

DIDIER LESUEUR, TRAORÉ YACOUBA
ANTOINE GALIANA, BERNARD MALLET

CROISSANCE ET NODULATION D'ACACIA MANGIUM

EFFET DE L'INOCULATION AVEC RHIZOBIUM DANS TROIS TYPES DE SOL
DÉSINFECTÉS DE BASSE CÔTE-D'IVOIRE

La croissance d'*Acacia mangium* peut être améliorée par inoculation d'une souche effective de *Bradyrhizobium*. Pour transposer ces résultats de laboratoire sur le terrain, il s'agit maintenant d'évaluer l'influence des sols tropicaux sur l'établissement et le fonctionnement de la symbiose *Acacia mangium-Bradyrhizobium*.



Plantation d'*Acacia mangium* âgée de 10 ans, dans un sol acide de la station IDEFOR de San Pedro en Côte-d'Ivoire.

A 10-year-old *Acacia mangium* planting in an acid soil at the IDEFOR station of San Pedro in Côte-d'Ivoire.



Les arbres fixateurs d'azote, en particulier les légumineuses forestières, sont de plus en plus utilisés pour améliorer les productions agricoles et forestières (BLAIR *et al.*, 1990). La capacité de ces arbres à s'associer avec des rhizobiums leur confère l'aptitude à fixer l'azote atmosphérique et à croître rapidement dans des sols pauvres en azote. Ces propriétés en font des espèces de choix pour le reboisement et la restauration des sols tropicaux.

L'introduction et l'exploitation de l'un d'entre eux, *Acacia mangium*, s'intensifie d'année en année, que ce soit en Malaisie (province du Sabah) où 55 000 hectares de sols pauvres étaient plantés dès 1985, aux Philippines, en Papouasie-Nouvelle Guinée, en Chine ou en Afrique tropicale humide (National Research Council, 1983). Au Sabah, la production annuelle de bois d'*Acacia mangium* est équivalente, voire même supérieure dans certains cas, à celle d'autres espèces de plantation, comme *Gmelina arborea* et *Eucalyptus deglupta* (National Research Council, 1983). C'est ainsi qu'en Côte-d'Ivoire, où *A. mangium* a été introduit vers 1980, DUPUY et N'GUESSAN KANGA (1990) ont montré qu'avec cette espèce, il était possible d'obtenir une productivité moyenne d'environ 20-25 m³ ha⁻¹ an⁻¹ à l'âge de 7 à 8 ans.

A. mangium nodule spontanément dans son aire d'origine. C'est également le cas dans les sols où il a été introduit bien que le recours à une inoculation artificielle s'avère parfois nécessaire (TURNBULL, 1987). Ainsi, UMALI-GARCIA *et al.* (1988) et GALIANA (1990) ont montré qu'il était possible de stimuler la croissance d'*A. mangium* au champ en l'inoculant avec certaines souches de rhizobium. Cet effet inoculation est soumis à de nombreux facteurs parmi lesquels les caractéristiques physico-chimiques du sol qui sem-

blent influencer le plus nettement les processus symbiotiques de la fixation d'azote (O'HARA *et al.*, 1988 ; PEOPLES and CRASWELL, 1992).

L'objectif de notre travail a été d'étudier la croissance et la nodulation d'*A. mangium*, inoculé avec différentes souches de rhizobium, et cultivé sur trois sols prélevés dans les différentes stations de l'IDEFOR, dont on estime à environ 500 à 700 hectares la surface plantée en *A. mangium*. De par sa croissance très rapide (la taille d'arbres âgés de deux ans pouvant atteindre jusqu'à 8-10 mètres), *A. mangium* est une espèce de choix pour évaluer les effets de l'inoculation avec rhizobium sur la croissance de la plante-hôte et voir si les caractéristiques édaphiques peuvent significativement affecter cette croissance.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

L'essai a été installé en avril 1990 à la pépinière du C.T.F.T./Côte-d'Ivoire (maintenant l'IDEFOR) d'Abidjan et s'est poursuivi jusqu'en août de la même année. Les trois sols testés proviennent des stations C.T.F.T./C.I. de Yapo et d'Anguédédou et de la station I.R.H.O Marc Delorme de

Port-Bouët (cf. carte, p. 32). Les caractéristiques chimiques de ces trois sols ont été déterminées par le laboratoire d'analyse des sols du CIRAD de Montpellier et sont présentées dans les tableaux I et II. En termes de granulométrie, les sols de Port-Bouët et d'Anguédédou contiennent environ 70 % de sable et 30 % d'argile et de limon, ce qui correspond à un rapport sable/argile-limon d'environ 2,3 (tableau I). En revanche, ce même rapport est de 1 dans le sol de Yapo ; on en déduit que ce dernier est beaucoup moins sableux que les deux autres. C'est certainement pour cette raison que ce sol a une apparence plus compacte, comme le confirme la classification du triangle des textures ; celle-ci nous indique, en effet, que le sol de Port-Bouët est limono-argileux, celui d'Anguédédou limono-argilo-sableux et celui de Yapo limoneux. En ce qui concerne les caractéristiques chimiques de ces sols, on constate qu'il sont acides et que leurs rapports C/N est d'environ 10 (tableau II). Ils sont assez riches en azote minéral, surtout dans le sol de Yapo, où les teneurs en ammonium et en nitrates sont respectivement égales à 39 mg kg⁻¹ et 36 mg kg⁻¹, soit deux à trois fois plus que dans les deux autres sols. A l'exception du sol de Yapo qui renferme des teneurs en

