banana cultivars, we found also that significant amount of exchangeable Ca was always retained on roots in acid soils and in nutrient solutions with Al. Similar results were obtained for tree roots in acid soils and for clover and rye-grass in Al-Ca exchange experiments (Dufey *et al.*, 1991, 1999).

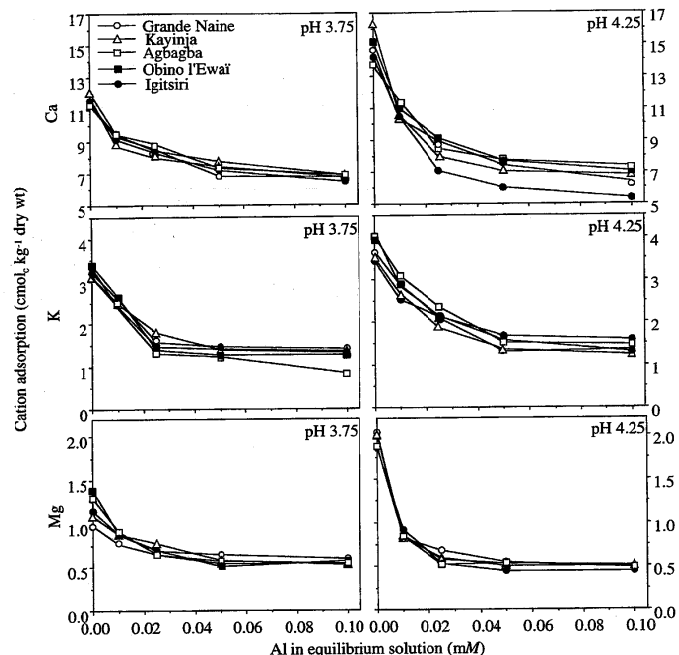


Figure 4.2. Adsorbed Ca, K, and Mg (from top to bottom) at pH 3.75 (left) and 4.25 (right) on the roots of 5 banana cultivars as a function of Al concentration in equilibrium solutions. Solutions IV of Table 4.1.

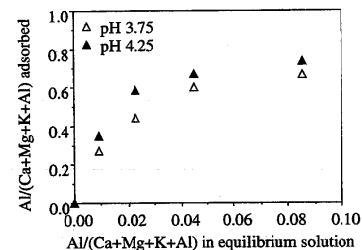


Figure 4.3. Relationship between the mole-charge fraction of Al on roots and in equilibrium solution at pH 3.75 and 4.25 for 5 banana cultivars. Mean values of five cultivars and solutions IV of Table 4.1.

Some authors have considered that the competition between Al and other cations on the charged constituents in the apoplast or at the cell plasma membrane was one of the numerous mechanisms which could explain the detrimental effects of Al to plants (Horst, 1995; Keltjens, 1995; Staß and Horst, 1995; Godbold and Jentschke, 1998). In this respect, Al would mainly occupy the Ca and Mg binding sites and this would decrease directly the concentration of these cations in the roots and impair physiological functions of the root cells. Among the later, cross-linking in the cell wall and cell plasma membrane have been suggested to be the main cause of the inhibition of root growth and water uptake by Al toxicity (Horst, 1995; Ishikawa and Wagatsuma, 1998) with negative consequences on the shoot dry matter production. Reciprocally, the mineral adsorption can decrease when water uptake is inhibited or when absorbing surface area is low under Al stress, as already mentioned in Chapter 1.

In order to validate the model presented above, we did use existing intrinsic dissociation constants as far as possible instead of making regressions with all parameters allowed to vary. The constants reported for R-H complexes ($K_{R-H} = 10^{-3.2}$) and R_2 -Ca complexes ($K_{R_2-Ca} = 10^{-1.1}$) by Sentenac and Grignon (1981) were satisfactorily fitting our data. An attempt to calibrate the model for the R_2 -Mg dissociation constant (K_{R_2-Mg}) was unsuccessful, likely because the range of adsorbed Mg (0.5 to 2.5 cmol_c kg⁻¹) was very small in comparison with CECR. The residual sum of square (RSS) was continuously decreasing with increasing K_{R_2-Mg} . However less than 1% decrease in RSS was noticed for $K_{R_2-Mg} > 1$. Therefore, we retained a unit value for the R_2 -Mg dissociation constant. As far as R-K complexes are concerned, it is generally agreed that monovalent cations (except protons) do not form specific association with carboxylate groups (Sentenac and Grignon, 1981). That is why we introduced a very great value for the dissociation constant of R-K complexes, $K_{R-K} = 10^6$.

The experimental set of data was covering a wide range of adsorbed Al values. Different forms of surface complexes with Al were tested: association of Al^{3+} with one, two or three R⁻ groups. The best fit was obtained with the neutral R_3 -Al form. The non-linear regression procedure NLIN from SAS converged towards a dissociation constant of $10^{-3.78}$ for R_3 -Al complexes. This value is lower than those reported by Calba *et al.* (1999) for root cell walls of maize ($K_{R_3-Al} = 10^{-2.85}$) and by Dufey *et al.* (1999) for clover roots ($K_{R_3-Al} = 10^{-2.41}$) and for ryegrass roots ($K_{R_3-Al} = 10^{-1.95}$). The reason for these differences should be found in differences of exchanger characteristics that influence the stability of Al^{3+} binding to fixed charged groups. As in all plant species, carboxylate groups are mainly responsible for exchange

properties, differences should be found likely in the environment and in the density of these groups in cell walls. For example, Whitehead *et al.* (1979) reported a higher proportion of pectin in clover roots and of hemicellulose in ryegrass. Pectin consists of longer, more organized chains of uronic acids than hemicellulose, which might allow easier and closer association with multivalent cations. We are not aware of such data for bananas, but the low value of K_{R_3-Al} should indicate that the configuration of carboxylate groups in banana roots is particularly adequate for ensuring multiple links with Al. High degree of cross-linking of wall polysaccharides in the presence of Al may affect extensibility and water permeability of cell walls (Horst, 1995; Vázquez *et al.*, 1999). Drastic reduction of water uptake by bananas cultivated in nutrient solutions with Al (Chapter 1) might be explained, at least partially, by such structural changes. These results support the hypothesis that the root apoplast is the site of Al toxicity, although results obtained in some studies led other authors to consider more strongly the possibility of symplasmic location for Al toxicity [see review by Kochian (1995)]. Dissociation constants of surface Al complexes were also proposed for plasma membranes by Kinraide *et al.* (1992) and Kinraide (1994). These authors found smaller values ($10^{-4.23}$ and $10^{-3.18}$ respectively) than those reported above. This can be explained by differences in the type of charged fixed groups, namely phospholipid head groups for plasma membranes and carboxylate for cell walls, and the form of surface complexes considered.

The question of specific fixation of hydroxy-Al ions on root exchange sites cannot be definitely settled because Al-forms cannot be distinguished by experimental procedures and models are very poor tools for establishing detailed physico-chemical mechanisms. Calba *et al.* (1999) found that considering surface complexes with $Al(OH)^{2+}$ improved the agreement of model calculations with measured exchangeable Al on maize root cell walls. No such association was needed to fit our previous data on ryegrass and clover roots (Genon, 1998; Dufey *et al.*, 1999). Also in the present study, introducing possible hydroxy-Al complexes did not improve the fitting and intrinsic dissociation constant of 10^6 were used for $R-Al(OH)_2$ and $R_2-Al(OH)$ complexes. The $Al(OH)^{2+}$ and $Al(OH)_2^+$ cations were then mostly adsorbed in the Donnan free space according to Eq. [4.1]; their activity in bulk solution was calculated by routine chemical speciation. Anyway the contribution of these forms to Al adsorption should be very low because Al^{3+} activity was much higher than $Al(OH)^{2+}$ and $Al(OH)_2^+$ activities in the pH range of this study.

A constant Donnan volume of 4 dm³ kg⁻¹ was used in all calculations even though this parameter might be allowed to vary with the solution composition. Indeed the distance of influence of charged groups on the electrolytic environment depends on

the exchanger charge density and on the composition of bulk solution (mainly on ionic strength). Empirical relationships between the Donnan volume and ionic strength were proposed by Kinniburgh *et al.* (1996) for humic acids, and by Plette *et al.* (1995) for bacterial cell walls. In the WHAM model for chemical speciation of waters containing humic and fulvic acids, Tipping (1994) developed a sophisticated submodel to calculate the Donnan volume from the Debye length in a spherical geometry. Genon (1998) found that changing values of the Donnan volume according to ionic strength gave better fittings of experimental data for H-Ca-Al adsorption on clover and ryegrass roots. However, the reliability of variable values of the Donnan volume is depending on the confidence that can be attributed to the other regression parameters, namely the intrinsic dissociation constants. Good fitting of the Donnan volume also supposes that a wide range of ionic strength should be covered by experimental data. Being those limitations, we used a fixed Donnan volume as also done by Sentenac and Grignon (1981) and by Calba *et al.* (1999).

Figure 4.4 compares experimental and calculated values of adsorbed Ca, K, Mg, and Al in the most complete system of this study (solutions IV in Table 4.1). Let us recall that only one set of parameters was used for all cases, independently of cultivars and pH. Good simulations were obtained for adsorbed Mg and Al. The calculated values for adsorbed Ca were a little smaller than the experimental ones. Fitting might be improved by decreasing K_{R_2-Ca} but we preferred to keep the value given by Sentenac and Grignon (1981) that was found reliable for predicting adsorbed Ca on banana roots in simple H-Ca solutions. Calculated adsorbed K was in the range 0.8 to 1.4 $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$ whereas experimental values were in the range 0.9 to 3.0 $\text{cmol}_c \text{ kg}^{-1}$.

As the absence of specific K association with $-\text{COO}^-$ groups is well established in literature, the reason for these differences might be the consequence of maintaining a constant value of the Donnan volume in which adsorbed K is confined. Anyway, the contribution of K to exchangeable cations in roots is low and should not be of prime importance in studies on the competition with Al. Equilibria including Al, Ca, Mg, and protons are more crucial to understand the possible contribution of physico-chemical processes in root apoplast to Al toxicity. Among these cations, Mg was confirmed to form only little association with fixed charged groups. Therefore, when Al is present in bulk solution, Al loading on roots occurs mainly to the detriment of Mg. This corroborates the Mg deficiencies observed in previous studies on bananas grown in nutrient solutions with Al (Chapter 2).

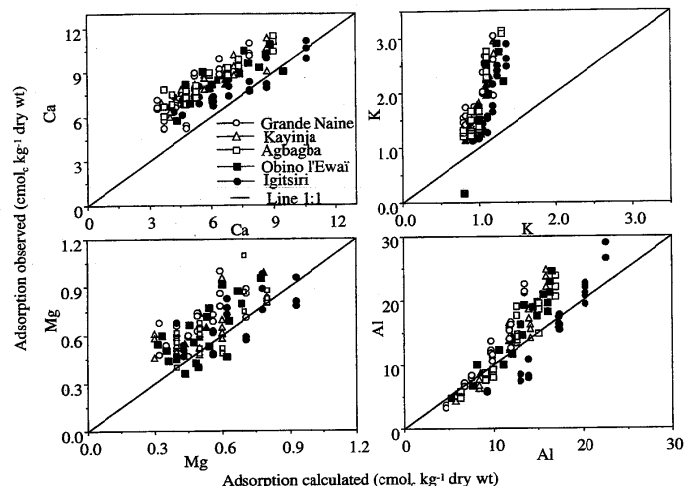


Figure 4.4. Comparison between experimental and calculated values of adsorbed Ca, K, Mg, and Al on the roots of 5 banana cultivars. Data from solutions IV of Table 4.1.

4.4. Conclusion

Aluminium is very efficient in competing with other cations for root exchange sites despite the low Al concentrations usually found in soil solutions. Still it remains to be clarified what the contribution is of such physico-chemical processes to Al toxicity. Horst (1995) noticed that little information is available so far on the physical, physiological and biochemical changes in the cell walls induced by Al. And more generally, the role of the composition of the fixed phase of the apoplast on nutrient uptake is not yet well understood. This paper strengthens previous studies showing that mathematical models are reliable for quantitative description of cation exchange equilibria on roots including Al. They should be integrated in more general models on soil-root interactions as recently attempted by Calba *et al.* (1999).

Acknowledgements

This work was supported by the EU contract INCO-DC CEE CT 970208 and by the research programme N°2.4595.98 of the Belgian *Fonds de la Recherche Fondamentale et Collective* (FNRS-FRFC). We thank Ir. Inès van den Houwe of the INIBAP Transit Centre at the Katholieke Universiteit Leuven for advices and services during the *in vitro* culture phase of bananas, Patrick Populaire and Anne Iserentant for their technical support during the experiments and for the chemical analyses.

5

Mobilisation de l'aluminium de minéraux argileux par les racines de bananiers⁵

Résumé

Une étude récente réalisée en solution nutritive a démontré que les bananiers (Musa spp.) sont sensibles au stress aluminique. Mais, la capacité de ces plantes à mobiliser l'aluminium du sol en fonction des constituants minéraux est peu connue. Dans la présente étude réalisée en deux expériences, la mobilisation de l'aluminium par les racines de bananiers a été étudiée en utilisant la kaolinite et la smectite comme uniques sources d'aluminium pour les plantes, soit en mélange avec l'agarose pour la première expérience, soit en mélange avec le sable pour la deuxième expérience. Les mesures ont été effectuées à la récolte et elles ont porté sur les modifications de pH et des teneurs en aluminium, calcium, magnésium et potassium dans la phase aqueuse ou échangeable des substrats rhizosphériques, et sur la croissance et les teneurs en aluminium, calcium, magnésium et potassium des plantes. La première expérience a montré une baisse de pH rhizosphérique qui a atteint en six semaines 1.6 à 2.2 unités pH dans les 3 premiers mm depuis la surface racinaire. La concentration en aluminium dans les extraits aqueux des substrats a augmenté parallèlement à cette baisse de pH. En présence de kaolinite et de smectite, la teneur en aluminium dans les racines a augmenté alors que les teneurs en calcium et en magnésium ont diminué en fonction du temps de contact entre les racines et les substrats argileux. Dans la deuxième expérience, le pH rhizosphérique a baissé en 12 semaines de 0.9 unité pH pour le sable, 0.5 unité pH pour le mélange sable-kaolinite et 1.9 unité pH pour le mélange sable-smectite. Pendant la même période, l'aluminium extractible a augmenté dans le mélange sable-kaolinite et le magnésium extractible a augmenté dans le mélange sable-smectite. Les teneurs en aluminium dans les racines étaient plus élevées en présence de kaolinite qu'en présence de sable pur et de smectite. D'un autre côté, les racines de bananiers cultivés sur le mélange sable-smectite avaient des teneurs en magnésium plus élevées que les racines des bananiers cultivés sur du sable ou sur le mélange sable-kaolinite. Bien que les teneurs en aluminium étaient relativement élevées surtout dans les racines des bananiers cultivés en présence de kaolinite, aucun symptôme lié à la toxicité aluminique n'a été observé sur les plantes.

⁵ Texte préparé pour la publication avec les auteurs suivants: Gervais RUFYIKIRI, Didier NOOTENS, Joseph E. DUFÉY et Bruno DELVAUX

Par contre, la croissance et la production de biomasse sèche des racines et des parties aériennes avec bulbe étaient plus élevées chez les bananiers cultivés sur le mélange sable-smectite que chez les bananiers cultivés sur du sable et sur le mélange sable-kaolinite. Ces résultats ont donc montré que l'aluminium et d'autres cations peuvent être libérés par l'altération des minéraux argileux induite par l'activité des racines de bananiers et que leur concentration peut augmenter dans la phase aqueuse et sur le complexe d'échange en fonction de la nature des constituants de ces minéraux argileux et du pH du milieu.

5.1. Introduction

La toxicité aluminique connue comme facteur majeur limitant la croissance et la production des plantes cultivées en sols acides (Haynes et Ludecke, 1981; Horst, 1985; Flores *et al.*, 1988; Marschner, 1991) a été mise en évidence très récemment chez des bananiers cultivés en solution nutritive (Chapitres 1 et 2). Nous avons montré que la présence de l'aluminium à une concentration de 78.5 μM causait une réduction de l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs, de la croissance et de la teneur en éléments nutritifs des plantes. Cependant, certains auteurs ont noté que les résultats sur la toxicité aluminique obtenus sur des cultures en solutions nutritives montrent souvent une faible concordance avec les résultats des études réalisées en sols acides (Horst, 1985).

Il est connu que les propriétés chimiques du sol rhizosphérique peuvent différer significativement de celles du sol non rhizosphérique, notamment au niveau du pH (Rollwagen et Zasoski, 1988; Gregory and Hinsinger, 1999), des éléments nutritifs (Kirlaw et Bouldin, 1987) et de la concentration en aluminium extractible (Gahoonia, 1993). Les variations de pH rhizosphérique sont d'une importance particulière étant donné que la solubilisation et la spéciation de l'aluminium du sol sont fortement liées au pH du sol (Lindsay, 1979). Dans le cas de l'excrétion de protons par les racines, la solubilisation de l'aluminium du sol constitue une réaction tampon qui pourrait conduire à une augmentation de l'aluminium échangeable et soluble jusqu'à atteindre des niveaux toxiques pour les plantes. Or, des différences de l'ordre de 2 unités pH entre le sol rhizosphérique et le sol non rhizosphérique ont été observées dans plusieurs études où différentes espèces végétales étaient étudiées (Gahoonia, 1993; Hinsinger et Gilkes, 1995). Des différences de pH atteignant environ 1.5 unité pH ont été aussi observées entre la solution à l'entrée et la solution à la sortie des pots de culture de bananiers (Chapitre 1). De tels changements de pH induits par l'activité des racines des plantes croissantes dépendent de plusieurs facteurs, notamment, de la

forme de la nutrition azotée (Rollwagen et Zasoski, 1988; Gahoonia *et al.*, 1992; Murányi, 1994), du pH initial et du pouvoir tampon du sol (Nye, 1981).

La mobilisation de l'aluminium en conditions acides dépend aussi de la nature des constituants, en particulier de la présence des minéraux 2:1 altérables (Delvaux et Herbillon, 1994). Des informations relatives au prélèvement de l'aluminium des minéraux argileux par les racines de bananiers et aux conditions favorisant ce prélèvement sont donc nécessaires pour évaluer les risques d'intoxication aluminique de ces plantes en fonction de la nature des constituants du sol.

Le présent article rapporte un travail réalisé en deux expériences pour étudier à l'échelle de l'interface argile-racine la capacité de racines de bananiers à acidifier la rhizosphère et à mobiliser ainsi l'aluminium des minéraux argileux, et les conséquences sur la nutrition minérale et la croissance des plantes. Les deux expériences ont été réalisées sur deux types de substrat différents considérés comme des modèles de sol, d'une part, un substrat constitué de gels d'agarose mélangé ou non avec de l'argile pour la première expérience, et d'autre part, un substrat constitué de sable mélangé ou non avec de l'argile pour la deuxième expérience. L'expérience avec des gels d'agarose a été réalisée suivant le dispositif décrit par Hinsinger *et al.* (1992), qui offre l'avantage de pouvoir collecter le matériel rhizosphérique à n'importe quelle distance de la surface racinaire en vue d'effectuer des analyses physico-chimiques. Des gels d'agar et d'agarose ont été utilisés dans d'autres études sur les processus rhizosphériques (Hinsinger *et al.*, 1992; Hinsinger et Jaillard, 1993; Calba *et al.*, 1999). L'agarose a été choisi pour cette expérience parce qu'il est relativement pur, pauvre en éléments minéraux, et donc indiqué dans l'étude de la dynamique des éléments de faible mobilité comme l'aluminium dans la rhizosphère (Calba *et al.*, 1996). Comme les résultats attendus étaient qualitatifs, un seul cultivar suffisait pour fournir les informations recherchées dans cette étude. Le cultivar Kayinja a été choisi parce qu'il est très sensible au stress aluminique et il est capable d'accumuler plus d'aluminium dans ses racines que les autres cultivars de bananiers, selon nos études antérieures (Chapitres 1 et 2).

La deuxième expérience a été réalisée avec un dispositif qui laissait tout le système racinaire entrer en contact avec les minéraux argileux. Le sable quartzitique, utilisé pour diluer l'argile et pour servir en même temps de support pour la croissance des plantes, convenait dans cette expérience parce que, étant chimiquement inerte, son influence sur les propriétés chimiques de la rhizosphère était négligeable. Etant donné que les expériences précédentes avaient montré que la sensibilité des bananiers différait significativement suivant les cultivars (Chapitres 1 et 2), le

nombre de cultivars utilisés dans cette expérience était de quatre pour pouvoir observer des différences éventuelles entre les cultivars.

Dans les deux expériences, l'utilisation de deux types de minéraux argileux différents au niveau de leur stabilité et de leurs caractères aliques permettait de déterminer l'influence de la nature des constituants des minéraux argileux sur la mobilisation de l'aluminium induite par les racines des plantes. La smectite, un minéral 2:1 facilement altérable, et la kaolinite, un minéral 1:1 relativement stable (Miller, 1965) convenaient dans cette étude.

5.2. Matériel et méthodes

5.2.1. Les minéraux argileux

Deux types d'argile ont été utilisés, d'une part, une smectite, la bentonite du Wyoming (Swy-1), et d'autre part, la kaolinite de Georgia (Kga-1). Leurs caractéristiques chimiques ont été bien détaillées par Van Olphen et Fripiat (1979). Les analyses préliminaires de pH ont montré que cette bentonite était très basique avec un pH d'environ 9.2 (extrait d'une pâte d'un rapport argile:eau de 1:5). Cette argile a été lavée avant son utilisation comme suit: 30 g de smectite ont été mis en équilibre avec 250 mL de solution de $\text{CaCl}_2 \cdot 10^{-1} \text{ M}$ et $\text{CH}_3\text{COOH} \cdot 10^{-3} \text{ M}$. Le mélange était agité pendant 30 min et ensuite centrifugé à 3000 tours par min pendant 5 min et le pH du surnageant était mesuré avant de le jeter. L'opération a été répétée quatre fois jusqu'à l'obtention d'un pH du surnageant d'environ 5. L'argile a été ensuite lavée une fois par 250 mL d'eau déminéralisée pour éliminer l'excès de CaCl_2 et de CH_3COOH . La kaolinite n'a pas subi de traitement préalable étant donné que son pH (rapport argile:eau de 1:5) était d'environ 5.1.

5.2.2. Expérience 1.

Des vitroplants de bananier du cultivar Kayinja ont été utilisés dans cette expérience. Les bananiers ont été cultivés individuellement dans des pots cylindriques suivant le schéma montré à la figure 5.1. Les cylindres utilisés pendant le sevrage étaient munis à la base d'une toile en polyamide de $30 \mu\text{m}$ de porosité dont le rôle était de permettre à la plante la formation d'un tapis racinaire au contact des racines avec cette toile. Les plantes ont été placées dans un bac contenant de la solution nutritive continuellement aérée par une pompe d'aquarium et dont la composition chimique était la suivante, en macroéléments (mM): 1 Ca (0.7 en $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0.15 en CaSO_4 et

0.15 en CaCl_2 , 1 K (0.5 en KCl et 0.5 en K_2SO_4), 0.1 Mg (0.05 en MgCl_2 et 0.05 en MgSO_4), 0.6 N- NH_4 (0.3 en NH_4Cl et 0.3 en $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), 0.05 P (NaH_2PO_4) et en microéléments (μM): 80 Fe (Fe-EDTA-Na), 80 B (H_3BO_3), 8 Mn (MnCl_2), 0.8 Zn (ZnSO_4), 0.8 Cu (CuSO_4), 5.6 Mo ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$). Cette composition a été déterminée suivant les mêmes critères décrits dans le Chapitre 1. Le pH de cette solution nutritive était de 5.1. Cette pré-culture d'une durée de 4 semaines a été menée en phytotron dans des conditions de croissance suivantes: durée jour/nuit de 12/12 heures, température de 24°C , une intensité lumineuse du jour de $448 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ et une humidité relative de 90%. Après cette période de pré-culture, 27 plantules de taille identique ($4.3 \pm 0.2 \text{ cm}$ de haut) ayant bien développé le tapis racinaire ont été sélectionnées pour l'expérience parmi 90 vitroplants sevrés.

