



Original Paper

<http://ajol.info/index.php/ijbcs>

<http://indexmedicus.afro.who.int>

Effet du substrat sur la biomasse et la fixation symbiotique de l'azote par les plants de *Acacia mangium* willd. (Fabaceae) en pépinière

Samuel Jobercia MOULAMBI-NZONZA¹, François MANKESSI^{2*},
Jean Bruno BASSILOUA^{2,3} et Rosalie MATONDO²

¹ Institut National de Recherche Forestière (IRF), Cité Scientifique de Brazzaville, Route de l'Auberge de Gascogne. BP 177 Brazzaville, Congo.

² Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et de Foresterie (ENSAF), Université Marien Ngouabi, BP 13502 Brazzaville, Congo.

³ Centre de Valorisation des Produits Forestiers Non Ligneux (CVPFNL) BP 5700, Pointe-Noire, Congo.

* Auteur correspondant ; E-mail : framankessi@yahoo.fr; Tél : +242069777411

RESUME

Acacia mangium Willd est une espèce à croissance rapide, fixatrice d'azote, capable de restituer au sol des éléments minéraux par chute de litière. Elle est actuellement très utilisée dans les programmes de reboisement. L'effet substrat sur la biomasse des plants, à l'âge de plantation, a été estimé dans le but d'optimiser les conditions de production des plants. Un dispositif en blocs complets randomisés comprenant six types de substrats à base de terre noire, charbon et sciure de bois, a été mis en place. Des jeunes plants âgés de trois semaines ont été transplantés dans des plaques alvéolées comprenant différents substrats puis élevés jusqu'à l'âge de plantation. Une dose de 30 g d'engrais NPK dilués dans 10 l d'eau a été apportée quotidiennement aux plants. Les résultats obtenus montrent un effet substrat sur la biomasse et la croissance. Les plants issus des substrats 6 (75% terre+25% charbon) et 4 (50% terre+50% charbon) présentent les meilleures performances de croissance. L'Activité Réductrice d'Acétylène (ARA) réalisée a été influencée par le substrat. La dose de fertilisation apportée n'a pas engendré l'avortement des nodules. Le substrat 5 (50% de terre noire, 25% de charbon et 25% de sciure de bois) offre les conditions optimales de développement des nodules.

© 2020 International Formulae Group. All rights reserved.

Mots clés : Substrat, *Acacia mangium*, biomasse, ARA.

Effect of substrate on the biomass and the symbiotic fixing of nitrogen by *Acacia mangium* willd. (Fabaceae) seedlings in the nursery

ABSTRACT

Acacia mangium Willd is a rapid growth species, fixing of nitrogen and able to restore on the ground biogenic salts through the fall of litter. It's currently very used in the afforestation programs. The effect of substrate on the seedlings biomass at the plantation age was estimated with the aim of optimizing the seedlings production conditions. A randomized complete blocks of six types of substrate containing black soil, charcoal and sawdust, was set up. Seedlings of three weeks old were transplanted in the alveolate plates with various substrates during the education phase until the age of plantation. 30 g of a mineral fertilizer NPK (20-20-20) diluted

in 10 l of water was brought daily to the seedlings. The results showed a substrate effect on the biomass and the plants growth. Seedlings which grew on the substrate 6 (75% black soil + 25% charcoal) and 4 (50% black soil + 50% charcoal) present the best growth performances. The Acetylene Reduction Assay (ARA) realized was significantly influenced by the types of substrate. Mineral fertilizer brought does not generate the abortion of the nodules. The substrate 5 (black soil 50%, charcoal 25% and sawdust 25%) offered the optimum conditions of nodules development.

© 2020 International Formulae Group. All rights reserved.

Keywords: Substrate, *Acacia mangium*, biomass, ARA.

INTRODUCTION

Acacia mangium Willd. est l'une des espèces de légumineuses exotiques adaptées aux conditions climatiques et édaphiques de la République du Congo (Tchichelle et al., 2016). Originaire de l'Indonésie, de la Papouasie Nouvelle Guinée et de l'Australie (Koutika et Richardson, 2019), cette légumineuse de la famille des Fabaceae et de la sous-famille des Mimosoideae (Bisiaux et al., 2009; Smith et al., 2012 ; Dubiez et al., 2014) est au cœur des programmes de reboisement en République du Congo et en République Démocratique du Congo (Dubiez et al., 2014 ; Tchichelle et al., 2017 ; Dubiez et al., 2018 ; Koutika et al., 2019).