TABLEAU I
GRANULOMÉTRIE DES SOLS DE PORT-BOUËT,
D'ANGUÉDÉDOU ET DE YAPO
exprimée en pourcentages de poids sec (d'après BLAL, 1985)

Fractions granulométriques	Port-Bouët	Yapo	Anguédédou
Argiles	3,7	14,8	22,8
Limons fins (0-2 µm)	1,9	8,5	2,7
Limons grossiers (20-50 µm)	1,7	25,0	1,3
Sable fin (50-200 µm)	13,3	28,9	16,7
Sable grossier (200-2000 µm)	79,3	18,9	53,3

TABLEAU II
CARACTÉRISTIQUES CHIMIQUES DES SOLS DE PORT-BOUËT,
D'ANGUÉDÉDOU ET DE YAPO
 (horizon 0-30 cm)

Caractéristiques	Port-Bouët	Yapo	Anguédédo
pH (H ₂ O)	4,8	5,0	4,7
Carbone organique (%)	1,11	1,70	1,36
Azote total (mg N g ⁻¹ sol)	1,10	1,74	1,23
Azote minéral			
N-NH ₄ (mg kg ⁻¹)	24,0	39,0	11,0
N-NO ₃ (mg kg ⁻¹)	12,2	36,0	5,9
P Olsen Dabin (mg kg ⁻¹)	11,9	29,8	50,7
Ca échange. (meq 100g ⁻¹)	1,04	2,91	0,54
Mg échange. (meq 100g ⁻¹)	0,32	0,89	0,26
K échange. (meq 100g ⁻¹)	0,06	0,23	0,06
Na échange. (meq 100g ⁻¹)	0,05	0,05	0,04
Al échange. (meq 100g ⁻¹)	0,28	0,08	0,86
Mn échange. (meq 100g ⁻¹)	0,02	0,03	0,01
CEC (meq 100g ⁻¹)	1,95	4,02	1,77



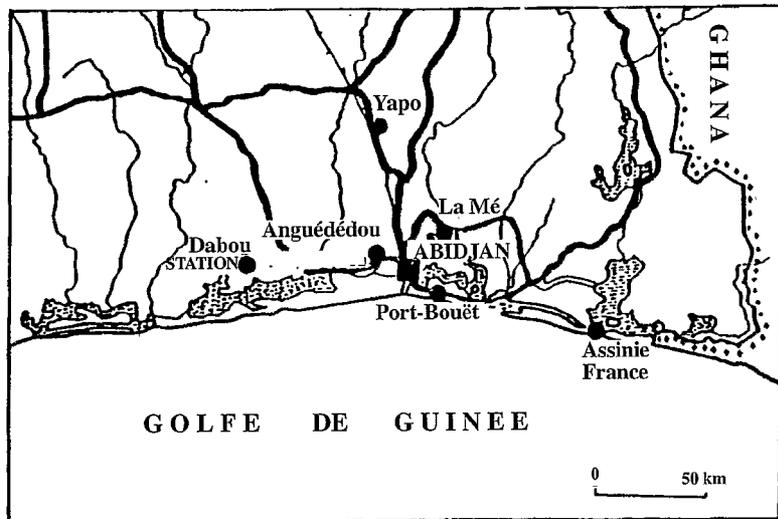
Aspect des trois sols de Basse Côte-d'Ivoire testés au cours de cette expérience (de gauche à droite : Anguédédo, Yapo, Port-Bouët).
 Appearance of three soils from Lower Côte-d'Ivoire tested during this experiment (from left to right : Anguededou, Yapo, Port-Bouët).

Ca, Mg, K sensiblement plus élevées et une forte teneur en P dans le sol d'Anguédédo, la composition minérale ne semble pas varier significativement d'un sol à l'autre (tableau II).

Les sols d'Anguédédo et de Yapo ont été humidifiés avec de l'eau et le tout est porté à ébullition pendant 24 heures, ceci afin de les stériliser. Le sol de Port-Bouët a été fumigé avec du Diméthyl-3,5 perhydrothiadiazine-1,3,5 thione 2 commercialisé par BASF sous le nom de Basamid ou Dazomet. Comme nous le verrons plus loin, ces traitements n'ont pas permis une stérilisation totale de ces trois sols. Nous les désignerons donc sous le terme de « sols partiellement stérilisés ».

Des graines de la provenance San Pedro ont été fournies par le laboratoire de graines du C.T.F.T./C.I. (lot C.T.F.T./C.I.). Elles ont été prétraitées par trempage dans de l'eau bouillante, puis mises à germer dans du sable préalablement stérilisé à la chaleur suivant le même protocole que les sols d'Anguédédo et de Yapo. Au bout de 15 jours, les jeunes plantules ont été repiquées individuellement dans des sachets de polyéthylène de 1 l contenant du sol traité comme décrit plus haut. Pour chaque type de sol, on a effectué quatre traitements différents : plantes non inoculées, plantes inoculées avec la souche australienne de *Bradyrhizobium* Aust.13c (GALIANA *et al.*, 1990), plantes inoculées avec la souche ivoirienne de *Bradyrhizobium* PBG3 (GALIANA *et al.*, 1990) et plantes inoculées avec la souche de *Rhizobium* (1) originaire d'Hawaii TAL 582 (HALLIDAY and SOMASEGARAN, 1984). L'inoculation a été effectuée avec des rhizobiums inclus dans des billes

(1) Parmi les différences qui caractérisent les *Rhizobium* des *Bradyrhizobium*, on admet que la vitesse de croissance *in vitro* des premiers est beaucoup plus rapide (temps de génération de 3-4 heures) que celle des seconds (temps de génération de 6 à 8 heures). Mais il existe d'autres caractéristiques qui permettent de les distinguer comme l'acidification ou l'alcalinisation du milieu de culture. Elles sont décrites en détail par JORDAN (1984) et PRIN *et al.* (1993).