Le substrat était constitué de gels d'agarose (Fluka, 05068) seul ou mélangé avec de l'argile, préparés suivant la méthode décrite par Hinsinger *et al.* (1992). Ces gels étaient préparés dans des proportions de 10 g d'agarose par litre de solution nutritive pour le gel d'agarose seul, et dans des proportions de 10 g d'agarose et 10 g d'argile par litre de solution nutritive pour les gels de mélange agarose-argile. Ces mélanges étaient portés à l'ébullition à 120°C pendant environ 30 min, ensuite laissés refroidir, coulés à la température d'environ 40°C dans des pots cylindriques, et laissés solidifier à la température ambiante. Trois traitements ont été constitués par la nature du substrat: agarose, mélange agarose-kaolinite et mélange agarose-smectite, et chaque traitement était répété trois fois. A chaque pot contenant le gel, on superposait l'autre pot supportant la plante tel qu'il était préparé pendant la pré-culture et le tout était placé dans un autre pot plus large que les précédents (Fig. 5.1).

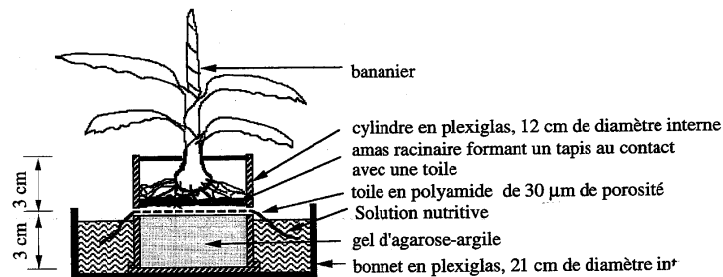


Figure 5.1. Schéma du dispositif expérimental utilisé pour étudier la solubilisation de l'aluminium des argiles smectite et kaolinite par les racines de bananier. Hinsinger *et al.* (1992).

La toile séparant les racines du gel plongeait dans la solution nutritive renouvelée de façon continue par une pompe péristaltique à un débit moyen de 104 mL j⁻¹.

Les plantes ont été récoltées après 1, 3 et 6 semaines d'expérience. Les substrats ont été coupés, à l'aide d'un microtome manuel (Hinsinger *et al.*, 1991), en tranches de 1.5 mm d'épaisseur parallèlement à la surface jusqu'à 10 mm de profondeur. Ces échantillons ont été congelés à -25°C, puis chauffés à 60°C pendant 30 minutes, et ensuite centrifugés à 3000 tour/min pendant 2 min. Le surnageant a été récupéré et analysé pour le pH par un pH-mètre et l'aluminium par spectrophotométrie DCP. Les racines ont été récoltées, séchées à 40°C pendant 1 semaine, pesées et calcinées à 450°C pendant 24 h. Les cendres dissoutes par l'acide HNO₃ concentré ont été analysées pour les cations Ca, Mg et Al par DCP.

5.2.3. Expérience 2.

Quatre cultivars de bananier (Grande Naine, Obino l'Ewai, Kayinja, et Igitsiri) ont été utilisés dans cette expérience. Les vitroplants ont été pré-cultivés dans de petits pots de 5.5 cm de hauteur et 6 cm de diamètre, contenant 0.2 kg (i) de sable quartzeux de granulométrie 0.7 à 1.4 mm lavé à l'acide HCl concentré et rincé plusieurs fois à l'eau déminéralisée, (ii) de mélange sable-kaolinite ou (iii) de mélange sable-smectite, selon le traitement. Les mélanges sable-argile étaient constitués de 30 g d'argile par kg de sable et ils étaient préparés en mélangeant au sable une suspension d'argile préalablement préparée dans des proportions de 30 g d'argile dans 100 mL de la solution nutritive dont la composition est donnée plus haut.

L'alimentation des plantes en eau et en éléments minéraux (en plus de ceux qui pouvaient être fournis par les substrats) a été réalisée par deux arrosages par jour avec 20 mL de solution nutritive. Cette pré-culture a duré 3 semaines en phytotron dans des conditions de lumière, de température et d'humidité identiques à celles de l'expérience 1. Pour chaque cultivar, après cette pré-culture, 12 plantules de taille identique (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100) 6.3, 5.0 et 4.2 cm de haut pour Grande Naine, Obino l'Ewai, Kayinja, (nom commun) ont été sélectionnées parmi 24 vitroplants et plantées dans des pots suivant le schéma montré à la figure 5.2. Chaque pot contenait 1 kg de sable fin de granulométrie 0.2 mm à laquelle était ajoutée 1 kg de 2 kg soit (i) de sable quartzueux, (ii) de mélange 50/50 de sable et de argile sable-smectite suivant le traitement. Chacun de ces pots a été arrosé deux fois par jour.

à la même
permettait et la
cette toile. Adapte de
continuellement
était la suivante,

Les pots étaient alors placés dans des soucoupes remplies de solution nutritive réapprovisionnée une ou deux fois par jour en vue de maintenir une nappe d'environ 3 cm de haut, correspondant à l'épaisseur de la couche de sable fin dans les pots. Deux arrosages par jour étaient aussi effectués par le haut à une dose de 20 mL de solution nutritive, pour éviter le dessèchement de la couche superficielle du substrat. Cette expérience, d'une durée de 12 semaines, a été conduite dans deux logettes en serres dans deux conditions expérimentales différentes au niveau de la température. Une logette réglée à une température jour/nuit de 28/25°C était occupée par Grande Naine et Obino l'Ewai, tandis que l'autre réglée à une température jour/nuit de 24/20°C était occupée par Igitsiri et Kayinja, ceci pour simuler le plus possible les conditions climatiques des régions où poussent habituellement ces cultivars. L'humidité relative variait entre 60 et 90 %. Pendant la journée, une luminosité minimale d'environ $82 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ était assurée par 4 lampes alors qu'un maximum de $820 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ pouvait être atteint selon les conditions météorologiques et l'inclinaison du soleil. Afin d'homogénéiser l'exposition des plantes au rayonnement, une rotation des bananiers était effectuée tous les deux jours.

A la récolte, la hauteur des plantes a été mesurée avant de les séparer du substrat de croissance. Les racines nettoyées à l'eau déminéralisée et les parties aériennes (comprenant aussi le bulbe) ont été séchées séparément à 40°C pendant 1 semaine, pesées et ensuite broyées. L'analyse de la composition minérale a été effectuée après la calcination à 450°C pendant 24 heures suivie de l'extraction des cendres par l'acide HNO₃ concentré. Les éléments étaient analysés par DCP pour les cations Ca, Mg et Al, et par spectrométrie d'absorption atomique pour le potassium.

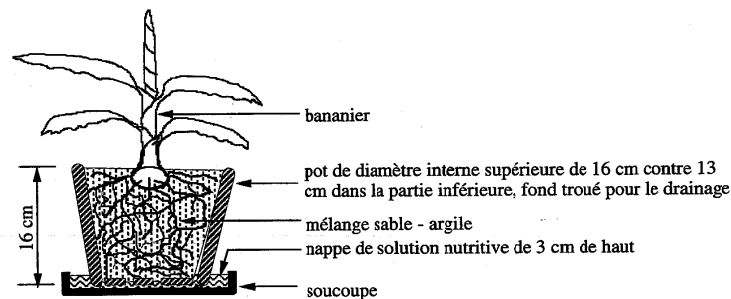


Figure 5.2. Schéma du dispositif expérimental utilisé dans l'étude de la mobilisation de l'aluminium des argiles smectite et kaolinite par les racines de bananiers.

Le sol au voisinage des racines dit rhizosphérique a été séparé du sol non-rhizosphérique comme suit: en secouant doucement les plantes, la portion de sol qui restait accrochée aux racines était collectée comme sol rhizosphérique, le reste étant alors qualifié de sol non-rhizosphérique. Le pH de ces sols a été mesuré en mélangeant 8 mL d'eau déminéralisée avec 55 g de substrat, ce qui correspondait à un rapport argile:eau d'environ 1:5. Le mélange agité pendant une heure était centrifugé à 3000 tours par min pendant 5 min et le pH était mesuré dans le surnageant. L'extraction des éléments Ca, Mg, K et Al a été effectuée en utilisant le chlorure d'ammonium 1 M (NH_4Cl) (Schuman et Duncan, 1990).

Les éléments ont été analysés par DCP pour les éléments Ca, Mg et Al et par spectrométrie d'absorption atomique pour le potassium. Les mesures de pH et les analyses d'éléments minéraux effectuées sur des échantillons de substrats récoltés à la fin de l'expérience ont été également effectuées sur des échantillons des mêmes substrats avant l'expérience (temps zéro). Pour bien observer l'effet du type d'argile, les valeurs correspondant aux substrats sable-kaolinite et sable-smectite ont été exprimées par rapport aux minéraux argileux purs.

L'analyse statistique des données a été réalisée par l'analyse de la variance (ANOVA). Les différences étaient reconnues significatives si $P \leq 0.05$ et le classement des moyennes significativement différentes a été déterminé par la méthode de Scheffé (SAS, 1985).

5.3. Résultats et discussion

5.3.1. Expérience 1

Acidification de la rhizosphère. La figure 5.3 présente les valeurs de pH en fonction de la distance depuis la surface de contact des racines avec le substrat jusqu'à 9 mm de profondeur. Le pH initial dans les extraits aqueux était d'environ 5.5 pour l'agarose pur, 6 pour le gel agarose-kaolinite et 6.5 pour le gel agarose-smectite. Après une semaine d'expérience, une diminution de pH détectable depuis la surface jusqu'à environ 6 mm pour le gel agarose-kaolinite et 9 mm pour l'agarose pur et le gel agarose-smectite a été observée. L'écart entre ce pH mesuré après une semaine et le pH initial décroissait avec l'éloignement de la surface de contact entre les racines et le substrat. L'acidification a continué dans les semaines suivantes, dans les couches de plus en plus éloignées de la surface de contact. La baisse de pH la plus élevée, de 2.2 unités pH, a été observée dans les 3 premiers mm du gel agarose-smectite après 6 semaines d'expérience.

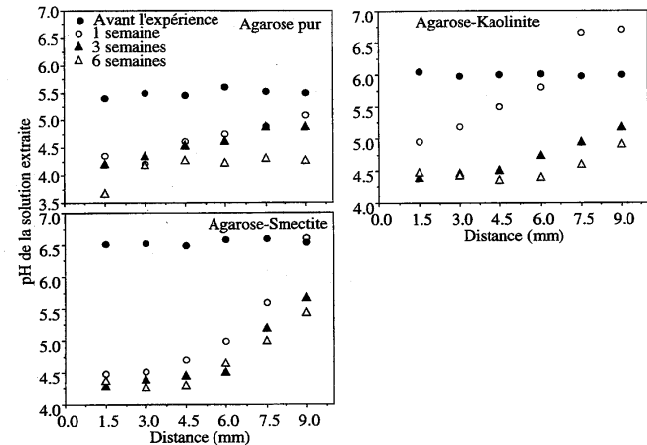


Figure 5.3. pH de la solution extraite des gels d'agarose mélangé ou non avec des argiles smectite et kaolinite en fonction de la distance par rapport à la surface de contact entre les racines de bananiers et les gels d'agarose.

Solubilisation de l'aluminium. La teneur en aluminium dans les extraits aqueux des substrats est présentée en fonction de la distance depuis la surface de contact des racines avec le substrat jusqu'à 9 mm de profondeur (Fig. 5.4). La concentration en aluminium dans la phase aqueuse du gel agarose pur était négligeable avant et durant toute l'expérience. Pour les gels agarose-kaolinite et agarose-smectite, la concentration initiale en aluminium dans la phase aqueuse était faible. Une augmentation importante de cette concentration a été observée dès la première semaine d'expérience sur une distance d'environ 6.0 mm pour le gel agarose-kaolinite et 7.5 mm pour le gel agarose-smectite et se poursuivait dans les semaines suivantes dans les couches de plus en plus éloignées de la surface de contact entre les racines et les gels, surtout en présence de kaolinite. On note en plus que la concentration en aluminium dans la phase aqueuse était quantitativement plus importante en présence de kaolinite qu'en présence de smectite.

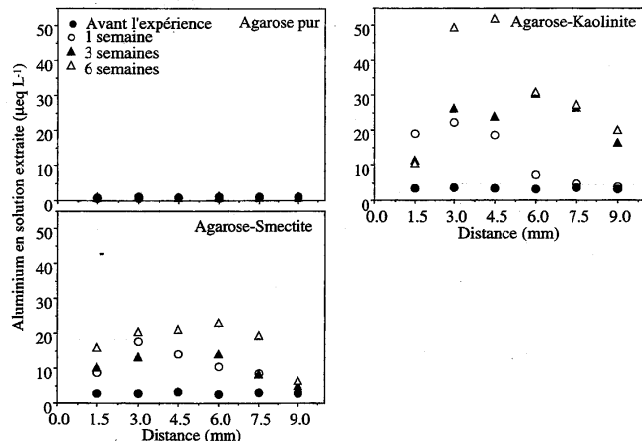


Figure 5.4. Aluminium dans la solution extraite des gels d'agarose mélangé ou non avec des argiles smectite et kaolinite en fonction de la distance par rapport à la surface de contact entre les racines de bananiers et les gels d'agarose.

Teneur en cations Al, Ca et Mg dans les racines. La figure 5.5 présente la teneur en cations Al, Ca et Mg dans les racines en fonction du temps de contact avec les substrats. En présence d'agarose pur, la teneur en aluminium dans les racines était négligeable et n'a pas varié dans le temps. Par contre, en présence de smectite et de kaolinite dans les substrats, la teneur en aluminium dans les racines était importante dès la première semaine et augmentait ensuite avec le temps. Les différences des teneurs en aluminium en présence de smectite et de kaolinite étaient significatives uniquement dans les racines récoltées après 6 semaines d'expérience, où la teneur était environ 1.5 fois plus élevée dans les racines en présence de kaolinite qu'en présence de smectite. Pour le calcium et le magnésium, leurs teneurs dans les racines étaient presque constantes dans le temps pour le substrat agarose pur, alors qu'une forte diminution a été observée en fonction du temps pour les gels agarose-kaolinite et agarose-smectite. La comparaison entre ces deux gels a montré que les teneurs en calcium et en magnésium étaient significativement plus élevées dans les racines récoltées après une et 3 semaines en présence de smectite qu'en présence de kaolinite. Ces différences n'ont pas été observées dans les racines récoltées après 6 semaines.

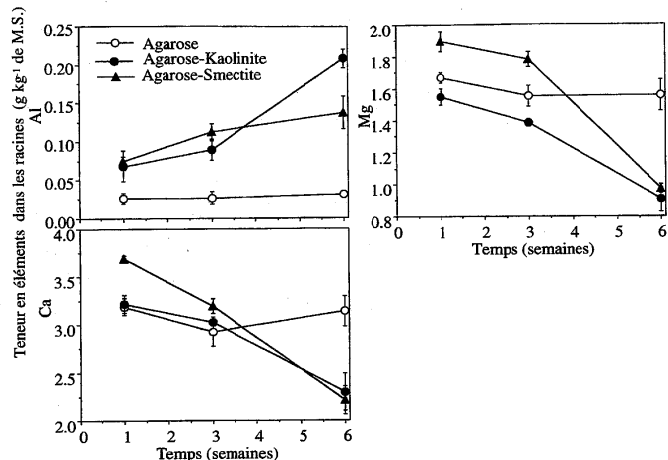


Figure 5.5. Teneurs en cations Al, Ca et Mg dans les racines des bananiers cultivés sur des gels d'agarose mélangé ou non avec des argiles smectite et kaolinite. Les valeurs sont des moyennes de trois répétitions et les bars représentent les écart-types.

Les résultats sur l'acidification du substrat rhizosphérique par rapport au substrat non rhizosphérique observés dans cette expérience étaient similaires aux résultats obtenus dans d'autres études (Gahoonia, 1993; Murányi *et al.*, 1994; Hinsinger et Gilkes, 1995). Cette acidification résulte de la diffusion de protons excrétés par les racines dans le substrat. Dans cette expérience, la diminution de pH était forte durant la première semaine et les valeurs semblaient se stabiliser à des valeurs de pH comprises entre 4.2 et 4.5. Les valeurs de pH dans cet intervalle étaient proches de l'une des deux constantes de dissociation des protons pour l'agarose, $\text{pK}_1 = 4.24$, l'autre étant $\text{pK}_2 = 5.57$ (Calba, 1996). Il apparaît donc que l'agarose qui est un polysaccharide avec des groupes fonctionnels -OH fonctionnant comme un acide faible a joué un rôle tampon de pH.

Certains auteurs ont montré que cette acidification induit l'altération des minéraux telle que la transformation de mica en vermiculite hydroxy-alumineuse (Hinsinger *et al.*, 1993) et la dissolution de roche phosphatée (Hinsinger et Gilles, 1995). Nos résultats ont aussi montré que, parallèlement à l'acidification des substrats, la teneur en aluminium augmentait dans la phase aqueuse des gels agarose-kaolinite et

agarose-smectite. Ces résultats illustrent bien l'accroissement de la solubilisation de l'aluminium lorsque le pH du sol diminue (Lindsay, 1979; Grauer et Horst, 1990; Kinraide, 1991).

La relation entre la concentration en aluminium dans les solutions extraites des substrats et le pH de ces solutions est montrée à la figure 5.6, en comparaison avec deux courbes théoriques données par les équations suivantes:

$$\log \text{Al}^{3+} = 8.04 - 3 \text{ pH} \quad [\text{Eq. 5.1}]$$

$$\log \text{Al}^{3+} = 6.73 - 3 \text{ pH} \quad [\text{Eq. 5.2}]$$

utilisées pour estimer l'activité des ions Al^{3+} dans la solution des horizons minéraux des sols où dominent la gibbsite et la kaolinite, respectivement, comme minéraux qui contrôlent l'activité des ions Al^{3+} (Lindsay, 1979). L'équation [Eq. 5.2] a été obtenue en supposant que l'activité des silicates H_4SiO_4 est contrôlée par le quartz (SiO_2).

Les courbes de $\log \text{Al}^{3+}$ variaient linéairement avec le pH, mais les points expérimentaux sortaient du domaine attendu pour l'aluminium ionique, sauf pour les valeurs de pH voisines de 4.5 où les points correspondant à la concentration en aluminium dans les extraits aqueux étaient distribués au tour de la courbe donnée par l'équation théorique [Eq. 5.1]. Pour les valeurs de pH supérieures à 4.5, la concentration en aluminium dans les solutions extraites était supérieure aux valeurs données par les deux équations théoriques.

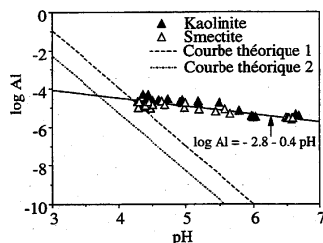


Figure 5.6. Relation entre le pH et l'aluminium soluble (exprimé en terme de $\log \text{Al}$) dans la phase aqueuse des gels d'agarose mélangé avec les argiles kaolinite et smectite, en comparaison avec deux courbes théoriques d'activité des ions Al^{3+} en fonction du pH, $\log \text{Al}^{3+} = 8.04 - 3 \text{ pH}$ (Courbe théorique 1) et $\log \text{Al}^{3+} = 6.73 - 3 \text{ pH}$ (Courbe théorique 2). Les données sont celles montrées aux figures 5.3 et 5.4.

Ces résultats pourraient être interprétés en se basant sur les différentes formes d'aluminium pouvant être présentes dans ces solutions. L'aluminium mesuré aux environs de pH 4.5 serait principalement constitué par l'aluminium ionique dont la concentration obéit effectivement à la loi thermodynamique de solubilité de l'aluminium en condition acide. Dans les conditions de pH supérieur à 4.5, les formes ioniques d'aluminium diminuent fortement avec l'augmentation de pH et l'aluminium mesuré dans ces conditions serait présent essentiellement sous forme de complexes avec les substances organiques, principalement les anions d'acides organiques excrétés par les racines. Certains auteurs ont montré que les racines des plantes excrétaient des anions organiques tels que le citrate (Pellet *et al.*, 1996), le malate (Ryan *et al.*, 1995), le pyruvate (Larsen *et al.*, 1998) et l'oxalate (Zheng *et al.*, 1998) et que ces anions sont des ligands forts capables de former des complexes relativement stables avec l'aluminium.

Il importe aussi de noter qu'il est probable que l'aluminium total solubilisé soit supérieur à l'aluminium mesuré dans les solutions extraites, car toutes les formes d'aluminium n'ont pas été analysées. Une partie de l'aluminium solubilisé serait adsorbée sur les chaînes d'agarose. L'agarose a été présenté dans les travaux de Calba *et al.* (1996) comme un échangeur à charge variable avec une affinité relativement élevée pour l'aluminium, représentée par une constante de dissociation intrinsèque $K_{\text{Al}^{3+}}$ de $2.1 \cdot 10^{-4}$. Une autre fraction de l'aluminium se trouverait adsorbée sur le complexe d'échange des argiles. Toutes ces données manquantes rendent impossible la comparaison entre les quantités d'aluminium total mobilisées en présence de smectite et de kaolinite.

L'augmentation dans le temps de la teneur en aluminium dans les racines des plantes mises en contact avec les gels agarose-kaolinite et agarose-smectite (Fig. 5.5) a montré qu'une partie de l'aluminium relâché des minéraux argileux était absorbée par les plantes. Cependant, les teneurs en aluminium étaient restées très faibles par rapport aux résultats montrés dans nos précédents papiers (Chapitres 2 et 3) ou obtenus sur les plantes des autres espèces (Mugwira et Elgawhary, 1979; Adamo *et al.*, 1998; Godbold et Jentschke, 1998). Dans cette expérience, la zone d'absorption de cet élément dont les seules sources étaient les substrats était constituée d'une surface plane unidimensionnelle des portions de racines en contact avec ces substrats, ce qui limitait fortement son prélèvement par les racines. Sa concentration était probablement très élevée dans les parties des racines en contact direct avec les substrats argileux, alors que l'analyse de la teneur en aluminium était faite sur le système racinaire entier, ce qui aurait produit un effet de dilution. En effet, plusieurs auteurs ont noté que l'aluminium se lie fortement aux charges négatives des parois

cellulaires (Rengel et Robinson, 1989; Horst, 1995) et de récentes observations à la microscopie électronique à balayage ont montré dans plusieurs cas que l'aluminium était essentiellement localisé dans les parois des cellules corticales des racines (Marienfeld *et al.*, 1995; Adamo *et al.*, 1998). Ces résultats démontraient la mobilité très limitée de l'aluminium dans les tissus de la plupart des plantes, comme nous l'avons déjà mentionné au Chapitre 2. Par conséquent, nos résultats étaient qualitatifs et ne pouvaient pas être comparés à ceux qui ont été obtenus dans des expériences dans lesquelles tout le système racinaire était entièrement en contact avec les sources d'éléments minéraux.

Malgré cette faible concentration de l'aluminium par rapport à l'ensemble du système racinaire, son augmentation dans les racines a provoqué une diminution significative des teneurs en calcium et en magnésium dans les racines qui reposaient sur les substrats agarose-kaolinite et agarose-smectite. Ces résultats sont en accord avec ceux qui ont été obtenus dans d'autres études qui ont montré l'effet dépressif de l'aluminium sur l'absorption de ces cations par les plantes y compris les bananiers (Chapitre 2; Rengel, 1990; Tan *et al.*, 1992; Godbold et Jentschke, 1998).