L'usage de *Acacia mangium* Willd. s'inscrit principalement dans un but de répondre aux besoins des grandes villes en bois énergie (Dubiez et al., 2014) et d'apporter une alternative à la perte de la biodiversité par la réduction de la pression anthropique sur la forêt naturelle. Cette espèce permet en même temps d'apporter une réponse à la dégradation des sols et particulièrement à la baisse du capital de fertilité chimique due à l'appauvrissement des sols en matière organique, en azote et autres éléments minéraux qui est à la base de la chute de productivité agricole en Afrique tropicale (Kasongo et al., 2012).

En effet, les légumineuses ont l'avantage de fixer l'azote atmosphérique (Bouillet et al. 2008 ; Orwa et al., 2009, Mianhai et al., 2016) et de restituer au sol à travers la chute de litières (Laclau et al., 2008), d'autres macroéléments nécessaires à la plante et aux cultures associées en particulier dans les agrosystèmes (Qin et al., 2012 ; Bangata et al., 2013) qui représentent une stratégie non

négligeable aux problèmes d'accès aux terres agricoles (Akouehou et al., 2011). En raison de leur aptitude à croître rapidement, elles participent à la stabilisation et la restauration des sols (Kasongo et al., 2009; Chaer et al., 2011 ; Bulakali et al., 2014, Soro et al., 2015).

Actuellement, les systèmes agroforestiers prônés dans les pays à couvert forestier important sont ceux qui concilient optimisation des rendements et durabilité des exploitations. Dans ce contexte, les légumineuses à croissance rapide sont indiquées (Kooke et al., 2019). En effet, les agrosystèmes ont le potentiel d'accroître la production de biomasse et la séquestration du carbone tout en fournissant d'autres bénéfices incluant l'amélioration de la fertilité et le recyclage d'éléments nutritifs (Forrester et al., 2005). Les études réalisées dans ces agrosystèmes ont montré que les arbres fixateurs d'azote atmosphérique permettent d'importantes entrées de N et réduisent les apports d'engrais azotés (Qin et al., 2012).

Ces agrosystèmes intègrent les légumineuses à croissance rapide, en raison de leur spécificité de resituer au sol, l'azote (N) qui est le macroélément de croissance par excellence (Koutika et al., 2016 ; Koutika et al., 2017a, 2017b). Cette restitution se fait par plusieurs mécanismes dont le plus important demeure la fixation biologique de l'azote par des micro-organismes libres ou vivant en symbiose avec ces légumineuses (Bouillet et al., 2008).

En Afrique centrale, *Acacia mangium* Willd. bien qu'étant une espèce envahissante (Koutika et al., 2019) fait partie des espèces forestières très utilisées actuellement dans les systèmes de production agroforestiers (Bisiaux

et al., 2009 ; Smith et al., 2012; Dubiez et al., 2014).

En République du Congo, l'importance des plantations avec des espèces exotiques à croissance rapide avait été perçue dès les années 50, avec l'introduction d'une soixantaine d'espèces. Seulement, parmi les espèces introduites, celles de *Acacia spp.* n'ont pas bénéficié de programmes de recherches soutenus, comparativement à celles du genre *Eucalyptus* pour lesquelles d'importants travaux ont été menés sur de nombreux axes de recherche comme la génétique (Bouvet et al., 2016, Makouanzi et al., 2017), la sortie variétale et la propagation par voie végétative (Saya et al., 2008 ; Mankessi et al., 2010).

La mise en œuvre des programmes de plantations à grande échelle nécessite une production intensive des plants. La présente étude qui s'inscrit dans un contexte général de définition d'un itinéraire technique susceptible d'optimiser les conditions de productions des plants de *Acacia mangium* Willd. en pépinière, rapporte les effets des différents types de substrats sur la production de la biomasse ainsi que le potentiel de fixation de l'azote atmosphérique par ces mêmes plants, à travers une analyse de l'Activité Réductrice d'Acétylène (ARA).