Carte de localisation des essais d'*Acacia mangium* en Basse Côte-d'Ivoire.
Map of the location of *Acacia mangium* in Lower Côte-d'Ivoire.

sèches d'alginate suivant la méthode de DIEM *et al.* (1989). Sous cette forme, l'inoculum est facile à transporter. Pour l'appliquer, il faut le dissoudre dans une solution tampon de phosphate (2,3 g l⁻¹ de KH₂PO₄ et 14,6 g l⁻¹ de K₂HPO₄). On applique 20 ml de l'inoculum liquide ainsi dissous au niveau du collet de chaque plante, ce qui correspond à 2 ml d'une culture bactérienne initiale à la concentration de 10⁹ bactéries ml⁻¹ avant inclusion dans les billes d'alginate.

Le dispositif mis en place est à deux facteurs : le facteur sol à 3 niveaux et le facteur inoculation à 4 niveaux. Il consiste en trois blocs complets, avec 12 traitements unitaires différents (3 sols × 4 souches) et 7 plants par traitement unitaire.

Les sachets ont été placés sur des planches en bois surélevées et protégés de la pluie par une bâche plastique, de façon à limiter les risques de contamination par éclaboussures. Les plantes ont été cultivées en pépinière pendant 4 mois et demi (arrosage au pulvérisateur avec de l'eau de ville), puis récoltées afin de mesurer les biomasses des parties

aériennes, des racines et des nodules. On a aussi déterminé le nombre de nodules. Les résultats ont été soumis à une analyse de variance à deux facteurs et les moyennes ont été classées par le test de NEWMAN & KEULS (P < 0,05).



Dispositif expérimental de culture utilisé au cours de l'expérience réalisée à la pépinière de l'IDEFOR d'Abidjan.
Experimental planting system used during the experiment conducted at the IDEFOR nursery in Abidjan.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

BIOMASSES AÉRIENNES ET RACINAIRES

L'analyse de variance concernant la biomasse aérienne des plantes d'*A. mangium* montre que globalement l'effet principal sol est significatif à P < 0,01, que l'effet principal inoculation et l'interaction sol × inoculation sont significatifs à P < 0,05, mais qu'en revanche l'effet principal bloc n'est pas significatif. Si l'on rentre dans le détail de l'analyse des données, on constate qu'en ce qui concerne l'effet principal inoculation, les biomasses aériennes et racinaires produites par les plantes inoculées avec les souches de *Bradyrhizobium* Aust.13c et PBG3 sont significativement supérieures (P < 0,05) à celles produites par les plantes-témoins non inoculées (tableau III). En revanche, si les biomasses aériennes et racinaires des plantes inoculées avec la souche australienne Aust.13c sont égale-

ment significativement supérieures à celles des plantes inoculées avec la souche de *Rhizobium* TAL 582, on remarque qu'il n'y a pas de différence significative entre les plantes inoculées avec cette dernière et celles inoculées avec l'autre souche de *Bradyrhizobium* (PBG3).

Comme nous l'avons déjà indiqué plus haut, l'effet principal sol est significatif, d'où une croissance pour *A. mangium* qui varie significativement d'un sol à un autre. Ainsi, aux extrêmes et tous traitements inoculation confondus, les plantes cultivées sur le sol de Port-Bouët ont des biomasses aérienne et racinaire respectivement de 64 % et 145 % plus élevées que sur le sol de Yapo (tableau IV, p. 34). En ce qui concerne le sol d'Anguédédou, les biomasses

aériennes et racinaires sont intermédiaires par rapport à celles obtenues sur les deux autres sols testés.

Au cours d'expériences *in vitro* et en serre, la souche australienne Aust.13c s'est avérée être la plus efficace avec *A. mangium* (GALLANA *et al.*, 1990). Nos travaux effectués en pépinière confirment la supériorité de cette souche en termes de biomasses aériennes et racinaires sur les sols très acides de Port-Bouët et d'Anguédédou. L'utilisation systématique de la souche australienne Aust.13c pour inoculer *A. mangium* peut donc être préconisée. En outre, sa tolérance élevée aux pH acides lui permet de s'associer efficacement avec *A. mangium* dans des sols où le pH est voisin de 4,5 (LESUEUR, 1992 ; LESUEUR *et al.*, 1993).

NOMBRE ET POIDS DE MATIÈRE SÈCHE DE NODULES

□ Effet principal inoculation

Comme dans le cas d'autres essais mis en place en Côte-d'Ivoire (MALLET, 1990), dans lesquels on a fait appel à différentes méthodes de traitements des sols (chaleur sèche, eau bouillante, metam sodium et basamid), on constate que les différentes précautions prises lors de l'ensachage, du repiquage des plantes et de leur inoculation n'ont pas empêché les plantes-témoins non inoculées de porter sur leurs racines un nombre non négligeable de nodules (environ 26 nodules plante⁻¹ ; tableau III). L'inoculation peut avoir plusieurs origines :

- soit elle est la conséquence d'une contamination au cours de la culture des plantes,
- soit la stérilisation du sol n'a été que partielle et, par conséquent, n'a pas éliminé tous les rhizobiums présents.

Il n'en est pas moins certain que les biomasses aériennes et racinaires de ces plantes-témoins étaient, dans deux des trois sols, significativement inférieures à celles des plantes inoculées avec des souches de *Bradyrhizobium*. Ceci montre qu'en dépit de la présence de nodules sur les plantes non inoculées, l'effet principal inoculation est significatif (tableau III).