5.3.2. Expérience 2

Croissance des plantes. La croissance en hauteur des bananiers et leur production de biomasse sont montrées au tableau 5.1. La comparaison entre les trois traitements pour chaque cultivar a montré que la hauteur du faux-tronc et la production de matière sèche par les racines et les parties aériennes étaient significativement plus élevées chez les bananiers cultivés sur le mélange sable-smectite que chez les bananiers cultivés sur les substrats sable et mélange sable-kaolinite. Ces deux derniers substrats n'ont pas montré de différences significatives sur les paramètres de croissance étudiés. Des différences significatives ont été observées entre les cultivars en fonction du paramètre de croissance des plantes considéré. Par exemple, le cultivar Obino l'Ewaï montrait une croissance en hauteur plus élevée que les autres cultivars, alors que la production de matière sèche par les racines et les parties aériennes était plus élevée chez le cultivar Grande Naine que chez les autres cultivars.

Tableau 5.1. Production de biomasse par les racines et les parties aériennes des bananiers cultivés sur trois types de substrats. Les valeurs sont des moyennes $\pm$ Ecart-types de 4 répétitions. Au sein d'une même colonne et pour chaque paramètre, les différences significatives entre les moyennes sont indiquées par des lettres minuscules différentes, et au sein d'une même ligne, les différences significatives entre les moyennes sont indiquées par des lettres majuscules différentes ($P \leq 0.05$)

Substrats	Production de biomasse par cultivar			
	Grande Naine	Obino l'Ewaï	Igitsiri	Kayinja
<i>Hauteur (cm)</i>				
Sable	12.5 $\pm$ 0.9 bB	16.9 $\pm$ 1.0 bA	9.4 $\pm$ 1.3 bC	10.3 $\pm$ 0.5 bC
Sable-Kaolinite	11.8 $\pm$ 1.0 bB	16.0 $\pm$ 1.2 bA	10.3 $\pm$ 0.7 bC	10.4 $\pm$ 0.5 bC
Sable-Smectite	15.5 $\pm$ 1.2 aB	19.0 $\pm$ 1.1 aA	13.5 $\pm$ 0.7 aC	11.8 $\pm$ 1.1 aC
<i>Matière sèche des racines (g/plante)</i>				
Sable	8.3 $\pm$ 0.7 bA	7.5 $\pm$ 0.8 abAB	6.3 $\pm$ 0.2 bC	7.3 $\pm$ 0.5 cB
Sable-Kaolinite	8.7 $\pm$ 0.6 abA	7.3 $\pm$ 0.6 bB	6.4 $\pm$ 0.4 abB	8.2 $\pm$ 0.4 bA
Sable-Smectite	9.5 $\pm$ 0.5 aA	8.4 $\pm$ 0.7 aB	7.1 $\pm$ 0.8 aC	9.1 $\pm$ 0.3 aAB
<i>Matière sèche des parties aériennes (y compris le bulbe) (g/plante)</i>				
Sable	11.7 $\pm$ 0.5 bA	10.0 $\pm$ 0.8 bB	7.6 $\pm$ 0.7 bC	9.3 $\pm$ 0.8 bB
Sable-Kaolinite	11.3 $\pm$ 0.9 bA	10.2 $\pm$ 1.0 bAB	7.8 $\pm$ 0.2 bC	9.7 $\pm$ 0.6 bB
Sable-Smectite	15.2 $\pm$ 0.6 aA	12.3 $\pm$ 1.1 aB	9.3 $\pm$ 0.3 aC	11.1 $\pm$ 0.6 aB

Composition minérale des plantes. Le tableau 5.2 montre les teneurs en cations Al, Ca, Mg et K dans les racines et dans les parties aériennes. Ce tableau montre que l'aluminium était accumulé essentiellement dans les racines et que sa translocation vers les parties aériennes était très faible. Pour chaque cultivar, les teneurs en aluminium les plus élevées étaient observées dans les racines des bananiers cultivés sur le mélange sable-kaolinite. Le cultivar Kayinja s'est démarqué des autres cultivars par les teneurs les plus élevées dans les racines et dans les parties aériennes lorsqu'il était cultivé sur le mélange sable-kaolinite. Il apparaît aussi que le calcium était plus concentré dans les parties aériennes que dans les racines, contrairement à ce qui a été observé pour le magnésium et le potassium. L'influence de la nature du substrat a été observée sur les teneurs de ces trois éléments, et plus particulièrement pour le magnésium. Alors que les teneurs étaient du même ordre de grandeur chez les bananiers cultivés sur le sable et sur le mélange sable-kaolinite, une hausse très remarquable de la teneur en magnésium dans les racines et dans les parties aériennes, une hausse de la teneur en calcium uniquement dans les racines et une baisse de la teneur en potassium dans les racines et dans les parties aériennes ont été observées chez les bananiers cultivés sur le mélange sable-smectite par rapport aux deux autres types de substrat.

Tableau 5.2. Teneurs en éléments minéraux (g kg^{-1} de M.S.) dans les racines et dans les parties aériennes et bulbe des bananiers cultivés sur trois types de substrat. Les valeurs sont des moyennes $\pm$ Ecart-types de 4 répétitions. Au sein d'une même colonne et pour chaque cation, les différences significatives entre les moyennes sont indiquées par des lettres minuscules différentes, et au sein d'une même ligne et pour chaque organe des plantes (racines ou parties aériennes), les différences significatives entre les moyennes sont indiquées par des lettres majuscules différentes ($P \leq 0.05$).

Substrat	Racines			Parties aériennes et bulbe		
	Grande Naine	Obino l'Ewaï	Igitsiri	Grande Naine	Obino l'Ewaï	Igitsiri
Calcium						
Sable	5.5 $\pm$ 0.8 bA	5.2 $\pm$ 0.5 bA	5.0 $\pm$ 0.9 bA	19.0 $\pm$ 0.7 abA	18.6 $\pm$ 2.1 aA	10.5 $\pm$ 1.1 aB
Sable-Kaolinite	5.0 $\pm$ 1.2 b	4.9 $\pm$ 0.8 BB	5.1 $\pm$ 0.7 BB	16.3 $\pm$ 0.5 bA	15.4 $\pm$ 1.3 bA	9.5 $\pm$ 1.0 BB
Sable-Smectite	7.5 $\pm$ 0.6 aA	6.9 $\pm$ 1.2 aA	7.7 $\pm$ 0.8 aA	20.9 $\pm$ 1.0 aA	17.4 $\pm$ 1.1 aB	10.9 $\pm$ 0.4 aB
Magnésium						
Sable	3.0 $\pm$ 0.1 bB	3.0 $\pm$ 0.4 BB	3.8 $\pm$ 0.2 bA	1.8 $\pm$ 0.2 bA	1.7 $\pm$ 0.1 bA	1.8 $\pm$ 0.2 bA
Sable-Kaolinite	3.1 $\pm$ 0.3 BB	3.7 $\pm$ 0.5 bA	3.8 $\pm$ 0.5 bA	2.0 $\pm$ 0.1 bA	1.8 $\pm$ 0.1 bC	1.9 $\pm$ 0.2 BB
Sable-Smectite	6.0 $\pm$ 0.2 aB	6.5 $\pm$ 0.8 aAB	6.6 $\pm$ 0.2 aA	3.6 $\pm$ 0.3 aB	3.8 $\pm$ 1.0 aAB	4.1 $\pm$ 0.4 aB
Potassium						
Sable	39.4 $\pm$ 2.8 aC	45.9 $\pm$ 4.4 aAB	49.5 $\pm$ 4.6 aA	28.9 $\pm$ 3.7 aB	30.5 $\pm$ 3.8 aAB	38.1 $\pm$ 7.4 aA
Sable-Kaolinite	38.5 $\pm$ 5.3 aB	44.4 $\pm$ 1.9 aA	47.9 $\pm$ 2.4 aA	28.7 $\pm$ 2.1 aB	30.0 $\pm$ 3.9 aB	35.5 $\pm$ 2.2 aA
Sable-Smectite	35.9 $\pm$ 1.1 bB	39.2 $\pm$ 2.0 bA	36.8 $\pm$ 3.8 bAB	26.7 $\pm$ 2.2 bA	29.3 $\pm$ 4.3 aA	28.7 $\pm$ 1.2 bA
Aluminium						
Sable	5.5 $\pm$ 1.4 cA	3.7 $\pm$ 0.8 BB	2.6 $\pm$ 0.2 cC	0.3 $\pm$ 0.1 bA	0.2 $\pm$ 0.1 bA	0.2 $\pm$ 0.1 bA
Sable-Kaolinite	14.3 $\pm$ 5.8 aAB	10.9 $\pm$ 2.8 aC	11.9 $\pm$ 4.4 aBC	0.5 $\pm$ 0.1 aB	0.4 $\pm$ 0.2 aB	0.4 $\pm$ 0.1 aB
Sable-Smectite	9.2 $\pm$ 0.7 bA	9.8 $\pm$ 1.1 aA	8.5 $\pm$ 1.7 bA	0.3 $\pm$ 0.2 bAB	0.3 $\pm$ 0.1 bAB	0.2 $\pm$ 0.1 bB

Le pH. La figure 5.7 compare le pH rhizosphérique au pH non-rhizosphérique. Il se dégage de cette figure que les valeurs de pH rhizosphérique et de pH non-rhizosphérique mesurées sur les extraits des substrats après 12 semaines de croissance des bananiers étaient similaires au sein de chaque substrat. Cette similitude entre les valeurs de pH était sans doute liée à un développement important des racines dans les pots à tel point que tout le substrat pouvait être assimilé à un substrat rhizosphérique. Dans la suite de ce texte aucune distinction ne sera plus faite entre substrat rhizosphérique et substrat non-rhizosphérique. Les valeurs moyennes de pH des substrats sont présentées pour chaque cultivar au tableau 5.3. Par rapport au temps zéro (avant l'expérience), une baisse de pH a été remarquée dans tous les substrats.

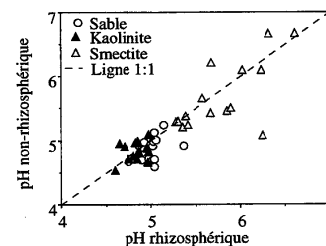


Figure 5.7. Relation entre le pH rhizosphérique et le pH non-rhizosphérique des substrats constitués de sable, de mélange sable-kaolinite et de mélange sable-smectite utilisés dans l'expérience comme support de croissance et comme source d'aluminium pour les bananiers.

Tableau 5.3. pH des substrats avant et après 12 semaines de croissance des bananiers. Les valeurs sont des moyennes $\pm$ Ecart-types de 4 répétitions. Au sein d'une même colonne, les différences significatives des moyennes sont indiquées par des lettres minuscules différentes, et au sein d'une même ligne, les différences significatives des moyennes sont indiquées par des lettres majuscules différentes ($P \leq 0.05$).

Temps	Cultivars	Substrats		
		Sable	Sable-Kaolinite	Sable-Smectite
Avant l'expérience		5.8 $\pm$ 0.2 aB	5.3 $\pm$ 0.1 aC	7.3 $\pm$ 0.2 aA
Après 12 semaines d'expérience	Grande Naine	5.0 $\pm$ 0.1 bB	4.9 $\pm$ 0.1 bB	5.4 $\pm$ 0.2 cA
	Obino l'Ewaï	4.9 $\pm$ 0.1 bB	4.8 $\pm$ 0.2 bB	5.4 $\pm$ 0.1 cA
	Igitsiri	5.0 $\pm$ 0.1 bB	4.8 $\pm$ 0.1 bB	6.1 $\pm$ 0.4 bA
	Kayinja	5.1 $\pm$ 0.2 bB	4.9 $\pm$ 0.1 bB	6.1 $\pm$ 0.2 bA

A la fin de l'expérience, les valeurs de pH du sable et du mélange sable-kaolinite étaient identiques et étaient significativement inférieures aux valeurs de pH du mélange sable-smectite. L'influence du cultivar n'était apparue que dans le substrat sable-smectite où les cultivars Igitsiri et Kayinja avaient induit une acidification moins marquée que les cultivars Grande Naine et Obino l'Ewaï.

Les cations extractibles. Les résultats de l'extraction des éléments Ca, Mg, K et Al des argiles sont donnés au tableau 5.4. Les analyses effectuées à la fin de l'expérience n'ont pas montré de différences significatives entre les cultivars. Ainsi, pour des raisons de simplification et de clarté du tableau, les valeurs présentées dans ce tableau 5.4 sont des moyennes des données des 4 cultivars pour chaque substrat.

Les quantités extraites du sable étaient négligeables au temps zéro et après 12 semaines d'expérience pour tous les cations. Dans les deux autres substrats, la quantité d'aluminium extractible était plus élevée en présence de la kaolinite qu'en présence de la smectite. Avec ce dernier substrat, l'aluminium extractible était négligeable même après les 12 semaines d'expérience. On note aussi une augmentation de l'aluminium extractible entre le début et la fin de l'expérience en présence de la kaolinite. Le calcium et le magnésium ont été extraits en quantité plus importante dans le mélange sable-smectite que dans le mélange sable-kaolinite à la fois au temps zéro et après 12 semaines d'expérience. L'évolution dans le temps du mélange sable-kaolinite a été marquée par une diminution du magnésium extractible. Par contre, le mélange sable-smectite a été marqué par une diminution du calcium extractible et surtout par une augmentation du magnésium extractible entre le début et la fin de l'expérience. Le potassium extractible a diminué du début à la fin de l'expérience. On note également que les quantités extraites étaient similaires dans les deux substrats.

Cette expérience a montré que des protons ont été excrétés par les racines de bananiers et ont diffusé dans les substrats. Les valeurs de pH en fin d'expérience, plus basses dans les extraits du sable et du mélange sable-kaolinite que dans les extraits du mélange sable-smectite, étaient liées à la situation de départ et aux pouvoirs tampons différents des trois substrats. Par rapport aux valeurs de pH de départ, l'augmentation de l'activité en protons était similaire pour les substrats sable et sable-kaolinite mais élevée par rapport au substrat sable-smectite, mettant ainsi en évidence le pouvoir tampon élevé de la smectite par rapport à la kaolinite et au sable. De telles différences de changement de pH du substrat rhizosphérique associées à son pouvoir tampon ont été aussi observées dans les travaux de Nye (1981) et de Rollwagen et Zasoski (1988).

Tableau 5.4. Extraction des éléments Ca, Mg, K et Al des argiles par le chlorure d'ammonium 1 M. Les valeurs représentent des moyennes $\pm$ Ecart-types de 4 répétitions pour les données obtenues avant l'expérience (Temps zéro) et de 16 valeurs pour les données obtenues à la fin de l'expérience (Après 12 semaines d'expérience). Au sein d'une même colonne et à chaque temps d'analyse, les différences significatives des moyennes sont indiquées par des lettres différentes ($P \leq 0.05$).

Substrat	Unités	Eléments minéraux extractibles			
		Ca	Mg	K	Al
Temps zéro					
Sable	cmol _c kg ⁻¹ sable	0.20 ± 0.01 c	0.03 ± 0.00 c	0.04 ± 0.00 b	0.03 ± 0.01 b
Sable-Kaolinite	cmol _c kg ⁻¹ argile	1.62 ± 0.92 b	0.97 ± 0.16 b	0.55 ± 0.10 a	0.33 ± 0.12 a
Sable-Smectite	cmol _c kg ⁻¹ argile	72.5 ± 1.50 a	1.30 ± 0.21 a	0.61 ± 0.06 a	0.00 ± 0.01 c
Après 12 semaines d'expérience					
Sable	cmol _c kg ⁻¹ sable	0.20 ± 0.00 c	0.02 ± 0.00 c	0.04 ± 0.00 b	0.03 ± 0.00 b
Sable-Kaolinite	cmol _c kg ⁻¹ argile	2.55 ± 0.80 b	0.37 ± 0.20 b	0.21 ± 0.06 a	0.98 ± 0.16 a
Sable-Smectite	cmol _c kg ⁻¹ argile	66.9 ± 3.30 a	2.80 ± 0.85 a	0.14 ± 0.05 a	0.02 ± 0.04 b

L'adsorption des protons sur les substrats a causé une altération des minéraux qui a été mise en évidence dans l'extraction des cations des substrats, par l'augmentation du magnésium extractible chez la smectite et de l'aluminium extractible chez la kaolinite. En présence de smectite, les protons excrétés par les racines ont été adsorbés par l'échange contre les cations adsorbés (principalement le calcium) sur le complexe d'échange cationique et par la pénétration des protons adsorbés dans le cristal pour déplacer les cations de la couche octaédrique (Mg²⁺, Al³⁺, etc.). Les ions Mg²⁺ étaient plus faciles à déplacer que les ions Al³⁺ parce que les liaisons Mg-O ont une force électrostatique plus faible que les liaisons Al-O (Barshad et Foscolos 1970; Shainberg *et al.*, 1974). Vu la Réserve Totale en Base (TRB) de cette smectite (Van Olphen et Fripiat, 1979), les protons consommés libéraient du magnésium, et on était encore loin de la phase de libération proportionnellement importante d'aluminium. Cette libération du magnésium des feuillettes de la smectite est un des processus d'altération par laquelle les smectites de hautes charges sont transformées en smectites de basses charges, en accord avec les observations de Righi *et al.* (1997).

L'aluminium libéré parallèlement au magnésium a dû précipiter dans les conditions de pH de ce substrat compris entre 5.4 et 6.1 (Tableau 5.3) et il occupait alors une faible proportion de la capacité d'échange cationique effective (CECE). Pour la kaolinite, même si elle est plus stable que la smectite, la moindre consommation de protons libérait de l'aluminium qui pouvait être adsorbé sur le complexe d'échange de

cette argile ou rester dans la phase aqueuse puisque les valeurs de pH étaient relativement basses (Tableau 5.3) pour éviter sa précipitation immédiate.

Une partie des éléments libérés par l'altération des minéraux a été absorbée par les plantes comme l'ont montré les teneurs élevées en aluminium dans les racines des bananiers cultivés sur le mélange sable-kaolinite et en magnésium dans les racines et les parties aériennes (et bulbe) des bananiers cultivés sur le mélange sable-smectite. Bien que dans ce substrat sable-smectite le pH soit resté élevé (≥ 5.4), se situant dans les zones de solubilité presque nulle de l'aluminium selon les diagrammes de solubilité de l'aluminium (Lindsay, 1979), une quantité importante d'aluminium a été absorbée par les plantes. Une situation similaire a été rapportée dans notre étude précédente (Chapitre 3) qui a montré que l'aluminium était accumulé en quantité importante dans les racines des bananiers cultivés sur un andosol de pH voisin de 6. Les protons excrétés par les racines de bananiers auraient sans doute solubilisé l'aluminium dans la zone de contact direct entre les racines et les substrats permettant ainsi son absorption. D'autre part, certains auteurs ont attiré l'attention sur le rôle des substances organiques excrétés par les racines des plantes dans la mobilisation des éléments nutritifs de la rhizosphère et dans leur absorption (Jones et Darrah, 1994). Mais pour le cas de l'aluminium, les recherches se sont focalisées principalement sur le rôle de ces substances organiques dans la détoxification de l'aluminium chez les plantes cultivées dans les sols à faible pH (Miyasaka *et al.*, 1991) et non pas sur leur rôle dans l'absorption de cet élément. Dans notre expérience, la mobilisation et l'absorption de l'aluminium dans ces conditions de pH élevé auraient été favorisées en partie par les anions organiques excrétés par les racines dans la rhizosphère.

Cependant, quel que soit le substrat considéré (sable, mélange sable-kaolinite ou mélange sable-smectite), l'aluminium absorbé n'a pas provoqué le développement sur les plantes de symptômes liés à la toxicité aluminique tels qu'ils avaient été observés dans nos expériences précédentes conduites en solutions nutritives (Chapitre 2). Dans cette expérience, l'aluminium aurait été absorbé principalement sous d'autres formes que l'ion Al^{3+} , ion réputé pour sa phytotoxicité (Horst, 1995; Kochian, 1995). Des formes moins phytotoxiques comme $Al(OH)^{2+}$ et $Al(OH)_2^+$ domineraient dans ces gammes de pH compris entre 4.8 et 6.1 (Kinraide, 1991), même si la concentration en aluminium total reste faible dans cette gamme de pH.

La meilleure croissance et la meilleure production de matière sèche par les bananiers cultivés sur le mélange sable-smectite par rapport à ceux cultivés sur du sable et sur le mélange sable-kaolinite pourraient donc s'expliquer par une meilleure alimentation minérale assurée en présence de la smectite. En s'altérant, cette argile a libéré des

éléments minéraux dont certains ont positivement contribué à la nutrition des plantes, spécialement le magnésium, en plus des quantités fournies par la solution nutritive et communes aux trois substrats.

5.4. Conclusion

Les deux expériences ont montré que les racines de bananiers ont excrété des protons qui ont acidifié les substrats rhizosphériques. Cette acidification a induit une altération des minéraux argileux démontrée à la fois par l'augmentation de l'aluminium dans la phase aqueuse des substrats de la première expérience, l'augmentation des cations Al extractible de la kaolinite et Mg extractible de la smectite dans la deuxième expérience, et par les différences entre les substrats au niveau des teneurs en éléments minéraux des plantes dans les deux expériences.

Il apparaît que l'aluminium était libéré dans la phase aqueuse en grande quantité en présence de kaolinite dans les substrats par rapport à la présence de smectite. Cette observation s'expliquait par le fait que tous les protons consommés dans les substrats contenant de la kaolinite libéraient de l'aluminium alors que, dans le cas des substrats contenant de la smectite, la consommation de protons libérait d'abord d'autres cations faciles à déplacer comme le calcium adsorbé sur le complexe d'échange et le magnésium de la couche octaédrique de cette argile. Ces résultats étaient liés à la nature même de la smectite: la bentonite de Wyoming (Swy-1) utilisée dans cette étude est une smectite magnésienne saturée en calcium.

Une partie des éléments libérés a été absorbée par les plantes et les effets de cette absorption ont été observés. D'une part, la première expérience a montré que l'absorption de l'aluminium inhibait l'absorption du calcium et du magnésium. D'autre part, la deuxième expérience a montré que la croissance des bananiers était meilleure en présence de smectite qu'en présence de kaolinite sans doute à cause des quantités importantes de magnésium absorbées par les bananiers. Ce surplus de magnésium absorbé en présence de smectite qu'en présence de kaolinite a été fourni par l'altération de la smectite. Bien que l'aluminium ait été absorbé et accumulé dans les racines en quantités parfois supérieures à celles rencontrées chez les mêmes cultivars étudiés en solutions nutritives, les bananiers n'ont pas manifesté de symptômes de stress aluminique dans cette étude.

Les deux expériences ont donc donné des résultats complémentaires sur le rôle de l'activité des racines de bananiers dans la mobilisation de l'aluminium et d'autres

cations de minéraux argileux en relation avec leurs constituants et ont montré les conséquences de cette mobilisation sur la croissance des plantes. D'autres expériences sur l'étude de la toxicité aluminique dans lesquelles différents types de sols acides seraient utilisés comme seules sources d'aluminium sont donc nécessaires pour mieux comprendre les conditions pédologiques favorisant la toxicité aluminique chez les plantes en général et chez les bananiers en particulier.

Remerciements

Ce travail a été supporté financièrement par le contrat de l'Union Européenne INCO-DC CEE CT 970208 et par le programme de recherche N°2.4595.98 du Fonds de la Recherche Fondamentale et Collective Belge (FNRS-FRFC). Les auteurs remercient Monsieur Patrick Populaire et Madame Anne Iserentant pour leur support technique durant les moments des expériences et des analyses chimiques.