Si l'on compare maintenant les souches de rhizobium entre elles, il apparaît que les plantes inoculées avec les souches de *Bradyrhizobium* Aust.13c et PBG3 ont un nombre de nodules très nettement supérieur à celui des plantes inoculées avec la souche de *Rhizobium* TAL 582 (tableau III), ce qui dénote une plus grande infectivité de la part des souches de *Bradyrhizobium*. Parallèlement, les biomasses aériennes et racinaires des plantes inoculées avec les souches de *Bradyrhizobium* sont plus élevées que les biomasses

Paramètres mesurés	Souches de rhizobium			
	Aust.13c	PBG3	TAL 582	Témoin non inoculé
Biomasse aérienne (g matière sèche plante ⁻¹)	8,4a	7,7ab	6,3bc	6,0c
Biomasse racinaire (g matière sèche plante ⁻¹)	1,42a	1,16ab	1,02bc	0,95c
Nombre de nodules (nombre de nodules plante ⁻¹)	35ab	43a	23b	26b
Biomasse de nodules (g matière sèche plante ⁻¹)	0,60a	0,57a	0,55a	0,46a

Pour chaque paramètre mesuré, les moyennes figurant sur la même ligne et suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test de NEWMAN & KEULS, P < 0,05).

TABLEAU IV

EFFET DU SOL SUR LES BIOMASSES AÉRIENNES, RACINAIRES, AINSI QUE SUR LE NOMBRE ET LA BIOMASSE DE NODULES D'ACACIA MANGIUM INOCULÉES AVEC RHIZOBIUM (tous traitements inoculation confondus)

Paramètres mesurés	Sols utilisés		
	Port-Bouët	Anguédédou	Yapo
Biomasse aérienne (g matière sèche plante ⁻¹)	8,7a	7,3b	5,3c
Biomasse racinaire (g matière sèche plante ⁻¹)	1,86a	1,14b	0,76c
Nombre de nodules (nombre de nodules plante ⁻¹)	42a	39a	32b
Biomasse de nodules (g matière sèche plante ⁻¹)	1,1a	0,5b	0,08c

Pour chaque paramètre mesuré, les moyennes figurant sur la même ligne et suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement (test de NEWMAN & KEULS, P < 0,05).

des plantes inoculées avec la souche de *Rhizobium* TAL 582. En revanche, en ce qui concerne la biomasse de nodules, elle n'est pas significativement différente de la souche de rhizobium (tableau III). L'effectivité spécifique d'un nodule varie donc suivant l'aptitude de la souche de rhizobium considérée à stimuler la croissance de la plante-hôte, en permettant surtout une forte activité fixatrice d'azote au sein des nodules.

L'absence de différences significatives de croissance entre les plantes-témoins et celles inoculées avec la souche de *Rhizobium* TAL 582 peut s'expliquer comme suit : comme *A. mangium* n'est que faiblement nodulé par les *Rhizobium* (GALIANA *et al.*, 1990), les nodules observés sur les *A. mangium* inoculés avec la souche TAL 582 pourraient résulter de l'infection par des souches locales de

Bradyrhizobium non effectives ; la souche TAL 582 est une des rares souches de *Rhizobium* capable de noduler *A. mangium* mais, au vu de nos résultats, la symbiose ainsi formée s'avère être peu efficace.

La question que l'on se pose, à la mise en place d'un essai d'inoculation en pépinière ou au champ, est de savoir si la nodulation observée est bien propre à la souche inoculée. En réalité, dans le cadre de notre expérience, nous ne savons pas si l'effet significatif de l'inoculation avec la souche de *Bradyrhizobium* Aust.13c est bien dû à la souche inoculée, mais les résultats obtenus par GALIANA *et al.* (1994), dans le cadre de deux essais au champ effectués à Port-Bouët et Anguédédou, ont montré à l'aide de techniques immunologiques [immunofluorescence par Fluorescéine-Isothiocyanate (F.I.T.C.)] que les

A. mangium, inoculés deux ans auparavant avec la souche australienne Aust.13c, étaient majoritairement nodulés par cette dernière, ce qui traduit une forte compétitivité de cette souche pour noduler *A. mangium*. C'est pourquoi nous pensons que les résultats positifs que nous avons obtenus sont bien dus à l'infection des racines d'*A. mangium* par la souche de *Bradyrhizobium* Aust.13c préalablement inoculée. Bien entendu, nous envisageons ultérieurement le recours aux techniques immunologiques et de biologie moléculaire pour suivre le devenir des souches introduites en pépinière.

□ Effet principal sol

Ce sont les sols de Port-Bouët et d'Anguédédou qui sont les plus favorables à la nodulation d'*A. mangium*. En revanche, sur le sol de Yapo, la nodulation des plantes semble être inhibée puisque l'on observe une réduction du nombre de nodules de l'ordre de 30 %, par rapport à Port-Bouët. Etant donné que l'analyse chimique de ces sols n'a pas mis en évidence de carences minérales sévères (à l'exception des oligo-éléments non dosés), plusieurs hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer la mauvaise croissance des plantes dans ce sol :

- soit il s'agit d'un problème lié au sol de Yapo, plus riche en argile et en limons, donc plus compact que les sols d'Anguédédou et de Port-Bouët (tableau I) : dans un sol compact, en effet, la diffusion de l'oxygène est limitée, ce qui porte préjudice à la nodulation ;
- soit les trois sols testés ont un potentiel endomycorhizogène différent et, par conséquent, à l'image de ce qui a été observé avec *Terminalia superba* (BLAL, 1985), la faible teneur du sol de Yapo en champignons endomycorhiziens pourrait expliquer la moins bonne croissance de *A. mangium* dans ce sol par



rapport à celle enregistrée dans les sols d'Anguédédou et de Port-Bouët ;

- soit les teneurs élevées en nitrates dans le sol de Yapo sont responsables d'une inhibition partielle de la nodulation d'*A. mangium* par les souches inoculées de rhizobium (tableau II). En effet, de nombreux travaux ont montré que des teneurs élevées en nitrates inhibaient, de manière significative, la nodulation de plusieurs espèces de légumineuses annuelles (HANSEN *et al.*, 1992) et ligneuses (VAN KESSEL and ROSKOSKI, 1983 ; RÖHM et WERNER, 1991). Chez *A. mangium*, des tests préliminaires effectués *in vitro* ont montré que la nodulation des plantes (nombre de nodules et poids sec de nodules par plante) était inhibée de façon significative à partir de 34 mg kg⁻¹ de NO₃ (PRIN, communication personnelle). On peut donc faire l'hypothèse selon laquelle la forte teneur en nitrates dans ce sol (36 mg kg⁻¹ de NO₃) serait non seulement la cause d'une moindre croissance d'*A. mangium* dans le sol de Yapo mais qu'en inhibant la nodulation de la plante-hôte par les souches inoculées de rhizobium, elle ne permette pas la mise en évidence d'un effet bénéfique de l'inoculation sur le développement d'*A. mangium* ; l'analyse statistique, effectuée à partir de nos résultats, semble l'indiquer.

CONCLUSION

L'ensemble de nos résultats a montré que l'amélioration de la croissance d'*A. mangium* par inoculation avec des souches efficaces de *Bradyrhizobium* était très significativement dépendante du sol où était mise en place la parcelle d'essai. Dans les sols de Port-Bouët et d'Anguédédou, ce sont les plantes inoculées avec les souches de *Bradyrhizobium* (Aust.13c et, à un degré moindre, PBG3) qui ont produit les plus importantes quantités de biomasse aérienne et racinaire.

Outre l'amélioration de leur croissance, on observe un nombre élevé de nodules sur leurs racines. Même si la seule présence de nodules n'implique pas obligatoirement une importante activité fixatrice d'azote, le fait que les *A. mangium* inoculés avec les deux souches de *Bradyrhizobium* (Aust.13c et PBG3) aient un nombre de nodules corrélé avec les quantités de biomasse aérienne et racinaire, suggère que dans les sols d'Anguédédou et de Port-Bouët, les souches Aust.13c et PBG3 forment une symbiose efficace avec la plante-hôte. En revanche, dans le sol de Yapo, la croissance d'*A. mangium* est réduite. Cette moindre croissance peut avoir plusieurs origines :

- soit la granulométrie plus fine du sol de Yapo, qui se traduit par une plus forte compacité, provoque une inhibition de la nodulation suite à la limitation des échanges en oxygène ;
- soit le sol de Yapo est moins pourvu en champignons endomycorhiziens que les deux autres sols, d'où une faible endomycorhization des *A. mangium* dans ce sol partiellement stérilisé ;
- soit la forte teneur du sol en azote combiné, en nitrates en particulier (36 mg kg⁻¹ de NO₃), inhibe de manière significative la nodulation d'*A. mangium*.

Même si l'ensemble des résultats dont nous disposons ne nous permettent pas de déterminer avec certitude si l'une ou plusieurs de ces hypothèses expliquent la mauvaise croissance d'*A. mangium* dans le sol de Yapo, on peut souligner l'importance des limitations dues aux teneurs élevées en nitrates et/ou en argiles-limons dans les sols tropicaux où l'on souhaite mettre en place des dispositifs agroforestiers ou de plantations à grande échelle avec cette espèce de légumineuses forestières.

Pour réduire l'effet de contraintes particulières telles que des excès de

nitrates et/ou d'argiles-limons dans le sol, on peut envisager l'utilisation :

- D'autres espèces d'arbres fixateurs d'azote aux caractéristiques forestières ou agroforestières équivalentes, mais qui seraient plus tolérantes à ces deux facteurs limitants.
- De clones d'*A. mangium*, capables de s'associer efficacement avec rhizobium dans des sols où les teneurs en nitrate et/ou la compacité sont très élevées.
- De protocoles expérimentaux permettant un travail préalable du sol dont le but serait de limiter les effets négatifs d'une trop forte compaction du sol, au moins au stade pépinière. Pour cela on peut imaginer qu'un apport de perlite et/ou de vermiculite dans le mélange de pépinière pourrait permettre une meilleure aération dans le sachet et donc une bonne nodulation des jeunes plants.
- De plantes de couverture d'espèces non fixatrices qui, en jouant le rôle de puits (*sink*) à nitrates, permettrait d'y réduire la teneur en azote combiné.
- D'inoculum mycorhiziens qui pourrait pallier les éventuelles carences en champignons de ce type dans les sols où sont mis en place les essais.

Remerciements : les auteurs tiennent à remercier le Dr. Y.-R. DOMMERMES pour sa précieuse collaboration.