6 Effects of Arbuscular Mycorrhizal fungi on aluminium tolerance of banana⁶

Abstract

Some mycorrhizal plants have shown greater resistance/tolerance to Al toxicity than non-mycorrhizal plants. However, such promising results have not been reported yet on bananas (Musa spp.), although these plants are known to be sensitive to Al stress and despite of the importance of these crops in tropical regions. This study was conducted to determine the effects of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) Glomus intraradices in alleviating Al toxicity for Grande Naine banana cultivar grown in a continuous nutrient flow cultivation system. Micropropagated plants with and without AMF were grown for 40 days in pots filled with sand continuously irrigated with a nutrient solution without Al or completed with 78 μ M Al and 180 μ M Al. Measurements were taken once a week for daily water and nutrient uptake and at harvest for root AMF colonization, biomass production and mineral concentrations of roots and shoots. The Al stress caused a decrease in water and nutrient uptake, biomass production, and Ca and Mg concentrations in roots and shoots, a higher Al content in root than in shoot, as well as an increase in K and P concentrations especially in root. The root AMF colonization, evaluated by the frequency and the intensity parameters was high and non significantly influenced by Al treatments. A positive mycorrhizal effect on plant growth was observed in both Al treatments, but was more pronounced at the highest Al concentration. Benefits of mycorrhizal fungus-banana association included an increase in water and most nutrient uptake, in root and shoot dry weight, in Ca, Mg and P contents, but a decrease in Al concentration in root and shoot as well as a delay in appearance of Al-induced leaf symptoms. These results show that AMF could be effective in alleviating Al toxicity for banana plants.

6.1. Introduction

Aluminium toxicity is a primary factor limiting growth and yield of a vast majority of plants grown in mineral acid soils of tropical and subtropical areas (Horst, 1995; von Uexküll and Mutert, 1995). Numerous studies demonstrated the marked

⁶ Text prepared for publication with the following authors: Gervais Rufyikiri, Stéphane Declerck, Joseph E. Dufey and Bruno Delvaux

depressive effects of soluble Al on water and nutrient uptake, root and shoot growth, and mineral concentrations for different plant species (Keltjens, 1995; Vo Dinh Quang *et al.*, 1996; Costa de Macedo *et al.*, 1997; Godbold and Jentschke, 1998; Voigt *et al.*, 1999) including banana plants (Chapter 1 and 2). Most studies concerning Al toxicity were focused on the mechanisms involved in plant growth inhibition caused by Al excess in the growth medium (Kinraide *et al.*, 1992; Kochian, 1995). Among various hypotheses suggested for the improved plant tolerance to Al toxicity, the increase of Ca, Mg and P concentrations appeared effective by competition of cations with Al for exchange sites on the root cell walls (Dufey *et al.*, 1991) or by complexation of Al by phosphate outside the root or in cortical root cell walls (Mendoza and Borie, 1998). Increasing cation and anion contents can induce a decrease of Al activity at root surface or direct physiological effects on cell membranes (Alva *et al.*, 1986; Kinraide and Parker, 1987).

Studies on Al toxicity and mechanisms of Al resistance/tolerance were to a great extent conducted in artificial conditions such as sand or hydroponic cultivation systems in the absence of any soil micro-organisms. However, in the field, roots of most cultivated plants are associated with micro-organisms which can have a direct or indirect beneficial or detrimental effect on plant growth, development and health. Among the soil microflora, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are those involved in the most widely distributed root symbioses (Smith, 1980) forming association with the majority of vascular plants. The beneficial effects of these obligate symbionts on plant physiology has long been recognized and concerns improved plant growth and mineral acquisition as well as improved plant resistance/tolerance to biotic and abiotic stresses (Smith and Read, 1997). Al-toxicity to plants is one of the major abiotic stress in acid soils. In this respect, some studies indicated a larger resistance/tolerance to Al toxicity in mycorrhizal plants than in non-mycorrhizal ones (Clark and Zeto, 1996; Cumming and Weinstein, 1990). Banana plants have been shown to give positive response to AMF inoculation (Declerck *et al.*, 1995), but to our knowledge, no studies reported the possible effect of these micro-organisms on the resistance/tolerance of banana plantlets to Al stress, although these plants were found to be sensitive to Al (Chapter 1 and 2) and despite of the importance of this crop in tropical regions.

In this study we report on the effects of AMF root colonization in overcoming the inhibition of water and nutrient uptake, and growth of banana plants in the presence of Al.

6.2. Materials and Methods

6.2.1. Biological material

The AMF strain used for the experiment was provided by the Dept. de Patologia Vegetal of IRTA (Barcelona, Spain) and initially isolated from *Citrus* sp. in Tarragona (Spain). The isolate was identified as *Glomus intraradices* Schenck and Smith. The strain was cultured in pots on leek (*Allium porrum* L. var bleu de solaise) grown on Terra green® under greenhouse conditions. After 6 month culture, mycorrhizal roots were recovered from the pot cultures and cultured *in vitro* in association with a transformed root of carrot according to the method described by Declerck *et al.* (1998b). The aseptic produced spores were then transferred on micropropagated banana plants on sterilized (121°C for 1 h) quartzitic sand for mass production. After three month culture, numerous mycorrhizal roots were obtained and subsequently used for the experiment. Micropropagated banana plants of Grande Naine (*Musa acuminata* colla cv AAA, Giant Cavendish subgroup) were provided by Vitropic (Montpellier, France).

6.2.2. Experiment

The tissue-cultured banana plants were weaned for one week in 0.2 L pots containing 0.3 kg of sand (0.7-1.4 mm diameter, Euroquartz). The sand was first washed with concentrated HCl and rinsed several times with deionized water to eliminate residual acid. Each plant received daily 0.02 L of nutrient solution of the following composition, in macroelements (mM): 0.9 Ca(NO₃)₂, 0.05 CaSO₄, 0.05 CaCl₂, 0.5 KCl, 0.25 K₂SO₄, 0.05 MgCl₂, 0.05 MgSO₄, 0.1 NH₄Cl, 0.05 (NH₄)₂SO₄, 0.05 NaH₂PO₄, and in microelements (μM): 80 H₃BO₃, 80 FeEDTA, 8 MnCl₂, 0.8 ZnSO₄, 0.8 CuSO₄, 5.6 (NH₄)₆Mo₇O₂₄. This composition was determined as described in Chapter 1. Pots were placed in a growth chamber set at 28/25°C day/night temperature with 90 % relative humidity and 448 μE m⁻² s⁻¹ photon flux density 12 h per day.

Plants were then transplanted in 2.5 L pots containing 4.3 kg of the same sand and following the same procedure as described above. Half of them received individually 1 g of roots containing the AMF. The frequency of AMF colonization (%F) of this inoculum, calculated as the percentage of root segments examined that were infected by either hyphae, arbuscules or vesicles, was 100 %. The two treatments were noted (-AMF) for the non-mycorrhizal plants and (+AMF) for the mycorrhizal plants. During this phase of mycorrhization (35 days), each plant received approximately 50

mL of the same nutrient solution as described above supplied once a day during 28 days and approximately 2.5 L supplied continuously by peristaltic pumps at a rate of $0.104 \text{ L h}^{-1} \text{ pot}^{-1}$ during the following 7 days (Declerck *et al.*, 1998a). Thereafter, i.e. from day 0 until the end of the experiment (day 40) where day 0 refers to the day of Al stress application, nutrient solutions differing in Al level (0, 78 and $180 \mu\text{M}$ Al i.e. 0, 2 and 5 mg Al L^{-1} respectively) were supplied continuously as described above: the three Al treatments were noted Al₀, Al₂ and Al₅, respectively. The composition of the nutrient solution for Al₀ was the same as described above. For the Al₂ and Al₅ treatments, Al was added as $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ to the same solution as that of Al₀. The pH values were 5.2 for the Al₀ treatment, 4.2 for the Al₂ treatment and 4.0 for the Al₅ treatment. Each treatment was replicated four times.

Water and nutrient absorption measurements were taken once every 7 days during 40 days. Water uptake was assessed by weighting input and output solutions of each pot over one day (Chapter 1). Nutrient uptake was calculated as the difference between daily input and output quantities for each pot, i.e. the difference between the product of concentration and solution volume at input and output. Calcium, Mg, and Al were measured by D.C. Plasma emission spectroscopy, K by flame atomic absorption spectrophotometry, $\text{NO}_3\text{-N}$ and $\text{NH}_4\text{-N}$ by the Kjeldahl method, and P by colorimetry.

Particular disorder symptoms were recorded on leaves. At the end of the experiment, i.e. after 40 days, the plants were cut in different parts: root axes, lateral roots and shoots (including the corm). Root dry weight (RDW) and shoot dry weight (SDW) were determined after drying the different plant parts at 60°C for one week. The relative mycorrhizal dependency (RMD) of the banana cultivar was determined for the different treatments by expressing the difference between the SDW of the +AMF plants and the SDW of the -AMF plants as a percentage of the SDW of the +AMF plants (Plenchette *et al.*, 1983). Mineral analyses were conducted after calcination at 450°C for one day, followed by ash dissolution with concentrated HNO_3 . Calcium, Mg, P, and Al were measured by D.C. Plasma emission spectroscopy, and K by flame atomic absorption spectrophotometry.

Samples of dried lateral roots were cut into segments of about 0.5 cm long, cleared with 10% potassium hydroxide (KOH) and stained with 0.1% trypan blue for measurement of the root AMF colonization (Phillips and Hayman, 1970). Fifty randomly selected roots per plant were subject to microscopic examination. The frequency of AMF colonization (%F) was calculated as described above. In addition, the intensity of infection (%I), i.e. the abundance of hyphae, arbuscules and vesicles

in each mycorrhizal root segment, was estimated using the method outlined by Plenchette and Morel (1996).

The General Linear Models (GLM) procedure of the statistical software SAS (SAS Institute, 1985) was used for statistical analysis of the data. Significant differences were considered at $P \leq 0.05$ and mean values were ranked by the Scheffé's multiple range test when more than two groups of data were compared by analysis of variance (ANOVA) or by T-test paired method when only two groups of data were compared.

6.3. Results

6.3.1. AMF root colonization

The results of AMF root colonization measured just before Al stress application (day 0) and at the harvest (day 40) are shown in Table 6.1. At day 0, the frequency and intensity of root colonization were $96 \pm 4.0\%$ and $26 \pm 2.5\%$, respectively. At the end of the experiment (day 40), the frequency of AMF root colonization was still large and was not significantly different as compared to the %F values recorded at day 0 whatever the Al treatment. The same results was obtained for the %I values, although mean values of the root colonization intensity tended to be higher as Al level increased. No mycorrhizal colonization was further observed in the roots of the non inoculated plants.

Table 6.1. Frequency (%F) and intensity (I%) of AMF banana root colonization measured just before Al stress application (day 0) and at the end of the experiment (day 40), for the plants receiving a complete nutrient solution without Al (Al₀) and with 78 μM Al (Al₂) and 180 μM Al (Al₅). Values are means followed by S.E. of 50 replicates.

Al treatments		F %	I %
Day 0		96 ± 4.0	26 ± 2.5
Day 40	Al ₀	87 ± 10.1	21 ± 7.9
	Al ₂	85 ± 9.3	23 ± 5.0
	Al ₅	89 ± 10.5	28 ± 12.9

6.3.2. Water uptake

The water uptake rates by banana plants are given in Figure 6.1, both in absolute values for the -AMF plants and in relative values for the +AMF plants. The relevant statistical analyses are shown in Table 6.2. In the absence of AMF, the rates of water uptake increased from day 0 to day 32. Thereafter the water uptake rate remained constant for bananas in Al_0 and Al_2 whereas it decreased in Al_5 . Water uptake significantly decreased with increasing Al concentration in the nutrient solutions. Significant differences were observed from day 21 and were particularly marked at the end of the experiment in Al_5 versus Al_0 and Al_2 treatments. Water uptake by plants grown in the +AMF treatments did not significantly differ from the plants grown in the -AMF treatments until day 35. At this moment, differences appeared and were significant only at the end of the experiment. At day 40, water uptake of +AMF plants was 17, 29 and 42 % higher than that of the -AMF plants for Al_0 , Al_2 and Al_5 respectively.

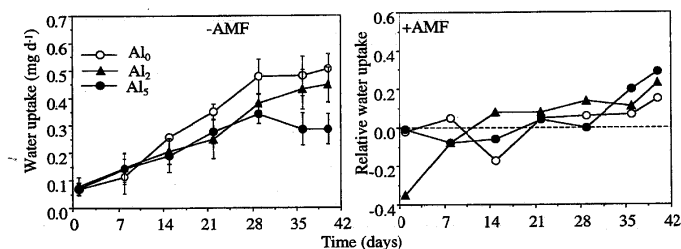


Figure 6.1. Water uptake rate in the course of experiment by non-mycorrhizal (-AMF) and mycorrhizal (+AMF) banana plants grown for 40 days in nutrient solutions without Al (Al_0) and with 78 μ M Al (Al_2) and 180 μ M Al (Al_5). Absolute values (means $\pm$ SE of four replicates) are given for -AMF treatment and relative values, i.e. ratio of the difference between water uptake rate with and without AMF, by water uptake rate in +AMF treatment, are given for +AMF treatment, and broken line indicates equality between values for -AMF and +AMF plants.

6.3.3. Aluminium and nutrient uptake

The nutrient (Ca, Mg, K, NO_3 -N, NH_4 -N, and P) and Al uptake rates by banana plants are given in Figure 6.2 and Figure 6.3 respectively, both in absolute values for the -AMF plants and in relative values for the +AMF plants, except for Al uptake shown only in absolute values for both -AMF and +AMF plants. The statistical

analyses carried out on the data concerning Al and nutrient uptake from the day 22 of the experiment to compare the non-mycorrhizal (-AMF) and the mycorrhizal (+AMF) plants for each Al treatment (Al_0 , Al_2 and Al_5) are shown in Table 6.2.

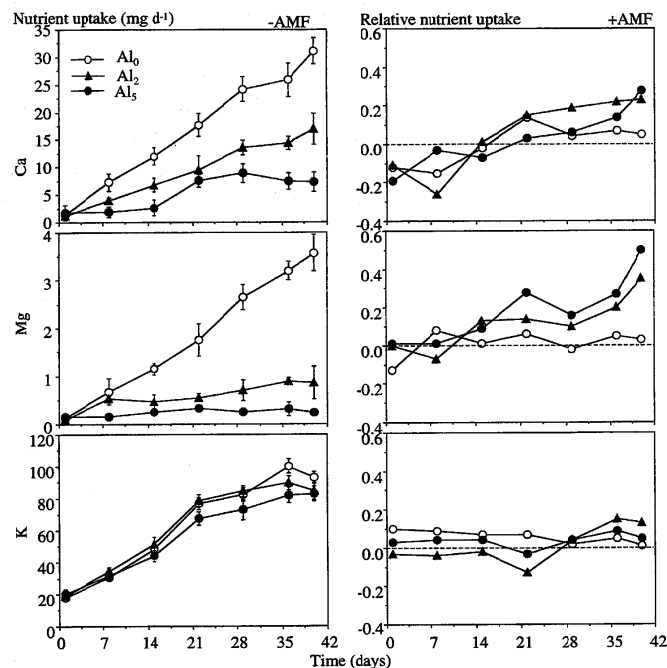


Figure 6.2. Nutrient uptake rate by non-mycorrhizal (-AMF) and mycorrhizal (+AMF) banana plants grown for 40 days in nutrient solutions without Al (Al_0) and with 78 μ M Al (Al_2) and 180 μ M Al (Al_5). Absolute values (means $\pm$ SE of four replicates) are given for -AMF treatment and relative values, i.e. the ratio of the difference between nutrient uptake rate without and with AMF, by nutrient uptake rate in +AMF treatment, are given for +AMF treatment, and broken lines indicate equality between values for -AMF and +AMF plants.

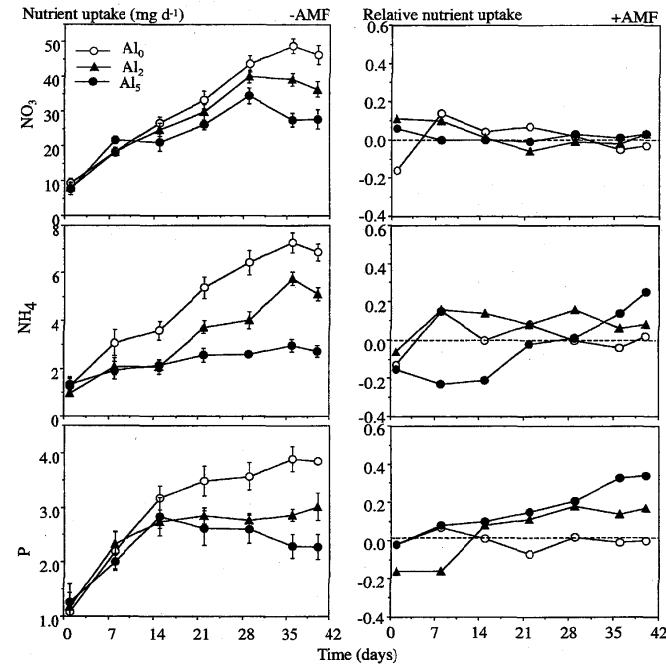


Figure 6.2 (Following)

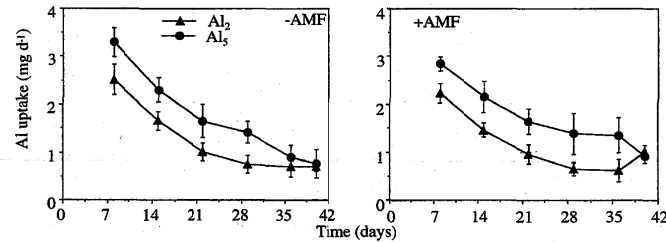


Figure 6.3. Aluminium uptake rate in the course of experiment by non-mycorrhizal (-AMF) and mycorrhizal (+AMF) banana plants grown for 40 days in nutrient solutions with 78 μ M Al (Al_2) and 180 μ M Al (Al_5). Values are means $\pm$ SE of four replicates

Table 6.2. Water, nutrient and Al uptake by the non-mycorrhizal (-AMF) and the mycorrhizal (+AMF) banana plants grown without Al (Al_0) and with 78.5 μ M Al (Al_2) and 180 μ M Al (Al_5) added to the nutrient solution, measured 22, 29, 36 and 40 days after Al application. The values are means of four replicates. For each parameter and Al concentration, values in the same column followed by identical letter are not significantly different ($P \leq 0.05$, T-test paired method).

		22nd day			29th day			36th day			40th day		
		Al_0	Al_2	Al_5	Al_0	Al_2	Al_5	Al_0	Al_2	Al_5	Al_0	Al_2	Al_5
Water (L d ⁻¹)	-AMF	0.35 a	0.25 a	0.28 a	0.48 a	0.38 b	0.34 a	0.48 a	0.43 b	0.29 b	0.50 a	0.45 b	0.29 b
	+AMF	0.37 a	0.27 a	0.29 a	0.49 a	0.44 a	0.34 a	0.55 a	0.50 a	0.36 a	0.59 a	0.52 a	0.41 a
Ca (mg d ⁻¹)	-AMF	17.7 a	9.6 a	7.5 a	24.2 a	13.6 b	8.9 a	25.9 a	14.4 b	7.5 a	31.1 a	17.0 b	7.3 b
	+AMF	20.5 a	11.3 a	7.8 a	25.3 a	16.7 a	9.5 a	27.9 a	18.4 a	8.7 a	32.8 a	22.1 a	10.1 a
Mg (mg d ⁻¹)	-AMF	1.8 a	0.6 a	0.3 b	2.7 a	0.7 a	0.3 a	3.2 a	0.9 b	0.3 b	3.6 a	0.9 b	0.2 b
	+AMF	1.9 a	0.6 a	0.4 a	2.6 a	0.8 a	0.3 a	3.4 a	1.1 a	0.4 a	3.7 a	1.3 a	0.5 a
K (mg d ⁻¹)	-AMF	77 a	79 a	68 a	82 a	84 a	73 a	100 a	86 a	82 a	93 a	85 a	83 a
	+AMF	83 a	69 b	65 a	84 a	88 a	75 a	105 a	91 a	80 a	102 a	93 a	87 a
P (mg d ⁻¹)	-AMF	3.5 a	2.8 b	2.6 b	3.6 a	2.8 b	2.6 b	3.9 a	2.9 b	2.3 b	3.9 a	3.0 b	2.3 b
	+AMF	3.3 a	3.2 a	3.1 a	3.6 a	3.4 a	3.3 a	3.9 a	3.4 a	3.4 a	3.8 a	3.6 a	3.4 a
NO ₃ -N (mg d ⁻¹)	-AMF	34 a	30 a	26 a	44 a	40 a	34 a	49 a	39 a	27 a	46 a	36 a	28 a
	+AMF	36 a	28 a	26 a	44 a	40 a	36 a	46 a	38 a	28 a	45 a	37 a	28 a
NH ₄ -N (mg d ⁻¹)	-AMF	5.4 a	3.7 a	2.6 a	6.4 a	4.0 a	2.6 a	7.3 a	5.8 a	3.0 a	6.9 a	5.1 a	2.7 b
	+AMF	5.9 a	4.1 a	2.5 a	6.4 a	4.8 a	2.6 a	7.0 a	5.9 a	3.4 a	7.0 a	5.5 a	3.6 a
Al (mg d ⁻¹)	-AMF	-	1.0 a	1.7 a	-	0.7 a	1.4 a	-	0.7 a	0.9 a	-	0.7 a	0.8 a
	+AMF	-	1.0 a	1.6 a	-	0.6 a	1.4 a	-	0.6 a	1.4 a	-	1.0 a	0.9 a

Without Al in nutrient solution, the Ca, Mg, K, $\text{NO}_3\text{-N}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, and P uptake rates of the -AMF plants increased with increasing time for each element. The addition of Al in nutrient solution caused a decrease in uptake of all elements. This Al effect increased with increasing the concentration of Al in nutrient solution. At the end of the experiment (day 40), the uptake rate of Mg in Al_2 and Al_5 was particularly depressed and represented, respectively, only 24% and 6% of that in Al_0 .

The colonization of banana roots by *Glomus intraradices* did not affect significantly the nutrient uptake in Al_0 . But in the presence of Al in the nutrient solutions, the +AMF plants had higher Ca, Mg, $\text{NH}_4\text{-N}$, and P uptake rates than the -AMF plants, especially in the 7 last days of the experiment.

The amount of Al absorbed (Fig. 6.3) was high just after the application of Al stress, and thereafter decreased progressively to a rate of about 1 mg d^{-1} at the end of the experiment, in both -AMF and +AMF treatments. The Al uptake was higher in Al_5 than in Al_2 treatment, but this difference vanished during the 7 last days of the experiment. The +AMF plants tended to absorb less amount of Al than the -AMF plants only at the beginning of the experiment, but after 14 days, no significant difference was observed in Al uptake between the -AMF and +AMF plants.

6.3.4. Leaf symptoms

For the two Al-stress treatments (Al_2 and Al_5), Al-related toxicity symptoms as described in chapter 2 were observed on banana leaves. They appeared as leaf yellowing at lamina margin extending throughout the leaf in approximately 24 h without affecting the midrib. After 48 h of appearance, the symptoms evolved in necrotic spots. These Al-related symptoms appeared at different times and with distinct severity depending on the Al level and on the presence or absence of AMF (Table 6.3). Within given Al treatment, leaf symptoms appeared earlier in the -AMF plants than in the +AMF plants. Indeed, they appeared after 13 and 10 days of contact of -AMF plants with Al_5 and Al_2 respectively. For the +AMF plants these symptoms appeared after 15 and 11 days in Al_5 and Al_2 respectively.