▷ Didier LESUEUR et Antoine GALIANA
CIRAD-Forêt/B.S.F.T.
45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle
94736 NOGENT-SUR-MARNE CEDEX
(France)

▷ Traoré YACOUBA
IDEFOR/D.F.O.
Division de la Protection des Reboisements
08 B.P.33
ABIDJAN 08 (Côte-d'Ivoire)

▷ Bernard MALLET
Programme Agroforesterie
CIRAD-Forêt
45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle
94736 NOGENT-SUR-MARNE CEDEX
(France)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BLAL (B.), 1985.
Etude sur les complexes mycorhiziens d'espèces forestières tropicales : Influence sur la croissance de *Terminalia superba*, Engl. et Diels (Fraké). Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) d'Ecologie, Université de Montpellier (U.S.T.L.), 37 p.
- BLAIR (G. J.), CATCHPOOLE (D.), HORNE (P.), 1990.
Forage tree legumes. Their management and contribution to the nitrogen economy of wet and humid tropical environments. *Adv. Agron.*, 44, 27-54.
- DIEM (H. G.), BEN KHALIFA (K.), NEYRA (M.), DOMMERGUES (Y.-R.), 1989.
Recent advances in the inoculant technology with special emphasis on plant symbiotic microorganisms. In *Proceedings of the Workshop on advanced technologies for increased agricultural production : actual situation, future prospects and concrete possibilities of application in developing countries*. Eds U. Leone, G. Rinaldi and R. Vanore. Santa Margherita, C.N.R.-U.S.G. Roma, pp. 196-209.
- DUPUY (B.), N'GUESSAN KANGA (A.), 1990.
Sylviculture de l'*Acacia mangium* en Basse Côte-d'Ivoire. *Bois et Forêts des Tropiques*, 225, 24-32.
- EVANS (J.), WALLACE (C.), DOBROWOLSKI (N.), 1993.
Interaction of soil type and temperature on the survival of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae*. *Soil Biol. Biochem.*, 25 (9), 1153-1160.
- GALIANA (A.), 1990.
La symbiose fixatrice d'azote chez *Acacia mangium*-rhizobium. Thèse de Doctorat de l'Université Pierre-et-Marie Curie (Paris VII), 214 p.
- GALIANA (A.), CHAUMONT (J.), DIEM (H. G.), DOMMERGUES (Y. R.), 1990.
Nitrogen-fixing potential of *Acacia mangium* and *Acacia auriculiformis* seedlings inoculated with *Bradyrhizobium* and *Rhizobium* spp. *Biol. Fertil. Soils*, 9, 261-267.
- GALIANA (A.), PRIN (Y.), MALLET (B.), GNAHOUA (G. M.), POITEL (M.), DIEM (H. G.), 1994.
Inoculation of *Acacia mangium* with selected strains of *Bradyrhizobium* sp. under field conditions : long term effect on plant growth and persistence of the introduced strains in soil. *Appl. Env. Microbiol.*, article soumis.
- HALLIDAY (J.), SOMASEGARAN (P.), 1984.
The rhizobium germplasm resource at NifTAL. Catalogue of strains, University of Hawaii (U.S.A.).
- HANSEN (A. P.), MARTIN (P.), BUTTERY (P. M.), PARK (S. J.), 1992.
Nitrate inhibition of nitrogen fixation in *Phaseolus vulgaris* L. cv. O.A.C. Rico and a supernodulating mutant. *New Phytol.*, 122, 611-615.
- JORDAN (D. C.), 1984.
Rhizobiaceae, pp. 234-245. In N. R. Krieg and J. G. Holt (ed.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1. The Williams & Wilkins, Co., Baltimore (U.S.A.).
- LESUEUR (D.), 1992.
Optimisation de la fixation d'azote chez la symbiose *Acacia mangium*-*Bradyrhizobium* : Relations de la plante-hôte et de la bactérie symbiote avec l'acidité et les oligoéléments. Thèse de Doctorat de l'Université Pierre-et-Marie Curie (Paris VII), 138 p.
- LESUEUR (D.), DIEM (H. G.), DIANDA (M.), LE ROUX (C.), 1993.
Selection of *Bradyrhizobium* strains and provenances of *Acacia mangium* and *Faidherbia albida* : Relationship with their tolerance to acidity and aluminium. *Plant and Soil*, 149, 159-166.
- MALLET (B.), 1990.
Note sur dix années de recherches sur les symbioses forestières menées par le Centre Technique Forestier Tropical en Côte-d'Ivoire. Rapport multi graphié C.T.F.T./Côte-d'Ivoire, 13 p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1983.
Mangium and other fast-growing acacias for the humid tropics. National Academy Press, Washington D.C. (U.S.A.).
- O'HARA (G.), BOONKARD (N.), DILWORTH (M. J.), 1988.
Mineral constraints to nitrogen fixation. *Plant and Soil*, 108, 93-110.
- PEOPLES (M. B.), CRASWELL (E. T.), 1992.
Biological nitrogen fixation : Investments, expectations and actual contributions to agriculture. *Plant and Soil*, 141, 13-39.
- PRIN (Y.), GALIANA (A.), DUCOUSO (M.), DUPUY (N.), de LAJUDIE (P.), NEYRA (M.), 1993.
Les rhizobiums d'acacia : Biodiversité et taxonomie. *Bois et Forêts des Tropiques*, 238, 5-20.
- RÖHM (M.), WERNER (D.), 1991.
Nitrate levels affect the development of the black locust-*Rhizobium* symbiosis. *Trees*, 5, 227-231.
- TURNBULL (J.), 1987.
Acacia mangium. A fast-growing tree for the humid tropics. N.F.T. Highlights., 87-93.
- UMALI-GARCIA (M.), LIBUIT (J. S.), BAGGAYAN (R. L.), 1988.
Effects of *Rhizobium* inoculation on growth and nodulation of *Albizia falcataria* (L.) and *Acacia mangium* Willd. in the nursery. *Plant and Soil*, 108, 71-78.
- VAN KESSEL (C.), ROSKOSKI (J. P.), 1983.
Nodulation and nitrogen fixation by *Inga jinicuil*, a woody legume in coffee plantations. *Plant and Soil*, 72, 95-105.