Within given AMF (-AMF or +AMF) treatment, the symptoms appeared earlier and were more severe in plants in Al_5 in comparison with those in Al_2 . For both -AMF and +AMF plants in Al_2 and for +AMF plants in Al_5 , the two last unfurled leaves remained green without symptoms, while only the youngest one was not affected for -AMF plants in Al_5 . Necrosis symptoms were estimated to cover between 0-60% of the surface area of leaves for the plants grown in the Al_2 depending on leaf order,

while for the plants grown in Al_5 a majority of leaves was 100 % necrotic. Interestingly, the leaves developed before Al input, i.e. before day 0, did not show any symptoms till the end of the experiment (day 40). No leaf Al-stress symptoms were observed for the +AMF and -AMF plants in the Al_0 .

6.3.5. Dry matter production

Shoot dry weight (SDW) and root dry weight (RDW) of the banana plants grown in the different treatments are given in Table 6.3. In both -AMF and +AMF plants, SDW and RDW decreased as Al concentration increased in the nutrient solution. Aluminium stress decreased RDW, especially for lateral roots, in a larger extent than SDW. This Al effect thus led to an increase of SDW/RDW ratios with increasing Al concentration in nutrient solution.

Table 6.3. Period of Al-related toxicity symptom appearance, root and shoot dry weight, and shoot/root ratio for the non-mycorrhizal (-AMF) and mycorrhizal (+AMF) banana plants grown without Al (Al_0) and with $78.5 \mu\text{M}$ Al (Al_2) and $180 \mu\text{M}$ Al (Al_5) added to their nutrient solution. Values are means $\pm$ SE of four replicates. For each parameter, values in the same column (-AMF and +AMF) followed by identical letter are not significantly different ($P \leq 0.05$, Scheffé's multiple range test). For each parameter and Al concentration, the effect of AMF is indicated by NS if not significant or * if significant at $P \leq 0.05$ (T-test paired method).

	Al treatments	-AMF	+AMF	AMF effect
Period of symptom appearance (days)	Al_0	-	-	-
	Al_2	$13 \pm 1 \text{ a}$	$15 \pm 0 \text{ a}$	*
	Al_5	$10 \pm 0 \text{ b}$	$11 \pm 2 \text{ b}$	NS
Root axes (g/plant)	Al_0	$3.9 \pm 0.4 \text{ a}$	$4.5 \pm 0.5 \text{ a}$	NS
	Al_2	$2.7 \pm 0.3 \text{ b}$	$3.0 \pm 0.2 \text{ b}$	NS
	Al_5	$1.5 \pm 0.2 \text{ c}$	$1.8 \pm 0.1 \text{ c}$	*
Lateral roots (g/plant)	Al_0	$5.1 \pm 0.3 \text{ a}$	$6.0 \pm 0.2 \text{ a}$	*
	Al_2	$2.8 \pm 0.4 \text{ b}$	$2.6 \pm 0.8 \text{ b}$	NS
	Al_5	$1.7 \pm 0.5 \text{ c}$	$1.6 \pm 0.2 \text{ c}$	NS
Shoots (g/plant)	Al_0	$29.6 \pm 3.0 \text{ a}$	$30.7 \pm 1.2 \text{ a}$	NS
	Al_2	$22.6 \pm 1.5 \text{ b}$	$26.3 \pm 1.2 \text{ b}$	*
	Al_5	$18.8 \pm 1.0 \text{ c}$	$21.8 \pm 1.7 \text{ c}$	*
Shoot/root ratio	Al_0	$3.3 \pm 0.2 \text{ c}$	$2.9 \pm 0.5 \text{ c}$	NS
	Al_2	$4.1 \pm 0.4 \text{ b}$	$4.5 \pm 0.3 \text{ b}$	NS
	Al_5	$5.8 \pm 0.3 \text{ a}$	$6.1 \pm 0.4 \text{ a}$	NS

In Al₅ the dry weight of the root axes of the +AMF plants was significantly higher than that the -AMF plants. However, no difference between -AMF and +AMF plants was observed in Al₀ and Al₂. The dry weight of lateral roots significantly increased after AMF colonization of plants only in the absence of Al. SDW of banana plants grown in Al₂ and Al₅ was significantly higher for the plants inoculated by AMF as compared with the non-inoculated plants, whereas no significant differences were observed between the +AMF and the -AMF for the Al₀ treatment. The RMD was 5 % for Al₀ treatment and 14 % for both Al₂ and Al₅ treatments.

6.3.6. Nutrient concentrations

The effect of Al treatments and AMF inoculation on nutrient tissue concentrations of banana plants is shown in Table 6.4. Increasing Al concentration in nutrient solution caused a significant decrease of Ca concentration both in root and shoot of -AMF plants and only in shoot of +AMF plants. Roots of +AMF plants had similar Ca concentrations in Al₀, Al₂ and Al₅. Magnesium tissue concentration was decreased by Al in both roots and shoots of -AMF and +AMF plants.

Table 6.4. Nutrient concentrations in root and shoot of non-mycorrhizal (-AMF) and mycorrhizal (+AMF) banana plants grown for 40 days in sand and fed by nutrient solutions without Al (Al₀), with 78.5 μ M Al (Al₂) and with 180 μ M Al (Al₅). Mean values $\pm$ SE of four replicates. Singifcant differences between -AMF and +AMF are indicated by different letters following means of the same Al treatment, at 5% level.

Elements	Al ₀		Al ₂		Al ₅	
	-AMF	+AMF	-AMF	+AMF	-AMF	+AMF
g kg ⁻¹ dry wt						
Roots						
Ca	3.7 $\pm$ 0.2 a	3.7 $\pm$ 0.1 a	3.2 $\pm$ 0.1 b	3.6 $\pm$ 0.1 a	3.1 $\pm$ 0.4 b	3.8 $\pm$ 0.2 a
Mg	1.7 $\pm$ 0.1 a	1.7 $\pm$ 0.1 a	0.8 $\pm$ 0.03 b	1.0 $\pm$ 0.04 a	0.6 $\pm$ 0.1 b	0.9 $\pm$ 0.02 a
K	55 $\pm$ 19 a	50 $\pm$ 15 a	58 $\pm$ 4.0 b	72 $\pm$ 6 a	83 $\pm$ 8 a	73 $\pm$ 14 a
P	2.0 $\pm$ 0.5 a	2.0 $\pm$ 0.1 a	2.4 $\pm$ 0.1 b	2.7 $\pm$ 0.1 a	2.8 $\pm$ 0.1 b	3.3 $\pm$ 0.1 a
Al	0.1 $\pm$ 0.01 a	0.1 $\pm$ 0.00 a	7.0 $\pm$ 0.5 a	5.8 $\pm$ 0.2 b	8.3 $\pm$ 0.5 a	6.1 $\pm$ 0.9 b
Shoots						
Ca	18.4 $\pm$ 0.3 a	18.4 $\pm$ 0.2 a	14.0 $\pm$ 0.4 a	15.0 $\pm$ 0.2 a	9.9 $\pm$ 0.5 b	11.2 $\pm$ 0.6 a
Mg	1.7 $\pm$ 0.1 a	1.6 $\pm$ 0.2 a	0.9 $\pm$ 0.04 a	0.9 $\pm$ 0.03 a	0.6 $\pm$ 0.03 a	0.7 $\pm$ 0.03 a
K	79 $\pm$ 10 a	74 $\pm$ 4 a	90 $\pm$ 19 a	91 $\pm$ 7 a	119 $\pm$ 8 a	100 $\pm$ 16 a
P	3.1 $\pm$ 0.4 a	3.0 $\pm$ 0.3 a	3.3 $\pm$ 0.2 a	3.5 $\pm$ 0.2 a	2.8 $\pm$ 0.1 b	3.3 $\pm$ 0.2 a
Al	0.1 $\pm$ 0.02 a	0.1 $\pm$ 0.01 a	0.4 $\pm$ 0.1 a	0.3 $\pm$ 0.2 a	1.5 $\pm$ 0.2 a	0.7 $\pm$ 0.4 b

Potassium tissue concentration was higher in root and shoot of plants grown in Al₂ and Al₅ than those of plants grown without Al. Roots had higher P concentration as Al level increased but the shoot P concentration was not significantly affected by Al. Aluminium concentration increased between Al₂ and Al₅ treatments, and was 6 to 20 times higher in roots than in shoots.

The AMF effects on nutrient tissue concentrations was observed for banana plants receiving Al in nutrient solutions, but not for banana plants grown without Al. In the presence of 78 and 180 μ M Al in nutrient solutions, the +AMF plants had significantly higher Ca, Mg, and P concentrations than the -AMF plants, and this mycorrhizal positive effect was more marked as Al level increased. To the opposite, the +AMF plants had significantly lower Al tissue concentration than the -AMF plants, both in roots and shoots.

6.4. Discussion

6.4.1. Root AMF colonization

High root AMF colonization was obtained within the five weeks preceeding the Al stress application. At the end of the experiment (day 40), the mycorrhizal colonization was still high and similar between plants grown without Al and those grown with 78 (Al₂) and 180 μ M Al (Al₅). However, the intensity of root infection tended to increase as Al concentration increased, although this increase was not statistically significant. Similar results on the maintenance of high degree of root mycorrhizal colonization with or without Al were reported for subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.) (Clark, 1997), spruce (*Picea abies* Karst.) (Jentschke *et al.*, 1999) and an Al tolerant barley cultivar (*Hordeum vulgare* L.) but not for an Al sensitive barley cultivar for which the root AMF colonization decreased with increasing Al concentration in nutrient solution (Mendoza and Borie, 1998). Medeiros *et al.* (1995) obtained higher AMF root colonization in sorghum (*Sorghum bicolor* L.) grown with high Al concentration than in that grown without Al. Such contrasting results on the Al effect on the infectivity of the AMF suggest a differential behavior due to Al in the root AMF colonization of different plant species and different genotypes within plant species, and different fungal species. The maintenance of high root colonization even in large Al concentration suggests that *G. intraradices* could be a suitable isolate for acid soils with high soluble Al content. It also stresses the non detrimental effect of the continuous nutrient flow solutions on

the maintenance of the AMF within roots (Jentschke *et al.*, 1999). Moreover, Clark (1997) synthesizing the available knowledge on AMF fungi and host plant responses at low pH, demonstrated the large variability in AMF establishment and colonization dependent on host plant species, soil properties and species.

6.4.2. Water and nutrient uptake

Water and nutrient uptake by banana plants decreased when Al was added to nutrient solutions. These results confirm those previously reported on bananas in chapter 1. They corroborate with reports involving Al effect on other plant species (Keltjens, 1995; Calba and Jaillard, 1997). This Al effect on water and nutrient uptake is related to Al-induced alteration of root cell structures involved in water absorption (Kruger and Sucoff, 1989). The Al effect on nutrient uptake has been previously considered as a result of various mechanisms, including competition of Al with other cations for exchange sites in root cell walls (Dufey *et al.*, 1991; Horst, 1995; Godbold and Jentschke, 1998), impairment of most transport processes through the plasmalemma (Huang *et al.*, 1992), or a consequence of water uptake inhibition for nutrient absorbed passively by massflow (Chapter 1). However, these different hypotheses on the mechanisms of Al toxicity are still subject to controversy and no strong evidence exists to support one more than another (Kochian, 1995).

If considerable information is available on Al phytotoxicity and mycorrhizal benefits for plants, informations on Al-AMF interactions are limited. The hydroponic sand culture system devised in our experiment appeared valuable to investigate such interaction. Most studies conducted so far concerned plants grown in soils (Koslowsky and Boerner, 1989; Lambais and Cardoso, 1990). Moreover, in most studies involving mycorrhizae, nutrient uptake was deduced from nutrient contents analysed at harvest (Koslowsky and Boerner, 1989; Lambais and Cardoso, 1993). As stated by Ojala and Jarell (1980), in a continuous nutrient flow experimental design, the nutrient concentration can be monitored independently at any time and their effects on plant growth or relationships with AMF easily studied with little concern for the solid phase. The measurement of water and nutrient uptake rate showed that both parameters were similar in -AMF and +AMF plants when Al was absent in nutrient solutions. This absence of mycorrhizal effect could be explained by the abundance of all nutrients supplied by nutrient solution in available forms for banana growth. In Al treatments, water, and Ca, Mg, $\text{NH}_4\text{-N}$ and P uptake rates were enhanced by mycorrhizal infection, whereas K, and $\text{NO}_3\text{-N}$ uptake rates were not affected.

Mycorrhizal infection enhanced nutrient uptake by increasing the absorbing surface area by the formation of an extensive network of mycorrhizal hyphae extending from the root surface into the soil (Hayman, 1983; Marschner and Dell, 1994). Thus, the uptake of nutrients with low mobility in soil like P, and cationic elements commonly deficient in acid soils, like Ca and Mg, have been greatly enhanced in +AMF plants compared to -AMF plants (Lambais and Cardoso, 1993; Clark and Zeto, 1996). The positive mycorrhizal effect observed for water and Ca, Mg, $\text{NH}_4\text{-N}$, and P uptake by Al-stressed banana plants can not be attributed only to the increase of absorbing surface area due to mycelial network because all nutrients were sufficiently supplied in available forms. This was further sustained by the absence of differences in water and nutrient uptake between the -AMF and the +AMF plants grown without Al. It appeared obvious that this mycorrhizal effect was produced by an improvement in water and nutrient uptake. Therefore their structural position at the root-soil interface may interact with Al resulting in improved plant tolerance to the damage caused by phytotoxic Al. It is interesting to note that Mg, whose uptake rate was the most decreased in this study (Fig. 6.2) as previously demonstrated (Chapter 1), had the most relatively enhanced uptake rate in +AMF plants compared to -AMF plants, although Al uptake rate was similar in +AMF and -AMF plants from the day 14 to the end of the experiment (day 40).

As noted by other authors (Cumming and Weinstein, 1990), our findings also show that mycorrhization significantly decreased the Al-induced reduction of nutrient uptake, and hence protected the plant from adverse Al affect. Malajczuk and Cromack (1982) reported that oxalic acid production and excretion is common to many fungi and observed an accumulation of Ca oxalate crystals on or near hyphae. In the presence of Al, the formation of both stable and insoluble Al oxalate would be favored over the precipitation of Ca oxalate (Koslowsky and Boerner, 1989). In this way, the presence of AMF may offset relatively high soluble Al concentrations by immobilizing the Al out of the root or by reducing the Al activity in the root free space. Protection of root hormonal balance from the detrimental effects of Al was also hypothesized as a mechanism involved in these beneficial effects of AMF (Pan *et al.*, 1989). However, as it was noticed by Lambais and Cardoso (1993), the mechanisms by which the AMF can alleviate Al toxicity remain to be understood.

6.4.3. Mineral nutrient concentrations in plants

Aluminium stress decreased Ca, Mg content in root and shoot, except for Ca in roots of +AMF plants. To the contrary, Al stress increased K content in both root and shoot as well as P content, but mainly in root. In particular, the strong decrease in Mg

concentration in plants under Al stress was thought to be the cause of the Al-induced leaf symptoms described above, which would thus be Mg deficiency symptoms (Chapter 2).

Mineral concentration in plant tissues is a widespread described parameter rather than the nutrient uptake *sensu stricto* in mycorrhizal studies. Enhanced mineral nutrient concentrations in +AMF plants have been reported in many studies, while in others, the mycorrhizal infection did not affect or decreased the concentration of all or some elements (Clark, 1997). Our results showed that Ca, Mg, K and P concentrations were not significantly affected by AMF infection in plants grown without Al. On the other hand, significant enhancement of Ca, Mg and P concentrations especially in roots and a decrease in root Al concentrations by +AMF plants relative to -AMF plants were obtained when plants were grown in the presence of Al. Enhancement of most nutrient concentrations simultaneously with the decrease of Al concentration in +AMF plants compared to -AMF plants was also noted by Clark and Zeto (1996).

Although mycorrhizal infection did not produce significant decrease in Al uptake rate (see Fig. 6.3), root Al concentration was reduced in +AMF plants compared to -AMF plants because of Al dilution in roots as root axis dry matter has been shown to increase after mycorrhizal infection. The Al concentration was far much higher in root than in shoot as noted in other studies (Chapter 2; Mendoza and Borie, 1998) and was increasing with Al level in -AMF plants but not in +AMF plants, in agreement with the results of Koslowsky and Boerner (1989).

6.4.4. Dry matter production

The Al inhibiting effect on root and shoot dry matter production has been reported for five banana cultivars including Grande Naine (Chapter 2) and also for other plant species (Vo Dinh Quang *et al.*, 1996; Costa de Macedo *et al.*, 1997). The same results were observed in our experiment for both -AMF and +AMF plants.

The benefit of mycorrhizal infection for plant growth was observed in this experiment especially when plants were exposed to Al stress. The dry matter was significantly enhanced for root axes in Al₅, lateral roots in Al₀ and shoots in Al₂ and Al₅ by +AMF plants relative to -AMF plants. In Al₀, root and shoot dry weights did not increase after AMF infection, likely because nutrients supplied by the nutrient solution were sufficiently available for plants. This absence of AMF effect could also be attributed to the performance of the association banana cultivar-AMF isolate species used here. The effect of mycorrhizal infection on plant growth has attracted

more attention by many researchers in these two last decades (Clark, 1997) and the root colonization by mycorrhizas has been considered as an important component in the adaptation of plants in acid soils with high soluble Al (Marschner, 1995), but results obtained are often contrasting. Howeler *et al.* (1987) showed the mycorrhizal dependency of plants grown in tropical soils rich in soluble Al for many arable crop and tropical pasture species, but they noticed in addition that this dependency on AMF was more evident for plants with coarse and inefficient root system such as cassava (*Manihot esculenta* Crantz). Borie and Rubio (1999) observed a relative mycorrhizal dependency for an Al-tolerant barley cultivar but not for an Al-sensitive cultivar. Different responses to mycorrhizal infection were obtained for dry matter produced by maize (*Zea mays* L.) (Clark and Zeto, 1996) and by *Stylosanthes guianensis* (Lambais and Cardo, 1990) dependent on fungal species. Our findings support the general conclusion in that the effects of AMF on plant growth are particularly marked under low nutrient and mineral stress conditions (Clark, 1997; Smith and Read, 1997).

6.5. Conclusion

The results obtained here on Grande Naine banana confirm the well documented harmful Al effects on plant growth by inhibiting water and nutrient uptake. The fungal isolate used, *G. intraradices*, was effective in enhancing water and some nutrient uptake rate by Al-stressed banana plants, especially for nutrient strongly affected by Al like Mg. Consequently, root and shoot dry matter were enhanced by +AMF plants relative to -AMF plants, particularly for plants in contact with high quantity of Al in nutrient solutions (Al₅). Roots and shoots exhibited large concentrations of Ca, Mg, and P, while Al concentration decreased in +AMF plants relative to -AMF plants. These results show that AMF could be effective in alleviating Al toxicity for banana plants.

Acknowledgments

This work was supported by the EU contract INCO-DC CEE CT 970208 and by the research programme N°2.4595.98 of the Belgian *Fonds de la Recherche Fondamentale et Collective* (FNRS-FRFC). We thank Maria Genalin Angelo Van Coppenolle for her assistance in measurement of root mycorrhizal colonization, Patrick Populaire and Anne Iserentant for their technical support during the experiments and for the chemical analyses.

Synthèse

A chaque chapitre de ce travail, les résultats obtenus ont été discutés et des conclusions ont été tirées. Pour terminer notre travail, nous avons jugé utile de présenter cette synthèse dans laquelle nous rapportons les principaux résultats des différents chapitres en dégageant aussi les principales perspectives et les questions qui restent posées pouvant orienter les recherches ultérieures dans ce domaine.

Il est connu que la toxicité aluminique a été étudiée sur de nombreuses espèces végétales et qu'elle est actuellement identifiée comme le facteur majeur limitant la croissance et la production des plantes cultivées en sols minéraux acides. Mais à notre connaissance, il n'existe pas de recherches approfondies déjà réalisées sur la toxicité aluminique chez le bananier, bien que cette plante soit cultivée dans les régions tropicales et subtropicales où les sols acides dominent et qu'elle soit d'une grande importance dans l'économie et dans les rapports sociaux des habitants des pays tropicaux. L'objectif de ce travail était donc de combler cette lacune. Les expériences réalisées nous ont permis de déterminer (1) les effets de l'aluminium sur l'absorption de l'eau et des éléments minéraux, et sur la croissance et la composition minérale des bananiers, (2) l'influence de l'aluminium sur les propriétés d'échange et sur la composition cationique des racines de bananiers, (3) la mobilisation de l'aluminium des argiles par les racines de bananiers, et (4) les effets de la mycorhization des jeunes bananiers sur leur sensibilité au stress aluminique.

Effets du stress aluminique sur les bananiers

Les effets du stress aluminique sur l'absorption de l'eau et des éléments minéraux, et sur la croissance et la composition minérale des bananiers ont été étudiés sur cinq cultivars de bananiers (Grande Naine, Igitsiri, Kayinja, Agbagba, et Obino l'Ewai) cultivés pendant 40 jours en solutions nutritives soit dépourvues d'aluminium, soit contenant de l'aluminium à une concentration de 78.5 μM .

Les résultats rapportés au chapitre 1 sur l'absorption de l'eau et des éléments minéraux ont montré qu'en présence d'aluminium dans la solution nutritive, le taux d'absorption de l'eau et des éléments minéraux diminue progressivement par rapport

au taux d'absorption des bananiers cultivés en solutions nutritives dépourvues d'aluminium. Il est intéressant de remarquer que l'absorption des éléments minéraux était étroitement liée à l'absorption de l'eau. En d'autres termes, la diminution de l'absorption d'eau en présence d'aluminium a limité dans une mesure très importante le transport passif des éléments nutritifs de la solution vers les racines, non compensé par une augmentation du transport actif. Ces résultats nous ont amené à considérer que l'aluminium agirait d'abord sur les mécanismes d'absorption de l'eau et la réduction de l'absorption des nutriments qui en résulte serait pour une part importante une conséquence secondaire et non primaire de la présence de l'aluminium dans le milieu de croissance. Le paramètre d'absorption de l'eau n'a pas souvent été pris en compte dans les études sur la toxicité aluminique, les interprétations portant alors sur les interactions directes entre l'aluminium et les ions nutritifs.

Les effets de l'aluminium sur la croissance et la composition minérale des plantes sont présentés au chapitre 2. La croissance et la production de biomasse par les racines et les parties aériennes des bananiers sont réduites chez les bananiers cultivés en présence d'aluminium. Contrairement aux observations couramment rapportées dans la littérature selon lesquelles l'élongation des racines est inhibée en présence d'aluminium, la longueur moyenne des racines principales n'a pas été affectée par la présence d'aluminium, sauf chez le cultivar Kayinja. Par contre, l'aluminium a causé une diminution du diamètre moyen des racines principales et a réduit fortement le développement des racines latérales.

Les variations de la composition minérale des plantes liées à la présence de l'aluminium ont montré des tendances générales vraisemblablement liées aux mécanismes d'absorption des éléments pour tous les cultivars. Les teneurs des éléments dont l'absorption est essentiellement contrôlée par le transport convectif dans le flux d'eau, c'est-à-dire le calcium et le magnésium, étaient réduites alors que les teneurs des éléments dont le transport actif se superpose au flux de masse augmentaient pour le potassium et le phosphore, ou restaient constantes pour l'azote. Plus particulièrement, cette présence de l'aluminium a entraîné une diminution de la concentration en magnésium en dessous du seuil de déficience rapporté dans la littérature faisant alors apparaître des nécroses sur les feuilles de ces plantes. Ces symptômes ont été identifiés comme des symptômes de déficience en magnésium induite par l'aluminium. L'aluminium était fortement accumulé dans les racines, sa translocation vers les parties aériennes étant faible.