R É S U M É

CROISSANCE ET NODULATION D'ACACIA MANGIUM EN BASSE CÔTE-D'IVOIRE

L'utilisation des légumineuses forestières tropicales comme *Acacia mangium* à des fins de production de bois et/ou de restauration de sols dégradés s'est accrue au cours de ces dernières années. Il est démontré que la fixation symbiotique de l'azote chez *A. mangium* pouvait être améliorée par une inoculation avec une souche efficiente de *Bradyrhizobium*. Le but de cette étude a été de déterminer si les caractéristiques physico-chimiques du sol pouvaient modifier significativement l'effet de l'inoculation avec trois souches de rhizobium sur la croissance et la nodulation d'*A. mangium*. Dans le cadre d'une expérience en pépinière, nous avons comparé les sols de trois stations forestières de Côte-d'Ivoire (Port-Bouët, Anguédédou et Yapo). Dans les sols d'Anguédédou et de Port-Bouët, les productions de poids sec des parties aériennes et racinaires de plantes âgées de 125 jours inoculées avec la souche de *Bradyrhizobium* Aust.13c sont significativement supérieures à celles des plantes non inoculées ou inoculées avec la souche de *Rhizobium* TAL 582. En revanche, aucun effet inoculation n'a été observé dans le sol de Yapo, où la croissance et la nodulation d'*A. mangium* sont plus faibles que dans les autres sols. L'absence de réponse à l'inoculation dans le sol de Yapo semble être liée à sa grande richesse en limon et en argile et/ou à sa plus forte teneur en nitrates que dans les deux autres sols.

Mots-clés : Côte-d'Ivoire. *Acacia mangium*. *Bradyrhizobium*. Inoculation. Fixation de l'azote. Sols tropicaux. Nitrates.

A B S T R A C T

GROWTH AND NODULATION OF ACACIA MANGIUM IN LOWER CÔTE-D'IVOIRE

The use of nitrogen fixing tree as *Acacia mangium* for wood production and/or restoration of soil fertility has significantly increased during the last decade. Nitrogen fixation in *A. mangium* has been shown to be improved by inoculation with efficient strains of *Bradyrhizobium*. The primary objective of our experiment was to determine whether the physico-chemical properties of soil could significantly affect the response of *A. mangium* to inoculation with three rhizobium strains.

In a nursery experiment, we compared soils from three forestry stations in Côte-d'Ivoire (Port-Bouët, Anguédédou, and Yapo). In Anguédédou and Port-Bouët soils, the aerial and root dry weight of 125-day-old plants inoculated with *Bradyrhizobium* strain Aust.13c was significantly higher than that of uninoculated plants or plants inoculated with *Rhizobium* strain TAL 582. By contrast, no inoculation effect was observed in Yapo soil, where growth and nodulation of *A. mangium* were lower than in other soils. The absence of response to inoculation in Yapo soil was thought to result from its high loam and clay content and its high nitrate content.

Key words : Côte-d'Ivoire. *Acacia mangium*. *Bradyrhizobium*. Inoculation. Nitrogen fixation. Tropical soils. Nitrates.

R E S U M E N

CRECIMIENTO Y NODULACIÓN DE ACACIA MANGIUM EN LA BAJA CÔTE-D'IVOIRE

La utilización de leguminosas forestales tropicales como *Acacia mangium* para la producción de madera y/o la restauración de suelos degradados ha incrementado durante los últimos años. Se ha demostrado que la fijación simbiótica del nitrógeno por *A. mangium* podría mejorarse utilizando una cepa eficiente de *Bradyrhizobium*. La finalidad de nuestro trabajo ha sido determinar si las características físico-químicas del suelo podrían modificar significativamente el efecto de la inoculación de tres cepas de *Rhizobium* sobre el crecimiento y la nodulación de *A. mangium*. Por medio de una experiencia en vivero hemos comparado los suelos de tres estaciones forestales de Côte-d'Ivoire (Port-Bouët, Anguédédou y Yapo). En los suelos de Anguédédou y de Port-Bouët la producción en peso seco de las partes aéreas y de raíces de plantas inoculadas con la cepa de *Bradyrhizobium* Aust.13c, medidas luego de 125 días, son significativamente superiores a aquellas de las plantas no inoculadas o inoculadas con la cepa de *Rhizobium* TAL 582. Por el contrario, no se observó ningún efecto debido a la inoculación en el suelo de Yapo en el que el crecimiento y la nodulación de *A. mangium* es más débil que en otros suelos. La ausencia de respuesta a la inoculación en el suelo de Yapo parece estar ligada a su gran riqueza en arcilla y légamo y/o a su mayor contenido en nitratos con respecto a los otros dos suelos.

Palabras clave : Côte-d'Ivoire. *Acacia mangium*. *Bradyrhizobium*. Inoculación. Fijación de nitrógeno. Suelos tropicales. Nitratos.



SYNOPSIS

GROWTH AND NODULATION OF ACACIA MANGIUM IN LOWER CÔTE-D'IVOIRE

Effect of inoculation with three strains of *rhizobium* in three types of soil

Didier LESUEUR, Traoré YACOUBA, Antoine GALIANA, Bernard MALLET

The objective of our work was consequently to investigate the growth and nodulation of *Acacia mangium* inoculated with different strains of rhizobium and cultivated on three soils sampled from different stations of IDEFOR. Owing to its very fast growth (the size of trees aged 2 years being capable of reaching 8-10 metres), *A. mangium* is a species of choice to evaluate the effects of inoculation with rhizobium on the growth of the host plant, and determine whether edaphic properties can significantly affect this growth.