Cette expérience montre donc que les jeunes bananiers sont, à la manière des autres espèces végétales, sensibles au stress aluminique. Sur la base des analyses

statistiques réalisées sur plusieurs paramètres mesurés, nous avons constaté que les cultivars de plantains Agbagba et Obino l'Ewaï sont généralement plus tolérants au stress aluminique que les autres cultivars. En plus le cultivar Kayinja cultivé à deux températures différentes a manifesté une plus grande sensibilité à la température de 28/25°C qu'à la température de 24/20°C. Nous concluons que la sensibilité des bananiers au stress aluminique varie suivant les cultivars et les conditions expérimentales. Des expériences sur d'autres cultivars de bananiers sont donc nécessaires en vue d'établir leur degré de sensibilité respectif, et nous recommandons pour les expériences ultérieures de simuler le plus possible les conditions de croissance, surtout de température, des régions où les différents cultivars sont habituellement cultivés.

L'influence de l'aluminium sur les propriétés d'échange et sur la composition cationique des racines de bananiers

Les expériences précédentes ont montré une forte accumulation d'aluminium et une diminution de la concentration en calcium et surtout en magnésium dans les racines des bananiers cultivés en présence d'aluminium, ce qui suppose un antagonisme dans l'absorption de ces éléments. L'un des mécanismes d'absorption des éléments étant leur adsorption sur les parois racinaires, et pour comprendre pourquoi l'aluminium s'accumule dans les racines au détriment d'autres cations, nous avons étudié l'influence de l'aluminium sur les propriétés d'échange cationique (et sur la composition cationique) des racines des cinq cultivars de bananiers mentionnés plus haut. Les racines des bananiers cultivés en solutions nutritives sans et avec 78.5 μM en aluminium ont été comparées aux racines des mêmes cultivars échantillonnées *in situ* sur un Andosol et sur un Oxisol au Cameroun. Les mesures ont porté sur la capacité d'échange cationique de ces racines (CECR) déterminée par l'adsorption/désorption de cuivre, et les cations Al, Mg et Ca échangeables déterminés par extraction au cuivre, et non-échangeables déterminés sur les mêmes racines par extraction à l'acide HCl et par analyse des cendres produites suite à une calcination des racines après les deux extractions.

Les résultats de ces mesures sont donnés au chapitre 3. Ils montrent que les valeurs de la CECR sont identiques en solutions nutritives sans aluminium et en sols, mais significativement plus élevées en solutions nutritives contenant de l'aluminium. Il apparaît aussi que le cultivar Kayinja, le plus sensible selon les résultats des expériences précédentes, a des valeurs plus élevées de CECR que les autres cultivars. Cette observation corrobore d'autres études déjà réalisées sur d'autres espèces

végétales qui ont suggéré que les variétés avec une faible CECR pourraient être sélectionnées pour la résistance au stress aluminique.

La détermination des cations Ca, Mg et Al échangeables des racines de bananiers a montré que l'aluminium fixé sur les sites d'échange des racines est loin d'être la forme dominante d'aluminium accumulé dans les racines, même s'il peut être la source importante des effets néfastes causés par l'aluminium. Une partie représentant 80-90% de l'aluminium total se trouverait sous forme de précipités ou de complexes d'aluminium dans les racines de bananiers. Toutefois, une corrélation entre l'aluminium total et la CECR a été observée. La présence d'aluminium cause une diminution plus élevée du magnésium fixé sur les sites d'échange des racines par rapport au calcium. En conséquence, nous suggérons que le rapport Al/Mg sur les racines puisse être considéré comme un meilleur indicateur de la toxicité aluminique en comparaison avec le rapport Al/Ca couramment recommandé dans la littérature.

Au chapitre 4, nous avons aussi déterminé la compétition entre les cations pour l'adsorption sur les sites d'échange. Des racines issues des bananiers cultivés en solutions nutritives dépourvues d'aluminium ont été équilibrées avec diverses solutions pour étudier les échanges entre les cations H, Ca, Mg, K et Al. Les cations adsorbés ont été désorbés par une solution de CuSO_4 et analysés. Cette étude a montré que l'augmentation de la concentration d'un cation dans la solution d'équilibrage s'accompagne d'une augmentation de son adsorption sur les sites d'échange des racines. Néanmoins, cette adsorption diminue lorsque la concentration en protons ou d'un autre élément entrant en compétition sur les sites d'échange comme l'aluminium augmente dans la solution d'équilibrage. La forte compétition d'aluminium vis-à-vis d'autres cations sur les sites d'échange des racines a permis d'expliquer en partie sa forte accumulation dans les racines au détriment d'autres cations, spécialement du magnésium.

Ces valeurs d'adsorption ont été utilisées pour calibrer un modèle d'échange ionique initialement développé par Sentenac et Grignon (1981) et récemment étendu par Genon (1998). La relation entre les quantités adsorbées mesurées et celles calculées par simulation par le modèle était satisfaisante pour les éléments Ca, Mg et Al, mais seulement partiellement satisfaisante pour le potassium. Par conséquent, un tel modèle peut être recommandé pour prédire quelle serait la composition cationique, surtout en cations di- et trivalents, à l'équilibre sur les complexes d'échange des racines lorsque les concentrations de ces cations dans le milieu environnant ces racines sont connues.

Mobilisation de l'aluminium des argiles par les racines de bananiers

Certaines études ont fait remarquer que les résultats obtenus dans les expériences en solutions peuvent être différents des résultats obtenus en utilisant d'autres substrats de croissance, et des résultats obtenus en sol. Comme la sensibilité des bananiers au stress aluminique venait d'être démontrée à partir des cultures en solutions nutritives, les problèmes causés par l'aluminium du sol ont été étudiés dans une expérience réalisée avec des substrats plus proches du sol sur certains aspects comme la composition minéralogique. L'expérience a été réalisée sur des bananiers cultivés (i) sur un mélange agarose-argile et (ii) sur un mélange sable-argile, l'argile étant la kaolinite et la smectite. L'objectif était de déterminer la mobilisation de l'aluminium des argiles par les racines de bananiers et ses conséquences sur la nutrition minérale et la croissance des bananiers. Les mesures ont porté sur la modification du pH rhizosphérique, la solubilisation de l'aluminium des argiles, les teneurs en éléments Al, Ca et Mg dans les plantes et la croissance des plantes.

Les résultats obtenus dans cette expérience figurent dans le chapitre 5. L'expérience sur agarose-argile montre que le pH rhizosphérique peut baisser de quelques unités sur une distance d'une dizaine de mm par rapport à la surface racinaire. Parallèlement à cette baisse de pH, les argiles étaient altérées libérant des éléments, et notamment la solubilisation de l'aluminium des argiles augmentait avec la baisse de pH. L'absorption de l'aluminium ainsi solubilisé par les racines a réduit l'absorption d'autres éléments comme les cations Ca et Mg. Cet effet de l'aluminium a été mis en évidence par la diminution des teneurs des deux éléments Ca et Mg dans les racines alors que les teneurs en aluminium augmentaient dans le temps.

L'expérience sur sable-argile a montré aussi une acidification et une altération des argiles dans la rhizosphère suite à l'activité des racines de bananiers. Les éléments libérés et absorbés ont influencé la croissance et la production de biomasse des plantes. L'aluminium absorbé était accumulé dans les racines en quantités parfois supérieures à celles qui avaient été observées chez les mêmes cultivars étudiés en solutions nutritives, mais les plantes n'ont pas manifesté de symptômes de stress aluminique, ce qui laisse penser que l'aluminium agirait plus par la forme sous laquelle il est absorbé que par la quantité absorbée. Ces résultats appuient les observations faites dans d'autres études qui ont montré que la toxicité aluminique peut être différente chez une même plante cultivée en solutions nutritives ou cultivée sur d'autres substrats de croissance. Il est par conséquent indispensable de réaliser des expériences sur différents types de sols acides comme support de croissance et

sources d'aluminium pour les plantes pour mieux comprendre les phénomènes de toxicité aluminique et les conditions pédologiques la favorisant.

Effets de la mycorhization des bananiers sur leur sensibilité au stress aluminique

Les expériences précédentes ont mis en évidence les effets néfastes de l'aluminium sur les bananiers et elles ont montré que ces plantes sont capables de favoriser la solubilisation de l'aluminium des argiles et d'en prélever des quantités importantes. Par ailleurs, différentes méthodes de lutte contre la toxicité aluminique chez les plantes ont été préconisées, incluant le chaulage et les amendements organiques. Des études récentes ont montré que les plantes mycorhizées sont parfois plus résistantes à la toxicité aluminique que les plantes non-mycorhizées. Dès lors, nous avons réalisé une expérience dans le but d'étudier les effets de la mycorhization des jeunes bananiers sur leur sensibilité au stress aluminique. Des vitroplants de bananiers cv Grande Naine et le champignon mycorhizien de la souche *Glomus intraradices* ont été utilisés sur un substrat de croissance constitué de sable. Les plantes ont été alimentées en flux continu de solutions nutritives dépourvues d'aluminium ou contenant de l'aluminium à la concentration de 78.5 et 180 μM . Les mesures ont porté sur la colonisation des racines par le champignon mycorhizien, l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs, la croissance, la production de biomasse et la composition minérale des plantes.

Les résultats obtenus dans cette expérience sont donnés au chapitre 6. Ils montrent que la colonisation des racines par le champignon de la souche *Glomus intraradices* utilisé n'est pas inhibée par l'application du flux continu de solutions nutritives. Par conséquent le dispositif utilisé de flux continu de solutions nutritives sur des cultures sur sable peut donc être recommandé comme dispositif adéquat pour les expériences impliquant à la fois les plantes et les champignons mycorhiziens. Cette infection des racines n'a pas non plus été inhibée par l'application du stress aluminique ce qui nous amène à considérer que cette souche utilisée peut bien être adéquate dans des expériences en conditions de sols acides.

Cette mycorhization des bananiers a été efficace dans l'augmentation de l'absorption de l'eau et des éléments nutritifs, de la production de matière sèche par les racines et les parties aériennes, spécialement lorsque les plantes étaient cultivées en présence d'une forte concentration en aluminium. Les concentrations en éléments Ca, Mg, et P ont augmenté tandis que la concentration en aluminium a diminué dans les tissus des

plantes mycorhizées, en comparaison avec les concentrations chez les plantes non mycorhizées. Cependant, les expériences réalisées dans d'autres études ont montré que les effets des champignons mycorhiziens sur les plantes dépendent beaucoup de la combinaison plante hôte-champignon mycorhizien et des conditions édaphiques. Par conséquent, les résultats obtenus dans cette expérience où était étudiée uniquement la seule combinaison Grande Naine comme cultivar de bananier et *Glomus intraradices* comme souche de champignon mycorhizien ne peuvent pas être généralisés sur le reste des cultivars de bananiers ou sur les autres souches de champignons. Nous recommandons donc la réalisation d'expériences sur d'autres cultivars de bananiers et sur d'autres souches de champignons, spécialement les champignons isolés des sols acides. Ces expériences devraient aussi permettre la compréhension des mécanismes par lesquels l'infection par les champignons mycorhiziens atténue la sensibilité des plantes à l'aluminium.

Références

- Adamo P, McHardy W J and Edwards A C 1998 SEM observations in the back-scattered mode of the soil-root zone of *Brassica napus* (cv. Rafal) plants grown at a range of soil pH values. *Geoderma* 85, 357-370.
- Adams F and Lund Z F 1966 Effect of chemical activity of soil solution aluminum on cotton root penetration of acid subsoils. *Soil Sci.* 101, 193-198.
- Ahlich J L, Karr M C, Baligar V C and Wright R J 1990 Rapid bioassay of aluminum toxicity in soil. *Plant Soil* 122, 279-285.
- Ahmad F and Tan K H 1986 Effect of lime and organic matter on soybean seedlings grown in aluminum-toxic soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 656-661.
- Alam S M and Adams W A 1979 Effects of aluminum on nutrient composition and yield of oats. *J. Plant Nutr.* 1, 365-375.
- Allan D L and Jarrell W M 1989 Proton and copper adsorption to maize and soybean root cell walls. *Plant Physiol.* 89, 823-832.
- Alva A K, Edwards D G, Asher C J and Blamey F P C 1986 Relationships between root length of soybean and calculated activities of aluminum monomers in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 959-962.
- Alva A K, Kerven G L, Edwards D G and Asher C J 1990 Reactions between aluminum and sulfate in dilute nutrient solutions with varying degrees of hydrolysis. *Soil Sci.* 150, 495-505.
- Alva A K, Edwards D G, Asher C J and Blamey F P C 1986 Effects of phosphorus/aluminum molar ratio and calcium concentrations on plant responses to aluminum toxicity. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 133-137.
- Amijee F, Stribley D P and Lane P W 1993 The susceptibility of roots to infection by an arbuscular mycorrhizal fungus in relation to age and phosphorus supply. *New Phytol.* 125, 581-586.
- Amijee F, Stribley D P and Tinker P B 1990 Soluble carbohydrates in roots of leek (*Allium porrum*) plants in relation to phosphorus supply and VA mycorrhizas. *Plant Soil* 124, 195-198.
- Amory D E and Dufey J E 1984 Adsorption and exchange of Ca, Mg and K-ions on the root cell walls of clover and rye-grass. *Plant Soil* 80, 181-190.
- Anderson A J 1988 Mycorrhizae-host specificity and recognition. *Phytopathology* 78, 375-378.
- Aniol A 1984 Induction of aluminum tolerance in wheat seedlings by low doses of aluminum in nutrient solution. *Plant Physiol.* 76, 551-555.

- Aniol A 1991 Genetics of acid tolerant plants. In Plant-Soil interactions at low pH. Eds. R J Wright *et al.* pp. 1007-1017. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Arihara A, Kumagai R, Koyama H and Ojima K 1991 Aluminum-tolerance of carrot (*Daucus carota* L.) plants regenerated from selected cell cultures. Soil Sci. Plant Nutr. 37, 699-705.
- Arp P A and Struel I 1989 Water uptake by black spruce seedlings from rooting media (solution, sand, peat) treated with inorganic and oxalated aluminum. Water Air Soil Pollut. 44, 57-70.
- Baker R E D and Simmonds N W 1951 Bananas in East Africa. Pt. I. The botanical and agricultural status of the crop. Emp. J. Exp. Agric. 19, 283-290.
- Barak P 1990 Species: A spreadsheet program for modeling chemical speciation of soil solution. J. Agron. Educ. 19, 44-46.
- Barshad I and Foscolos A E 1970 Factors affecting the rate of the interchange reaction of adsorbed H^+ on the 2:1 clay minerals. Soil Sci. 110, 52-60.
- Bernal J H and Clark R B 1997 Mineral acquisition of aluminum-tolerant and -sensitive sorghum genotypes grown with varied aluminum. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 28, 49-62.
- Bernal J H and Clark R B 1998 Growth traits among sorghum genotypes in response to aluminum. J. Plant Nutr. 21, 297-305.
- Bhattacharyya R K and Madhava Rao V N 1988 Root cation exchange capacity (CEC) of 'Robusta' banana as influenced by soil covers and soil moisture regimes. Banana Newslett. 6-7.
- Birch R G 1997 Plant transformation: problems and strategies for practical application. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 48, 297-326.
- Blamey F P C, Edmeades D C and Wheeler D M 1990 Role of root cation-exchange capacity in differential aluminum tolerance of *Lotus* species. J. Plant Nutr. 13, 729-744.
- Blamey F P C, Robinson N J and Asher C J 1992 Interspecific differences in aluminium tolerance in relation to root cation-exchange capacity. Plant Soil 146, 77-82.
- Blancaflor E B, Jones D L and Gilroy S 1998 Alterations in the cytoskeleton accompany aluminum-induced growth inhibition and morphological changes in primary roots of maize. Plant Physiol. 118, 159-172.
- Blomme G 2000 The interdependence of root and shoot development in banana (*Musa* spp.) under field conditions and the influence of different biophysical factors on this relationship. Ph. D. Thesis, Dissertationes de Agricultura n°421. Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, K.U.Leuven. pp. 183.
- Bolan N S, Robson A D and Barrow N J 1984 Increasing phosphorus supply can increase the infection of plant roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Biol. Biochem. 16, 419-420.

- Bona L, Carver B F, Wright R J and Baligar V C 1994 Aluminum tolerance of segregating wheat populations in acidic soil and nutrient solutions. Comm. Soil Sci. Plant Anal. 25, 327-339.
- Borie F and Rubio R 1999 Effects of arbuscular mycorrhizae and liming on growth and mineral acquisition of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive barley cultivars. J. Plant Nutr. 22, 121-137.
- Brenes E and Pearson R W 1973 Root responses of three Gramineae species to soil acidity in an Oxisol and an Ultisol. Soil Sci. 116, 295-302.
- Brundrett M C 1991 Mycorrhizas in natural ecosystems. Adv. Ecol. Res. 21, 171-313.
- Büscher P, Koedam N and Van Speybroeck D 1990 Cation exchange properties and adaptation to soil acidity in bryophytes. New Phytol. 115, 177-186.
- Calba H 1996 Action des racines sur la mobilisation de l'aluminium-analyse du fonctionnement d'un système modèle. Thèse de Doctorat, ENSAM, France.
- Calba H and Jaillard B 1997 Effect of aluminium on ion uptake and H^+ release by maize. New Phytol. 137, 607-616.
- Calba H, Cazevielle P and Jaillard B 1999 Modelling of the dynamics of Al and protons in the rhizosphere of maize cultivated in acid substrate. Plant Soil 209, 57-69.
- Calba H, Jaillard B, Fallavier P and Arvieu J C 1996 Agarose as a suitable substrate for use in the study of Al dynamics in the rhizosphere. Plant Soil 178, 67-74.
- Cameron R S, Ritchie G S P and Robson A D 1986 Relative toxicities of inorganic aluminum complexes to barley. Soil Sci. Soc. Am. J. 50, 1231-1236.
- Care D A 1995 The effect of aluminium concentration on root hairs in white clover (*Trifolium repens* L.). Plant Soil 171, 159-162.
- Champion J 1963 Le Bananier. Techniques Agricoles et Productions Tropicales, G.-P. Maisonneuve & Larose, Paris.
- Champion J 1968 Les bananiers et leur culture. Tome I. Botanique et génétique des bananiers. Notes et documents sur les bananiers et leur culture, Institut Français de Recherches Fruitières Outre-Mer (IFAC), SETCO, Paris.
- Champion J 1970 Culture du bananier au Rwanda. Fruits 25, 161-168.
- Chamua G S and Dey S K 1982 Cation-exchange capacity of clonal tea roots and its implications on fertiliser responses. J. Sci. Food Agric. 33:309-317.
- Cheeseman J M and Hanson J B 1979 Energy-linked potassium influx as related to cell potential in corn roots. Plant Physiol. 64, 842-845.
- Clark R B 1977 Effect of aluminum on growth and mineral elements of Al-tolerant and Al-intolerant corn. Plant Soil 47, 653-662.
- Clark R B 1997 Arbuscular mycorrhizal adaptation, spore germination, root colonization, and host plant growth and mineral acquisition at low pH. Plant Soil 192, 15-22.
- Clark R B and Zeto S K 1996 Growth and root colonization of mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. Soil Biol. Biochem. 28, 1505-1511.

- Clark R B and Zeto S K 1996 Mineral acquisition by mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. *Soil Biol. Biochem.* 28, 1495-1503.
- Clarkson D T and Sanderson J 1971 Inhibition of the uptake and long-distance transport of calcium by aluminum and other polyvalent cations. *J. Exp. Bot.* 22, 837-851.
- Conner A J and Meredith C P 1985 Strategies for the selection and characterization of aluminum-resistant variants from cell cultures of *Nicotiana plumbaginifolia*. *Planta* 166, 466-473.
- Costa de Macedo C 1998 Etude des mécanismes de résistance à la toxicité aluminique chez le riz (*Oryza sativa* L.) et caractérisation de lignées sélectionnées *in vitro*. Thèse de Doctorat, Université Catholique de Louvain, Belgique.
- Costa de Macedo C, Kinet J M and Van Sint Jan V 1997 Effects of duration and intensity of aluminium stress on growth parameters in four rice genotypes differing in aluminium sensitivity. *J. Plant Nutr.* 20, 181-193.
- Cronan C S 1991 Differential adsorption of Al, Ca and Mg by roots of red spruce (*Picea rubens* Sarg.). *Tree Physiol.* 8, 227-237.
- Cronan C S and Grigal D F 1995 Use of calcium/aluminum ratios as indicators of stress in forest ecosystems. *J. Environ. Qual.* 24, 209-226.
- Crooke W M, Knight A H 1971 Root cation-exchange capacity and organic acid content of tops as indices of varietal yield. *J. Sci. Food Agric.* 22, 389-392.
- Crooke W M, Knight A H and Macdonald I R 1960 Cation exchange properties and pectin content of storage-tissue disks. *Plant and Soil* XIII-1, 55-67.
- Cruz-Ortega R and Ownby J D 1993 A protein similar to PR (pathogenesis-related) protein is elicited by metal toxicity in wheat roots. *Physiol. Plant.* 89, 211-219.
- Cuenca G, Herrera R and Mérida T 1991 Distribution of aluminium in accumulator plants by X-ray microanalysis in *Richeria grandis* Vahl leaves from a cloud forest in Venezuela. *Plant Cell Environ.* 14, 437-441.
- Cumming J R and Weinstein L H 1990 Aluminum-mycorrhizal interactions in the physiology of pitch pine seedlings. *Plant Soil* 125, 7-18.
- Dahlgren R A, Vogt K A and Ugolini F C 1991 The influence of soil chemistry on fine root aluminum concentrations and root dynamics in a subalpine spodosol, Washington State, USA. *Plant Soil* 133, 117-129.
- Davies G 1995 Banana and plantain in the East African highlands. In *Bananas and Plantains*. Ed. S Gowen. pp 493-508. Chapman & Hall, London, UK.
- De Langhe E 1987 Towards an International strategy for genetic improvement in the genus *Musa*. In *Banana and Plantain breeding strategies: proceedings of International Workshop held at Cairns, Australia, 13-17 October 1986*. Eds. G J Persley and E A De Langhe. pp. 19-23. ACIAR Proceedings No. 21, Cairns, Australia.

- de la Fuente J M, Ramírez-Rodríguez V, Cabrera-Ponce J L and Herrera-Estrella L 1997 Aluminum tolerance in transgenic plants by alteration of citrate synthesis. *Science* 276, 1566-1568.
- Declerck S, Devos B, Delvaux B and Plenchette C 1994 Growth response of micropropagated banana plants to VAM inoculation. *Fruits* 49, 103-109.
- Declerck S, Laloux S, Sarah J L and Delvaux B 1998a Application of a flowing solution culture technique to study the parasitic fitness of the nematode *Radopholus similis* on banana plantlets under two different nitrogen nutrient regimes. *Plant Pathology* 47, 580-585.
- Declerck S, Plenchette C and Strullu D G 1995 Mycorrhizal dependency of banana (*Musa acuminata*, AAA group) cultivar. *Plant Soil* 176, 183-187.
- Declerck S, Strullu D G and Plenchette C 1998b Monoxenic culture of the intraradical forms of *Glomus* sp. isolated from a tropical ecosystem: a proposed methodology for germplasm collection. *Mycologia* 90, 579-585.
- Degenhardt J, Larsen P B, Howell L M and Kochian L V 1998 Aluminum resistance in the *Arabidopsis* mutant *alr-104* is caused by an aluminum-induced increase in rhizosphere pH. *Plant Physiol.* 117, 19-27.
- Delhaize E and Ryan P R 1995 Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiol.* 107, 315-321.
- Delhaize E, Ryan P R and Randall P J 1993 Aluminum tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). II. Aluminium-stimulated excretion of malic acid from root apices. *Plant Physiol.* 103, 695-702.
- Delvaux B 1988 Constituants et propriétés de surface des sols dérivés de pyroclastes basaltiques du Cameroun Occidental. Approche génétique de leur fertilité. Thèse de Doctorat, Université Catholique de Louvain, Belgique.
- Delvaux B 1995 Soils. In *Bananas and Plantains*. Ed. S Gowen. pp 230-257. Chapman & Hall, London, UK.
- Delvaux B. and Herbillon 1994. Alisols. In Spaargaren O. C. (Ed.) *World Reference Base for Soil Resources*. draft edition, *ISSS, ISRIC, FAO, Roma*, pp. 118-123.
- Devos P and Wilson G F 1979 Intercropping of plantains with food crops: maize, cassava and cocoyams. *Fruits* 34, 169-174.
- Díaz G, Azcón-Aguilar C and Honrubia M 1996 Influence of arbuscular mycorrhizae on heavy metal (Zn and Pb) uptake and growth of *Lygeum spartum* and *Anthyllis cytisoides*. *Plant Soil* 180, 241-249.
- Ding J P, Badot P M and Pickard B G 1993 Aluminum and hydrogen ions inhibit a mechanosensory calcium-selective cation channel. *Aust. J. Plant Physiol.* 20, 771-778.
- Drew R A, Moisaner J A and Smith M H 1989 Transmission of banana bunchy-top virus in micropropagated bananas. *Plant Cell Tissue Org. Cult.* 16, 187-193.