MATERIALS AND METHODS

The test was set up in April 1990 at the nursery of the C.T.F.T./Côte-d'Ivoire (now the IDEFOR) in Abidjan, and was pursued until August of the same year. The three soils tested come from the C.T.F.T./C.I. stations of Yapo and Anguédédou, and from Marc Delorme I.R.H.O. station in Port-Bouët.

For each type of soil, four different treatments were carried out: plants not inoculated, plants inoculated with the Australian strain of *Bradyrhizobium* Aust. 13c, plants inoculated with the Côte-d'Ivoire strain of *Bradyrhizobium* PBG3, and plants inoculated with the strain of *Rhizobium* TAL 582 from Hawaii. Inoculation was performed with rhizobiums included in dry beads of alginate, or the equivalent of 2 ml of an initial bacterial culture in the concentration of 10^9 bacteria ml^{-1} before inclusion in the alginate beads.

The system set up has two factors: the soil factor with 3 levels and the inoculation factor with 4 levels. It consists of three complete blocks, with 12 different unit treatments (3 soils \times 4 strains) and 7 plants per unit treatment.

The plants were cultivated in the nursery for 4.5 months and then harvested in order to measure the biomasses of the aerial parts, the roots and the nodules. The number of nodules were thus determined. The results were subjected to variance analysis with two factors and the averages were classified using the NEWMAN & KEULS test ($P < 0.95$).

RESULTS AND DISCUSSION

The results are given in tables III and IV, pp. 33 et 34.

It is observed that, as concerns the main inoculation effect, the aerial and root biomasses produced by the inoculated plants with the strains of *Bradyrhizobium* Aust. 13c and PBG3 are significantly larger ($P < 0.05$) than those produced by the non-inoculated control plants (tab. III). On the other hand, if the aerial and root biomasses of the plants inoculated with the Australian strain Aust. 13c are also significantly larger than those of plants inoculated with the *Rhizobium* TAL 582 strain, it is noted that there is no significant difference between plants inoculated with the latter and those inoculated with the other strain of *Bradyrhizobium* (PBG3).

As we already stated earlier, the main soil effect is significant, thus explaining why the growth of *A. mangium* varies significantly from one soil to another. Hence, at the extremes and all inoculation treatments taken together, plants cultivated on the soil of Port-Bouët have an aerial and root biomass respectively 64 % and 145 % larger than on the soil of Yapo (tab. IV). As concerns the soil of Anguédédou, the aerial and root biomasses are intermediate in relation to those obtained on the other two soils tested.

As concerns the number and dry weight of nodules, it is observed that, when the *rhizobium* strains are compared with each other, the plants inoculated with the strains of *Bradyrhizobium* Aust. 13c and PBG3 have a much larger number of nodules than plants inoculated with the strain of *Rhizobium* TAL 582 (tab. III), which indicates higher infectivity on the part of the *Bradyrhizobium* strains. At the same time, the aerial and root biomasses of plants inoculated with the *Bradyrhizobium* strains are larger than the biomasses of the plants inoculated with the *Rhizobium* TAL 582 strain. On the other hand, as concerns the biomass of nodules, it is not significantly different from the rhizobium strain (tab. III).

As concerns the main soil effect, it is observed that the soils of Port-Bouët and Anguédédou are the ones most favourable to *A. mangium* nodulation. On the other

hand, on the soil of Yapo, the nodulation of the plants appears to be inhibited since a reduction on the order of 30 % in the number of nodules is observed in relation to those placed in the soil of Port-Bouët. Since the chemical analysis of these soils has not shown any severe mineral deficiencies (with the exception of micronutrients not evaluated), several assumptions may be made to explain the poor growth of plants in this soil:

- Either there is a problem related to the fact that the soil of Yapo has a higher clay and silt content, and is hence more compact than the soils of Anguédédou and of Port-Bouët (tab. I, p. 30), because oxygen diffusion is limited in a compact soil, which is detrimental to nodulation;

- Or the three soils tested have a different endomycorrhizogenic potential and, consequently, like what was *Terminalia superba* (BLAL, 1985), the low endomycorrhizian fungus content of the soil of Yapo could explain the slower growth of *A. mangium* in this soil compared with that observed in the soils of Anguédédou and Port-Bouët;

- Or the high nitrate content in the soil of Yapo is responsible for partial inhibition of the nodulation of *A. mangium* by the inoculated strains of rhizobium (tab. II, p. 31). In *A. mangium*, preliminary tests conducted *in vitro* have demonstrated that the nodulation of plants (number of nodules and dry weight of nodules per plant) was inhibited significantly as of 34 mg kg^{-1} of NO_3 (Y. PRIN: personal communication). It may thus be assumed that the high nitrate content in this soil (36 mg kg^{-1} of NO_3) would not only be the cause of the more limited growth of *A. mangium* in the soil of Yapo but that, by inhibiting the nodulation of the host plant by inoculated strains of rhizobium, it does not allow the demonstration of a beneficial effect of inoculation on the development of *A. mangium*, which appears to be indicated by the statistical analysis carried out on the basis of our results.

Concluding, our results have shown that improving the growth of *A. mangium* by inoculation with efficient strains of *Bradyrhizobium* was very significantly dependent on the soil in which the test plot was placed.