- Dufey J E and Braun R 1986. Cation exchange capacity of roots: titration, sum of exchangeable cations, copper adsorption. *J. Plant Nutr.* 9, 1147-1155.
- Dufey J E, Drimmer D, Lambert I and Dupont Ph 1991 Composition of root exchange sites in acidic soil solutions. *In* Plant roots and their environment. Eds B L McMichael and H Persson. pp. 31-38. Proceedings of the Int. Soc. of Roots Res. Congress, Uppsala, Sweden. 22-26 August 1988, Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, The Netherlands
- Dufey J E, Genon J E, Jaillard B, Calba H, Rufyikiri G and Delvaux B 1999 Cation exchange on plant roots involving aluminium: experimental data and modelling. *In* Trace elements in the rhizosphere. Eds. G R Gobran *et al.* CRC Press LLC, USA. In press.
- Fageria N K and Santos A B 1998 Rice and common bean growth and nutrient concentration as influenced by aluminum on an acid lowland soil. *J. Plant Nutr.* 21, 903-912.
- Flores C I, Clark R B and Gourley L M 1988 Growth and yield of sorghum grown on acid soil at varied aluminum saturations. *Plant Soil* 106, 49-57.
- Foy C D 1974 Effects of aluminum on plant growth. *In* The plant root and its environment. Ed. E W Carson. pp 601-642. Univ. Press of Virginia, Charlottesville.
- Foy C D 1984 Physiological effects of hydrogen, aluminum and manganese toxicities in acid soils. *In* Soil acidity and liming. Second Edition. Ed. F Adams. pp 57-97. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA.
- Foy C D 1988 Plant adaptation to acid, aluminum toxic soils. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 19, 959-987.
- Foy C D and Murray J J 1998 Response of kentucky bluegrass cultivars to excess aluminum in nutrient solutions. *J. Plant Nutr.* 21, 1967-1983.
- Foy C D, Fleming A L and Armiger W H 1969 Aluminum tolerance of soybean varieties in relation to calcium nutrition. *Agron. J.* 61, 505-511.
- Foy C D, Fleming A L and Gerloff G C 1972 Differential aluminum tolerance in two snapbean varieties. *Agron. J.* 64, 815-818.
- Foy C D, Fleming A L, Burns G R and Armiger W H 1967 Characterization of differential aluminum tolerance among varieties of wheat and barley. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 31, 513-521.
- Frankart R 1985 Evolution des sols humifères d'altitude du Rwanda et du Burundi sous l'action anthropique. Actes du Dixième Forum International sur Soil Taxonomy et les Transferts d'Agrotechnologie. Pub. Agri. no. 10, AGCD, p. 193-196.
- Furlani P R and Clark R B 1981 Screening sorghum for aluminum tolerance in nutrient solutions. *Agron. J.* 73, 587-594.
- Gahoonia T S 1993 Influence of root-induced pH on the solubility of soil aluminium in the rhizosphere. *Plant Soil* 149, 289-291.

- Gahoonia T S, Claassen N and Jungk A 1992 Mobilisation of phosphate in different soils by ryegrass supplied with ammonium or nitrate. *Plant Soil* 140, 241-248.
- Galvez L and Clark R B 1991 Nitrate and ammonium uptake and solution pH changes for Al-tolerant and Al-sensitive sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes grown with and without aluminium. *Plant Soil* 134, 179-188.
- Genon J 1998 Modelling base cation exchange with an intrinsic dissociation constants model. Application to model compounds and acid forest soils. UCL Louvain-La-Neuve. Thèse de Doctorat.
- Gibrat R, Grouzis J P, Rigaud J, Galtier N and Grignon C 1989 Electrostatic analysis of effects of ions on the inhibition of corn root plasma membrane Mg-ATPase by the bivalent orthovanadate. *Biochim. Biophys. Acta* 979, 46-52.
- Gijsman A J 1990 Rhizosphere pH along different root zones of douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*), as affected by source of nitrogen. *In* Plant nutrition-physiology and applications. Ed. M L van Beusichem. pp 45-51. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Godbold D L and Jentschke G 1998 Aluminium accumulation in root cell walls coincides with inhibition of root growth but not inhibition of magnesium uptake in Norway spruce. *Physiol. Plant.* 102, 553-560.
- Godefroy J and Dormoy M 1983 Dynamique des éléments minéraux fertilisants dans les sols des bananeraies martiniquaises. *Fruits* 38, 373-387.
- Godefroy J, Rutunga V and Sebahutu A 1991 Les terres de bananeraies dans la région de Kibungu au Rwanda: résultantes du milieu physique et des systèmes de culture. *Fruits* 46, 109-124.
- Gourley L M, Rogers S A, Ruiz-Gomez C and Clark R B 1990 Genetic aspects of aluminum tolerance in sorghum. *Plant Soil* 123, 211-216.
- Grauer U E and Horst W J 1990 Effect of pH nitrogen source on aluminium tolerance of rye (*Secale cereale* L.) and yellow lupin (*Lupinus luteus* L.). *Plant Soil* 127, 13-21.
- Grauer U E and Horst W J 1992 Modeling cation amelioration of aluminum phytotoxicity. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 166-172.
- Gregory P J and Hinsinger P 1999 New approaches to studying chemical and physical changes in the rhizosphere: an overview. *Plant Soil* 211, 1-9.
- Hallam D 1995 The world banana economy. *In* Bananas and Plantains. Ed. S Gowen. pp 258-316. Chapman & Hall, London, UK.
- Hayman D S 1983 The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis. *Can. J. Bot.* 61, 944-963.
- Haynes R J 1980 Ion exchange properties of roots and ionic interactions within the root apoplasm: their role in ion accumulation by plants. *Bot. Rev.* 46, 75-99.
- Haynes R J 1990 Active ion uptake and maintenance of cation-anion balance: a critical examination of their role in regulating rhizosphere pH. *Plant Soil* 126, 247-264.

- Haynes R J and Ludecke T E 1981 Yield, root morphology and chemical composition of two pasture legumes as affected by lime and phosphorus applications to an acid soil. *Plant Soil* 62, 241-254.
- Higinbotham N 1973 The mineral absorption process in plants. *Bot. Rev.* 99, 15-69.
- Hinsinger P and Gilkes R J 1995 Root-induced dissolution of phosphate rock in the rhizosphere of Lupins grown in alkaline soil. *Aust. J. Soil Res.* 33, 477-489.
- Hinsinger P and Jaillard B 1993 Root-induced release of interlayer potassium and vermiculitization of phlogopite as related to potassium depletion in the rhizosphere of ryegrass. *J. Soil Sci.* 44, 525-534.
- Hinsinger Ph, Dufey J.E. and Jaillard B. 1991 Biological weathering of micas in the rhizosphere as related to potassium absorption by plant roots. *In Plant roots and their environment*. Eds B L McMichael and H Persson. pp. 98-105. Proceedings of the Int. Soc. of Roots Res. Congress, Uppsala, Sweden. 22-26 August 1988, Elsevier Sci. Publ., Amsterdam, the Netherlands.
- Hinsinger Ph, Elsass F., Jaillard B. and Robert M. 1993 Root-induced irreversible transformation of a trioctahedral mica in the rhizosphere of rape. *J. Soil Sci.* 44, 535-545.
- Hinsinger Ph, Jaillard B. and Dufey J.E. 1992 Rapid weathering of a trioctahedral mica by the roots of Ryegrass. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 977-982.
- Horst W J 1985 Quick screening of cowpea (*Vigna unguiculata*) genotypes for aluminium tolerance in an aluminium-treated acid soil. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 148, 335-348.
- Horst W J 1995 The role of the apoplast in aluminium toxicity and resistance of higher plants: a review. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 158, 419-428.
- Horst W J, Asher C J, Cakmak I, Szalkiewicz P and Wissemeyer A H 1992 Short-term responses of soybean roots to aluminium. *J. Plant Physiol.* 140, 174-178.
- Howeler R H, Sieverding E and Saif S 1987 Practical aspects of mycorrhizal technology in some tropical crops and pastures. *Plant Soil* 100, 249-283.
- Howell E C, Newbury H J, Swennen R L, Withers L A and Ford-Lloyd B V 1994 The use of RAPD for identifying and classifying *Musa* germplasm. *Genome* 37, 328-332.
- Huang J W, Grunes D L and Kochian L V 1994 Voltage-dependent Ca^{2+} influx into right-side-out plasma membrane vesicles isolated from wheat roots: characterization of a putative Ca^{2+} channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 3473-3477.
- Huang J W, Shaff J E, Grunes D L and Kochian L V 1992 Aluminum effects on calcium fluxes at the root apex of aluminum-tolerant and aluminum-sensitive wheat cultivars. *Plant Physiol.* 98, 230-237.
- Hue N V, Craddock G R, Adams F 1986 Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 28-34.

- Ishikawa S and Wagatsuma T 1998 Plasma membrane permeability of root-tip cells following temporary exposure to Al ions is a rapid measure of Al tolerance among plant species. *Plant Cell Physiol.* 39, 516-525.
- Israeli Y, Lahav E and Reuveni O 1995 *In vitro* culture of bananas. *In Bananas and Plantains*. Ed. S Gowen. pp 147-178. Chapman & Hall, London, UK.
- Jaizme-Vega M C and Azcon R 1995 Response of some tropical and subtropical cultures to endomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 5, 213-217.
- Jentschke G, Brandes B, Heinzemann J, Marschner P and Godbold D L 1999 Sand culture of mycorrhizal plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 162, 107-112.
- Jones D L and Darrah P R 1994 Role of root derived organic acids in the mobilization of nutrients from the rhizosphere. *Plant Soil* 166, 247-257.
- Keltjens W G 1995 Magnesium uptake by Al-stressed maize plants with special emphasis on cation interactions at root exchange sites. *Plant Soil* 171, 141-146.
- Kinniburgh D G, Milne C J, Benedetti M F, Pinheiro J P, Filius J, Koopal L K and van Riemsdijk W H 1996 Metal ion binding by humic acid: application of the NICA-Donnan model. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1687-1698.
- Kinraide T B 1991 Identity of the rhizotoxic aluminium species. *Plant Soil* 134, 167-178.
- Kinraide T B 1994 Use of a Gouy-Chapman-Stern model for membrane-surface electrical potential to interpret some features of mineral rhizotoxicity. *Plant Physiol.* 106, 1583-1592.
- Kinraide T B and Parker D R 1987 Cation amelioration of aluminum toxicity in wheat. *Plant Physiol.* 83, 546-551.
- Kinraide T B and Parker D R 1990 Apparent phytotoxicity of mononuclear hydroxy-aluminum to four dicotyledonous species. *Physiol. Plant.* 79, 283-288.
- Kinraide T B, Arnold R C and Baligar V C 1985 A rapid assay for aluminium phytotoxicity at submicromolar concentrations. *Physiol. Plant.* 65, 245-250.
- Kinraide T B, Ryan P R and Kochian L V 1992 Interactive effects of Al^{3+} , H^{+} , and other cations on root elongation considered in terms of cell-surface electrical potential. *Plant Physiol.* 99, 1461-1468.
- Kirlew P W and Bouldin D R 1987 Chemical properties of the rhizosphere in an acid subsoil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51, 128-132.
- Kochian L V 1995 Cellular mechanisms of aluminum toxicity and resistance in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46, 237-260.
- Konishi S and Miyamoto S 1983 Alleviation of aluminum stress and stimulation of tea pollen tube growth by fluorine. *Plant Cell Physiol.* 24, 857-862.
- Koslowsky S D and Boerner R E 1989 Interactive effects of aluminum, phosphorus and mycorrhizae on growth and nutrient uptake of *Panicum virgatum* L. (Poaceae). *Environ. Pollut.* 61, 107-125.

- Krizek D K, Foy C D and Mirecki R M 1997 Influence of aluminum stress on shoot and root growth of contrasting genotypes of coleus. *J. Plant Nutr.* 20, 1045-1060.
- Kruger E and Sucoff E 1989 Aluminium and hydraulic conductivity of *Quercus rubra* L. root systems. *J. Exp. Bot.* 40, 659-665.
- Lahav E 1995 Banana nutrition. In Bananas and Plantains. Ed. S Gowen. pp 258-316. Chapman & Hall, London, UK.
- Lahav E and Turner D W 1983 Banana nutrition. Bull. 7. International Potash Institute, Worblaufen-Bern, Switzerland.
- Lambais M R and Cardoso E J B N 1990 Response of *Stylosanthes guianensis* to endomycorrhizal fungi inoculation as affected by lime and phosphorus applications. I. Plant growth and development. *Plant Soil* 129, 283-289.
- Lambais M R and Cardoso E J B N 1993 Response of *Stylosanthes guianensis* to endomycorrhizal fungi inoculation as affected by lime and phosphorus applications. II. Nutrient uptake. *Plant Soil* 150, 109-116.
- Lamont B 1982 Mechanisms for enhancing nutrient uptake in plants, with particular reference to mediterranean South Africa and Western Australia. *Bot. Rev.* 48, 597-689.
- Lance J C and Pearson R W 1969 Effect of low concentrations of aluminum on growth and water and nutrient uptake by cotton roots. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 33, 95-98.
- Larsen P B, Degenhardt J, Chin-Yin Tai, Stenzler L M, Howell S H and Kochian L V 1998 Aluminum-resistant Arabidopsis mutants that exhibit altered patterns of aluminum accumulation and organic acid release from roots. *Plant Physiol.* 117, 9-18.
- Lazof D B, Goldsmith J G, Rufty T W and Linton R W 1994 Rapid uptake of aluminum into cells of intact soybean root tips: a microanalytical study using secondary ion mass spectrometry. *Plant Physiol.* 106, 1107-1114.
- Lee C R 1971 Influence of aluminum on plant growth and tuber yield of potatoes. *Agron. J.* 63, 363-364.
- Lin C H and Chang D C N 1987 Effect of three *Glomus* endomycorrhizal fungi on the growth of micropropagated banana plantlets. *Transactions of Mycological Society* 2, 37-45.
- Lindsay W L 1979 Chemical equilibria in soils. John & Wiley, New York, USA. 449 p.
- Lösch R 1989 Plant water relations. *Prog. Bot.* 50, 27-50.
- Loss S P, Robson A D and Ritchie G S P 1993 H^+/OH^- excretion and nutrient uptake in upper and lower parts of lupin (*Lupinus angustifolius* L.) root systems. *Ann. Bot.* 72, 315-320.
- Ma J F, Hiradate S and Matsumoto H 1998 High aluminum resistance in buckwheat. II. Oxalic acid detoxifies aluminum internally. *Plant Physiol.* 117, 753-759.

- Ma J F, Hiradate S, Nomoto K, Iwashita T and Matsumoto H 1997 Internal detoxification mechanism of Al in Hydrangea. Identification of Al form in the leaves. *Plant Physiol.* 113, 1033-1039.
- Malajczuk N and Cromack K 1982 Accumulation of calcium oxalate in the manthe of ectomycorrhizal roots of *Pinus radiata* and *Eucalyptus marginata*. *New Phytol.* 92, 527-531.
- Marienfeld S, Lehmann H and Stelzer R 1995 Ultrastructural investigations and EDX-analyses of Al-treated oat (*Avena sativa*) roots. *Plant Soil* 171, 167-173.
- Marschner H 1991 Mechanisms of adaptation of plants to acid soils. *Plant Soil* 134, 1-20.
- Marschner H 1995 Mineral nutrition of higher plants. 2nd Ed. Academic Press. London, UK.
- Marschner H and Dell B 1994 Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis. *Plant Soil* 159, 89-102.
- Marschner H et Römhild V 1983 In vivo measurement of root-induced pH changes at the soil-root interface: effet of plant species and nitrogen source. *Z. Pflanzenernaehr* Bd. 111, 241-251.
- Martin R B 1988 Bioinorganic chemistry of aluminum. In Metal ions in biological systems: aluminum and its role in biology. Vol. 24. Eds. Sigel H and A Sigel. pp. 2-57. Marcel Dekker, New York.
- Martin-Prével P 1980 La nutrition minérale du bananier dans le monde. Première partie. *Fruits* 35, 503-518.
- Matsumoto H, Hirasawa E, Morimura S and Takahashi E 1976 Localisation of aluminium in tea leaves. *Plant Cell Physiol.* 17, 627-631.
- McLaughlin S 1989 The electrostatic properties of membranes. *Annu. Rev. Biophys. Chem.* 18, 113-136.
- Medeiros C A B, Clark R B and Ellis J R 1995 Effects of excess aluminium and manganese on growth and phosphorus nutrition of mycorrhizal sorghum grown under acidic conditions. In Plant-Soil interactions at low pH: principles and management. Eds. R A Date, N J Grundon, G E Rayment and M E Probert. pp. 193-199. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Mendoza J and Borie F 1998 Effect of *Glomus etunicatum* inoculation on aluminum, phosphorus, calcium, and magnesium uptake of two barley genotypes with different aluminum tolerance. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 29, 681-695.
- Mengel K and Kirkby E A 1982 Principles of plant nutrition. 3rd Edition. International Potash Institute, Bern, Switzerland.
- Mercy M A, Shivashankar G and Bagyaraj D J 1990 Mycorrhizal colonization in cowpea is host dependent and heritable. *Plant Soil* 121, 292-294.
- Miller M H and McGonigle T P 1992 Soil disturbance and the effectiveness of arbuscular mycorrhizas in an agricultural ecosystem. In Mycorrhizas in ecosystems. Eds. D J

- Read, D H Lewis, A H Fitter and I J Alexander. pp. 156-163. CAB International, Wallingford, UK.
- Miller R J 1965 Mechanisms for hydrogen to aluminum transformations in clays. *Soil Sci. Soc. Proc.* 36-39.
- Miyasaka S C, Buta J G, Howell R K and Foy C D 1991 Mechanism of aluminum tolerance in snapbeans. Root exudation of citric acid. *Plant Physiol.* 96, 737-743.
- Mobambo K N, Gauhl F, Vuylsteke D, Ortiz R, Pasberg-Gauhl C and Swennen R 1993 Yield loss in plantain from black sigatoga leaf spot and field performance of resistant hybrids. *Field Crops Res.* 35, 35-42.
- Moorby H, Nye P H and White R E 1985 The influence of nitrate nutrition on H^+ efflux by young rape plants (*Brassica napus* cv. emerald). *Plant Soil* 84, 403-415.
- Morton J B and Benny G L 1990 Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, *Glomales*, two new suborders, *Glomineae* and *Gigasporineae*, and two new families, *Acaulosporaceae* and *Gigasporaceae*, with an emendation of *Glomaceae*. *Mycotaxon* 37, 471-491.
- Mugwira L M and Elgawhary S M 1979 Aluminum accumulation and tolerance of tritical and wheat in relation to root cation exchange capacity. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 43:736-740.
- Murányi A, Seeling B, Ladewig E and Jungk A 1994 Acidification in the rhizosphere of rape seedlings and in bulk soil by nitrification and ammonium uptake. *Z. Pflanzenernähr. Boden.* 157, 61-65.
- Neilson R P and Marks D 1994 A global perspective of regional vegetation and hydrologic sensitivities from climatic change. *J. Veget. Sci.* 5, 715-730.
- Nelson L E 1983 Tolerances of 20 rice cultivars to excess Al and Mn. *Agron. J.* 75, 134-138.
- Newman E I 1973 Permeability to water of the roots of five herbaceous species. *New Phytol.* 72, 547-555.
- Noble A D, Fey M V and Sumner M E 1988 Calcium-aluminum balance and the growth of soybean roots in nutrient solutions. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 1651-1656.
- Nurlaeny N, Marschner H and George E 1996 Effects of liming and mycorrhizal colonization on soil phosphate depletion and phosphate uptake by maize (*Zea mays* L.) and soybean (*Glycine max* L.) grown in two tropical acid soils. *Plant Soil* 181, 275-285.
- Nweke F I, Njoku J E and Wilson G F 1988 Productivity and limitations of plantain (*Musa* spp. cv AAB) production in compound gardens in southeastern Nigeria. *Fruits* 43, 161-166.
- Nye P H 1981 Changes of pH across the rhizosphere induced by roots. *Plant Soil* 61, 7-26.
- Ohno T 1989 Rhizosphere pH and aluminum chemistry of red oak and honeylocust seedlings. *Soil Biol. Biochem.* 21, 657-660.

- Ojala J C and Jarrell W M 1980 Hydroponic sand culture system for mycorrhizal research. *Plant Soil* 57, 297-303.
- Ortiz R, Ferris R S B and Vuylsteke D R 1995 Banana and plantain breeding. In *Bananas and Plantains*. Ed. S Gowen. pp 110-146. Chapman & Hall, London, UK.
- Ownby J D and Popham H R 1989 Citrate reverses the inhibition of wheat root growth caused by aluminum. *J. Plant Physiol.* 135, 588-591.
- Pacovsky R S, Fuller G and Paul E A 1985 Influence of soil on the interactions between endomycorrhizae and *Azospirillum* in sorghum. *Soil Biol. Biochem.* 17, 525-531.
- Pan W L, Hopkins A G and Jackson W A 1989 Aluminum inhibition of shoot lateral branches of *Glycine max* and reversal by exogenous cytokinin. *Plant Soil* 120, 1-9.
- Parker D R 1995 Root growth analysis: an underutilised approach to understanding aluminium rhizotoxicity. *Plant Soil* 171, 151-157.
- Parker D R and Pedler J F 1998 Probing the "malate hypothesis" of differential aluminum tolerance in wheat by using other rhizotoxic ions as proxies for Al. *Planta* 205, 389-396.
- Parra-Garcia M D, Lo Giudice V and Ocampo J A 1992 Absence of VA colonization in *Oxalis pes-caprae* inoculated with *Glomus mosseae*. *Plant Soil* 145, 298-300.
- Pavan M A and Bingham F T 1982 Toxicity of aluminum to coffee seedlings grown in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46, 993-997.
- Pellet D M, Papernik L A and Kochian L V 1996 Multiple aluminum-resistance mechanisms in wheat: Roles of root apical phosphate and malate exudation. *Plant Physiol.* 112, 591-597.
- Perrin R 1990 Interactions between mycorrhizae and diseases caused by soil-borne fungi. *Soil Use Manag.* 6, 189-195.
- Phillips J M and Hayman D S 1970 Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of the British Mycological Society* 55, 158-161.
- Plenchette C and Morel C 1996 External phosphorus requirements of mycorrhizal and non mycorrhizal barley and soybean plants. *Biology and fertility of soils* 21, 303-308.
- Plenchette C, Fortin J A and Furlan V 1983 Growth response of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions. *Plant Soil* 70, 199-209.
- Plette A C C, van Riemsdijk W H, Benedetti M F and van der Wal A 1995 pH dependent charging behavior of isolated cell walls of a Gram-positive soil bacterium. *J. Colloid Interface Sci.* 173, 354-363.
- Price N S 1995 The origin and development of banana and plantain cultivation. In *Bananas and Plantains*. Ed. S Gowen. pp 1-13. Chapman & Hall, London, UK.
- Rao N M and Edmund J E 1984 A review of banana/plantain cropping systems. *Fruits* 39, 79-88.

- Rengel Z 1990 Net Mg^{2+} uptake in relation to the amount of exchangeable Mg^{2+} in the Donnan free space of ryegrass roots. *Plant Soil* 128, 185-189.
- Rengel Z 1992 Role of calcium in aluminium toxicity. *New Phytol.* 121, 499-513.
- Rengel Z 1996 Uptake of aluminium by plant cells. *New Phytol.* 134, 389-406.
- Rengel Z and Robinson D L 1989a Aluminum and plant age effects on adsorption of cations in the Donnan free space of ryegrass roots. *Plant Soil* 116, 223-227.
- Rengel Z and Robinson D L 1989b Competitive Al^{3+} inhibition of net Mg^{2+} uptake by intact *Lolium multiflorum* roots. I. Kinetics. *Plant Physiol.* 91, 1407-1413.
- Rengel Z and Robinson D L 1989c Determination of cation exchange capacity of ryegrass roots by summing exchangeable cations. *Plant Soil* 116, 217-222.
- Rhue R D and Grogan C O 1977 Screening corn for Al tolerance using different Ca and Mg concentrations. *Agron. J.* 69, 755-760.
- Righi D, Räisänen M L and Gillot F 1997 Clay mineral transformations in podzolized tills in central Finland. *Clay Mineral* 32, 531-544.
- Rishirumuhirwa T 1997a Rôle du bananier dans le fonctionnement des exploitations agricoles des hauts plateaux d'Afrique de l'Est (Application au cas de la région du Kirimiro - Burundi). Thèse de doctorat. Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Lausanne, Suisse.
- Rishirumuhirwa T 1997b Rôle du bananier dans le fonctionnement des exploitations agricoles des hauts plateaux d'Afrique de l'Est: Application au cas de la région du Kirimiro - Burundi. *Infomusa* 6 27-30.
- Ritchie G S P 1995 Soluble aluminium in acidic soils: Principles and practicalities. *Plant Soil* 171, 17-27.
- Roberts T M, Skeffington R A and Blank L W 1989 Causes of type 1 spruce decline in Europe. *Forestry* 62, 179-222.
- Robinson J C 1990 A field comparison of conventional suckers with in vitro-derived banana planting material in the first crop cycle. *Acta Horticulturae* 275, 181-187.
- Rodriguez-Garcia J, Rivera E and Abruna F 1985 Crop response to soil acidity factors in ultisols and oxisols in Puerto Rico. 14. Plantains and bananas. *J. Agric. Univ. Puerto Rico*, 69, 377-382.
- Rollwagen B A and Zasoski R J 1988 Nitrogen source effects on rhizosphere pH and nutrient accumulation by Pacific Northwest conifers. *Plant Soil* 105, 79-86.
- Roose E 1981 Dynamique actuelle des sols ferrallitiques et ferrugineux tropicaux d'Afrique Occidentale. Etude expérimentale des transferts hydrologiques et biologiques de matières sous végétations naturelles ou cultivées. Travaux et Documents de l'O.R.S.T.O.M. N°130. ORSTOM, Paris.
- Ruhigwa B A, Gichuru M P, Spencer D S C and Swennen R 1994 Economic analysis of cut-and-carry, and alley cropping systems of mulch production for plantains in south-eastern Nigeria. *Agroforestry Systems* 26, 131-138.

- Ruhigwa B A, Gichuru M P, Swennen T and Tariah N M 1995 Plantain production in an alley cropping system on an ultisol in Southeastern Nigeria. *In* Alley farming research and development: Proceedings of the International Conference on Alley Farming held at Ibadan, Nigeria, 14-18 September 1992. Eds. B T Kang, A O Osiname and A Larbi. Produced by the Alley Farming Network for Tropical Africa, in collaboration with the International Institute of Tropical Agriculture, the International Centre for Research in Agroforestry and the International Livestock Research Institute, Ibadan, Nigeria.
- Ryan P R, Delhaize E and Randall P J 1995 Characterisation of Al-stimulated efflux of malate from the apices of Al-tolerant wheat roots. *Planta* 196, 103-110.
- Ryan P R, DiTomaso J M and Kochian L V 1993 Aluminium toxicity in roots: an investigation of spatial sensitivity and the role of the root cap. *J. Exp. Bot.* 44, 437-446.
- Ryan P R, Shaff J E and Kochian L V 1992 Aluminum toxicity in roots. Correlation among ionic currents, ion fluxes, and root elongation in aluminum-sensitive and aluminum-tolerant wheat cultivars. *Plant Physiol.* 99, 1193-1200.
- Sanzonowicz C, Smyth T J and Israel D W 1998 Calcium alleviation of hydrogen and aluminum inhibition of soybean root extension from limed soil into subsurface solutions. *J. Plant Nutr.* 21, 785-804.
- SAS institute, Inc. 1985 SAS user's guide: Statistics. 5th ed. SAS Inst., Cary, NC, USA.
- Sebasigari K 1987 Morphological taxonomy of '*Musa*' in Eastern Africa. *In* Banana and Plantain breeding strategies: proceedings of International Workshop held at Cairns, Australia, 13-17 October 1986. Eds. G J Persley and E A De Langhe. pp. 172-176. ACIAR Proceedings No. 21, Cairns, Australia.
- Sebasigari K 1990 Principaux caractères de détermination dans la caractérisation morphologique des bananiers triploïdes *Acuminata* d'Afrique de l'Est. *In* Identification of genetic diversity in the genus *Musa*: Proceedings of an international workshop held at Los Baños, Philippines, 5-10 September 1988. Ed. R L Jarret. pp. 124-139. INIBAP, France.
- Sentenac H and Grignon C 1981 A model for predicting ionic equilibrium concentrations in cell walls. *Plant Physiol.* 68, 415-419.
- Sentenac H and Grignon C 1985 Effect of pH on orthophosphate uptake by corn roots. *Plant Physiol.* 77, 136-141.
- Shainberg I, Low P F and Kafkafi U 1974 Electrochemistry of sodium-montmorillonite suspensions: I. Chemical stability of montmorillonite. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 38, 751-756.
- Sharrock S and Frison E 1999 *Musa* production around the world - trends, varieties and regional importance. *In* Networking banana and plantain: INIBAP annual report 1998. Ed. INIBAP. pp. 42-47. International Network for the Improvement of Banana and Plantain, Montpellier, France.

- Shepherd K 1957 Banana cultivars in East Africa. *Trop. Agric.*, Trinidad 34, 277-286.
- Shuman L M and Duncan R R 1990 Soil exchangeable cations and aluminium measured by ammonium chloride, potassium chloride, and ammonium acetate. *Soil Sci. Plant Anal.* 21, 1217-1228.
- Simmonds N and Shepherd K 1955 Taxonomy and origins of cultivated bananas. *J. Linnean Soc. Bot.* 55, 302-312.
- Simmonds N W 1966 Bananas. (2nd ed.). Tropical Agricultural Series. Longman, UK.
- Simmonds N W 1987 Classification and breeding of Bananas. In *Banana and Plantain breeding strategies: proceedings of International Workshop held at Cairns, Australia, 13-17 October 1986*. Eds. G J Persley and E A De Langhe. pp. 69-73. ACIAR Proceedings No. 21, Cairns, Australia.
- Stover R H and Simmonds N W 1987 Bananas. (3rd ed.). Tropical Agricultural Series. Longman, London.
- Sivaguru M and Horst W J 1998 The distal part of the transition zone is the most aluminum-sensitive apical root zone of maize. *Plant Physiol.* 116, 155-163.
- Sivaguru M, Baluska F, Volkman D, Felle H H and Horst W J 1999 Impacts of aluminum on cytoskeleton of the maize root apex. Short-term effects on the distal part of the transition zone. *Plant Physiol.* 119, 1073-1082.
- Smith S E 1980 Mycorrhizas of autotrophic higher plants. *Biological of the Cambridge Phylosophy Society* 55, 475-510.
- Smith S E and Read D J 1997 Mycorrhizal symbiosis. 2nd ed. Academic Press, Inc., San Diego. 605 pp.
- Spain J M, Francis C A, Howeler R H and Calvo F 1975 Differential species and varietal tolerance to soil acidity in tropical crops and pastures. In *Soil Management in Tropical America*. Eds. E Bornemisza and A Alvarado. pp. 308-329. North Carolina State University, Raleigh.
- Spehar C R and Galwey N W 1996 Diallel analysis for aluminium tolerance in tropical soybean (*Glycine max* L. Merrill). *Theor. Appl. Genet.* 92, 267-272.
- Staß A and Horst W J 1995 Effect of aluminium on membrane properties of soybean (*Glycine max*) cells in suspension culture. *Plant Soil* 171, 113-118.
- Steudle E and Frensch J 1996 Water transport in plants: Role of the apoplast. *Plant Soil* 187, 67-79.
- Steudle E and Henzler T 1995 Water channels in plants: do basic principles of water transport change. *J. Exp. Bot.* 46, 1067-1076.
- Steudle E and Jeschke W D 1983 Water transport in barley roots. Measurements of root pressure and hydraulic conductivity of roots in parallel with turgor and hydraulic conductivity of root cells. *Planta* 158, 237-248.

- Steudle E, Oren R and Schulze E-D 1987 Water transport in maize roots. Measurement of hydraulic conductivity, solute permeability, and of reflection coefficients of excised roots using the root pressure probe. *Plant Physiol.* 84, 1220-1232.
- Stover R H 1987 Somaclonal variation in Grande Naine and Saba bananas in the nursery and field. In *Banana and Plantain breeding strategies: proceedings of International Workshop held at Cairns, Australia, 13-17 October 1986*. Eds. G J Persley and E A De Langhe. pp. 136-139. ACIAR Proceedings No. 21, Cairns, Australia.
- Stover R H and Simmonds N W 1987. Bananas. *Tropical agriculture series, third Edition*. Longman Scientific et technical, 468 pp.
- Swenn R 1990 Plantain cultivation under West African conditions. A reference manual. IITA, Ibadan, Nigeria. 24 p.
- Swennen R 1990 Limits of morphotaxonomy: names and synonyms of plantain in Africa and elsewhere. pp. 172-210. In *The identification of genetic diversity in the genus Musa: Proceedings of an International Workshop*. Los Baños, Philippines, 5-10 September 1988. Ed. R L Jarret. INIBAP, Montpellier, France.
- Swennen R and De Langhe E 1985 Growth parameters of yield of plantain (*Musa* cv. AAB). *Annals of Botany* 56:197-204.
- Swennen R and Rosales F 1994 Bananas. In *Encyclopedia of agricultural science*, Volume 1. Ed. C J Arntzen and E M Ritter. pp. 215-232. Academic Press, Inc., San Diego, California.
- Swennen R and Vuylsteke D 1987 Morphological taxonomy of Plantain (*Musa* cultivars AAB) in West Africa. In *Banana and Plantain breeding strategies: proceedings of International Workshop held at Cairns, Australia, 13-17 October 1986*. Eds. G J Persley and E A De Langhe. pp. 165-171. ACIAR Proceedings No. 21, Cairns, Australia.
- Swennen R and Vuylsteke D 1991 Bananas in Africa: diversity, uses and prospects for improvement. In *Crop genetic resources of Africa, Vol. 2*. Eds. N Q Ng *et al.* pp. 151-160. Proceedings of an International Conference, Ibadan, Nigeria, October 1988. IITA, IBPGR, UNEP, CNR. Trinity Press, UK.
- Swennen R, Wilson G F and Decoene D 1988 Priorities for future research on the root system and corn in plantains and bananas in relation with nematodes and the banana weevil. pp. 91-96. In *Nematodes and the Borer Weevil in Bananas: present status of research and outlook*. Proceedings of a workshop. Bujumbura, Burundi, 7-11 December 1987. INIBAP, Montpellier, France.
- Szepesi A 1997 Forest health status in Hungary. *Environ. Pollut.* 98, 393-398.
- Tan K, Keltjens W G and Findenegg G R 1992 Aluminium toxicity with sorghum genotypes in nutrient solutions and its amelioration by magnesium. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 155, 81-86.

- Tang Van Hai, Houben V, Nzok Mbouti C and Dufey J E 1993 Diagnostic précoce de la résistance de cultivars de riz (*Oryza sativa* L.) à la toxicité aluminique. *Agron.* 13, 853-860.
- Tang Van Hai, Truong Thi Nga and Laudelout H 1989 Effect of aluminium on the mineral nutrition of rice. *Plant Soil* 114, 173-185.
- Taylor G J 1995 Overcoming barriers to understanding the cellular basis of aluminium resistance. In *Plant Soil interactions at low pH*. Eds. R A Date *et al.* pp. 255-269. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Taylor H M 1983 Managing root systems for efficient water use: an overview. In *Limitations to efficient water use in crop production*. Eds. Taylor *et al.* pp. 89-113. ASA, CSSA, SSSA, Madison, WI, USA.
- Tezenas du Montcel H and Devos P 1978 Proposal for establishing a plantain determination card. *Paradisiaca* (Ibadan, Nigeria) 3, 14-17.
- Thomson B D, Robson A D and Abbott L K 1990 Mycorrhizas formed by *Gigaspora calospora* and *Glomus fasciculatum* on subterranean clover in relation to soluble carbohydrate concentrations in roots. *New Phytol.* 114, 217-225.
- Tice K R, Parker D R and De Mason D A 1992 Operationally defined apoplastic and symplastic aluminum fractions in root tips of Al-intoxicated wheat. *Plant Physiol.* 100, 309-318.
- Tipping E 1994 WHAM - a chemical equilibrium model and computer code for waters, sediments, and soils incorporating a discrete site/electrostatic model of ion-binding by humic substances. *Computer Geosci.* 20, 973-1023.
- Turner D W 1995 The response of the plant to the environment. In *Bananas and Plantains*. Ed. S Gowen. pp 493-508. Chapman & Hall, London, UK.
- Turner D W and Barkus B A 1992 An empirical relationship between climate nutrition and nutrient concentrations in banana leaves. *Fruits* 35, 151-158.
- Turner D W and Lahav E 1985 Temperature influences the distribution of some nutrients in young banana plants independently of its effect on dry matter. *Scientia Hort.* 28, 47-58.
- Tyerman S D and Schachtman D P 1992 The role of ion channels in plant nutrition and prospects for their genetic manipulation. *Plant Soil* 146, 137-144.
- Tyerman S D, Bohnert H J, Maurel C, Steudle E and Smith J A C 1999 Plant aquaporins: their molecular biology, biophysics and significance for plant water relations. *J. Exp. Bot.* 150, 1055-1071.
- Umesch K C, Krishnappa K and Bagyaraj D J 1989 Interaction of *Radopholus similis* with *Glomus fasciculatum* in banana. *J. Nemat.* 21, 592-593.
- Van Olphen H and Fripiat J J (eds) 1979. Data handbook for clay materials and other non-metallic minerals. Pergamon Press Inc.

- Van Praag H J, Weissen F, Dreze P and Cogneau M 1997 Effects of aluminium on calcium and magnesium uptake and translocation by root segments of whole seedlings of Norway spruce (*Picea abies* Karst). *Plant Soil* 189, 267-273.
- Van Sint Jan V, Costa de Macedo C, Kinet J M and Bouharmont J 1997 Selection of Al-resistant plants from a sensitive rice cultivar, using somaclonal variation, *in vitro* and hydroponic cultures. *Euphytica* 97, 303-310.
- Vázquez M D, Poschenrieder C, Corrales I and Barceló J 1999 Change in apoplastic aluminum during the initial growth response to aluminum by roots of a tolerant maize variety. *Plant Physiol.* 119, 435-444.
- Vierheilig H and Ocampo J A 1991 Receptivity of various wheat cultivars to infection by VA-mycorrhizal fungi as influenced by inoculum potential and the relation of VAM-effectiveness to succinic dehydrogenase activity of the mycelium in the roots. *Plant Soil* 133, 291-296.
- Vo Dinh Quang, Tang Van Hai, Tombo Kanyama E and Dufey J E 1996 Effets combinés de l'aluminium, du fer, et du phosphore sur l'absorption d'ions et le rendement du riz (*Oryza sativa* L.) en solution nutritive. *Agron.* 16, 175-186.
- Voigt P W, Godwin H W and Morris D R 1999 Effect of four acid soils on root growth of clover seedlings using a soil-on-agar procedure. *Plant Soil* 205, 51-56.
- von Uexküll H R and Mutert E 1995 Global extent, development and economic impact of acid soils. *Plant Soil* 171, 1-15.
- Vuylsteke D, Swennen R and De Langhe E 1991 Somaclonal variation in plantains (*Musa* spp, AAB group) derived from shoot-tip culture. *Fruits* 46, 429-439.
- Vuylsteke D, Ortiz R and Swennen R 1992 Plantains and bananas. In *Sustainable food production in Sub-Saharan Africa*. 1. IITA's Contributions. Ed. R Mohan. pp. 86-91. IITA, Ibadan, Nigeria.
- Vuylsteke D, Swennen R, Wilson G F and De Langhe E 1988 Phenotypic variation among *in-vitro* propagated plantain (*Musa* sp. cultivar 'AAB'). *Scient. Hort.* 36, 79-88.
- Wagatsuma T 1983 Characterization of absorption sites for aluminum in the roots. *Soil Sci. Plant Nutr.* 29, 499-515.
- Wagatsuma T, Ishikawa S, Obata H, Tawaraya K and Katohda S 1995 Plasma membrane of younger and outer cells is the primary specific site for aluminium toxicity in roots. *Plant Soil* 171, 105-112.
- Wallace S U and Anderson I C 1984 Aluminum toxicity and DNA synthesis in wheat roots. *Agron. J.* 76, 5-8.
- Watanabe T, Osaki M, Yoshihara T and Tadano T 1998 Distribution and chemical speciation of aluminum in the accumulator plant, *Melastoma malabathricum* L. *Plant Soil* 201, 165-173.

- Wersuhn G, Kaletka T, Gienapp R, Reinke G and Schulz D 1994 Problems posed by *in vitro* selection for aluminium-tolerance when using cultivated plant cells. *J. Plant Physiol.* 143, 92-95.
- Whitehead D C, Buchan H and Hartley R D 1979 Composition and decomposition of roots of ryegrass and clover. *Soil Biol. Biochem.* 11, 619-628.
- Wilcox H E 1991 Mycorrhizae. *In* The plant root, the hidden half. Eds. A Eshel and U Kafafi. pp. 731-765. Marcel Dekker, New York.
- Wilson G F 1987 Status of Bananas and plantains in West Africa. *In* Banana and Plantain breeding strategies: proceedings of International Workshop held at Cairns, Australia, 13-17 October 1986. Eds. G J Persley and E A De Langhe. pp. 29-35. ACIAR Proceedings No. 21, Cairns, Australia.
- Wilson G F, Swennen R and De Langhe E 1987 Effects of mulch and fertilizer on yield and longevity of a medium and giant plantain and a banana cultivar. pp. 109-111. Proceedings of the third meeting, International Association for Research on Plantains and Bananas (IARPB), 27-31 May, 1985, Abidjan, Côte d'Ivoire.
- Wright R J, Baligar V C and Wright S F 1987 Estimation of phytotoxic aluminum in soil solution using three spectrophotometric methods. *Soil Sci.* 144, 224-232.
- Zaifnejad M, Clark R B and Sullivan C Y 1997 Aluminum and water stress effects on growth and proline of sorghum. *J. Plant Physiol.* 150, 338-344.
- Zhang G and Taylor G J 1988 Effect of aluminum on growth and distribution of aluminum in tolerant and sensitive cultivars of *Triticum aestivum* L. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 19, 1195-1205.
- Zhang X G and Jessop R S 1998 Analysis of genetic variability of aluminium tolerance response in triticales. *Euphytica* 102, 177-182.
- Zhao X J, Sucoff E and Stadelmann E J 1987 Al^{3+} and Ca^{2+} alteration of membrane permeability of *Quercus rubra* root cortex cells. *Plant Physiol.* 83, 159-162.
- Zheng S J, Ma J F and Matsumoto H 1998 High aluminum resistance in buckwheat. I. Al-induced specific secretion of oxalic acid from root tips. *Plant Physiol.* 117, 745-751.

Annexe

Tableau 1. Composition et spéciation des éléments en solutions nutritives

Eléments	Concentration totale		Activité en ions libres ($\mu\text{mol L}^{-1}$) ^a		
	mg L ⁻¹	$\mu\text{mol L}^{-1}$	Al ₀ ^b	Al ₂ ^c	Al ₃
Ca	40.1	1000	708	692	676
Mg	2.43	100	71	69	69
K	39.1	1000	933	912	912
Na	1.84	80	74	74	74
N-NH ₄	2.81	201	186	182	186
Fe(III)	0.05	1	=0	=0	=0
Mn	0.44	8	6	5	5
B	0.86	80	=0	=0	=0
S	20.3	519	263	398	417
Cl	35.7	1006	933	759	933
N-NO ₃	25.2	1842	1698	1660	1698
P	1.55	50	=0	=0	=0
Al Al ₀	0	0	0		
Al ₂	2.18	78.5		10	
Al ₃	5	180			44
pH			5.2	4.2	4.0

^a Les calculs ont été réalisés avec le Programme SPECIES (Barak, 1990).

^b Al₀ est utilisé pour indiquer le traitement sans aluminium dans le Chapitre 6 et correspond au symbole -Al utilisé dans le Chapitre 1, 2 et 3. ^c De même, Al₂ est utilisé pour indiquer le traitement aluminique avec 78.5 μM Al dans le Chapitre 6 et correspond au symbole +Al utilisé dans le Chapitre 1, 2 et 3.

Tableau 2. Les principales espèces ioniques en solutions nutritives sans Al (Al_0), avec 78.5 μM Al (Al_2) et avec 180 μM Al (Al_3), et le pourcentage de leur concentration molaire par rapport à la concentration totale. Les calculs ont été réalisés avec le Programme SPECIES (Barak, 1990).

Espèces ioniques ^a	Al_0 ^b	Al_2 ^c %	Al_3
Aluminium			
Al^{3+}		26	51
$AlHPO_4^+$		63	28
$AlSO_4^+$		7	17
$AlOH^{2+}$		3	3
Phosphore			
$H_2PO_4^-$	96		
$CaH_2PO_4^+$	2		
HPO_4^{2-}	1		
$AlHPO_4^+$	-	99	99.9
Soufre			
SO_4^{2-}	89	88	86
$CaSO_4^0$	9	9	8
$AlSO_4^+$	-	1	5

^a Les éléments non montrés dans ce tableau sont présents dans la solution nutritive principalement sous forme d'ion libre avec un pourcentage molaire par rapport à la concentration totale supérieure à 95 %, sauf le Fe présent sous forme de complexe avec EDTA.

^b Al_0 est utilisé pour indiquer le traitement sans aluminium dans le Chapitre 6 et correspond au symbole -Al utilisé dans le Chapitre 1, 2 et 3. ^c De même, Al_2 est utilisé pour indiquer le traitement aluminique avec 78.5 μM Al dans le Chapitre 6 et correspond au symbole +Al utilisé dans le Chapitre 1, 2 et 3.