MATERIEL ET METHODES

Matériel végétal

Les graines de *Acacia mangium* Willd. récoltées dans la forêt de la patte d'Oie, puis conservées pendant environ trois mois à 4 °C au réfrigérateur ont constituées le matériel végétal. Après germination, les plants âgés de quatre mois et élevés dans 6 types de substrats dont la composition est donnée dans le Tableau 1 ont servi à l'estimation de la biomasse des plants ainsi que de la fixation de l'azote atmosphérique à travers l'Activité Réductrice d'Acétylène.

Méthode

Germination des graines

Les graines ont été prétraitées à l'eau bouillante par simple immersion pendant 12h,

puis semées dans des plaques à alvéoles amovibles contenant un substrat constitué de 100% de terre noire. Deux graines par alvéole ont été semées. Les semis ont été réalisés sous une aire recouverte d'une ombrière de 70% de réflexion de rayonnement solaire.

Dispositif expérimental

Le dispositif mis en place compte 540 plants de *Acacia mangium* Willd. et 6 types substrats répétés 3 fois, à raison de 30 plants par répétition et par type de substrat. Les jeunes semis âgés de trois semaines ont été transplantés sous ombrière, et entretenus pendant une semaine avant d'être exposés au soleil dans l'aire d'acclimatation. Une semaine après transplantation, une dose de 30 g d'engrais chimique NPK (20-20-20) + O.E (B ; Cu, Co, Fe, Mg, Mo, Mn, Zn) dilué dans 10 l d'eau a été quotidiennement apportée aux plantes à l'aide d'un pulvérisateur à dos.

Estimation de la biomasse des plants

Une destruction de la motte de terre des plants à l'âge de plantation (Figure 1) a été réalisée au troisième mois après transplantation pour estimer la biomasse des plants pour chaque type de substrat. Au total, 540 plants de *Acacia mangium* Willd ont été détruits. Une fois sortie des alvéoles, les plants ont été nettoyés à l'eau sur un tamis, ensuite étalés sur du papier essuie-tout puis, sectionnés par compartiment (nodules, racines, tiges, feuilles). Les différentes parties ont été emballées sous papier aluminium puis séchées à l'étuve à 65 °C pendant 72 heures. Une fois sortie de l'étuve, chaque partie était pesée à l'aide d'une balance de précision de marque OHAUS® (seuil de sensibilité 1/1000^{ème}) pour déterminer les masses sèches des racines (MSR), de la tige (MST), des feuilles (MSF) et des nodules (MSN). Les Figures 2, et 3 illustrent quelques étapes de la détermination de la biomasse.

Mesure de l'Activité Réductrice d'Acétylène (ARA)

L'Activité Réductrice d'Acétylène (ARA) mesurée par chromatographie en phase

gazeuse selon les procédures de Hardy et al. (1968) a été entreprise pour apprécier les effets du substrat et de la fertilisation sur le fonctionnement des nodules. La méthode de l'ARA qui permet de mesurer l'activité de la dinitrogenase, enzyme qui fixe l'azote atmosphérique et le réduit en amoniacque directement assimilable par la plante a été utilisée. Son expression est un indicateur du bon fonctionnement des nodules.

Les nodules ont été prélevés sur des plants âgés de trois mois (après transplantation) sur tous les types de substrats. Six plants par type de substrat ont été sélectionnés par classe de hauteurs individuelles (grand, moyen et petit), conformément au protocole rapporté par Galiana et al. (1990). Trois classes de hauteur des plants par types de substrats ont été définies à partir de la moyenne générale du paramètre hauteur (Figure 4) : la première classe est celle des individus dont la hauteur individuelle est en dessous de la moyenne (valeurs minimales), la seconde est celle des individus moyens (valeurs moyennes) et la troisième classe est celle des individus dont la hauteur est au-dessus de la moyenne (valeurs maximales) (Galiana et al., 1990 ; Bassiloua, 2006). Au total, trente-six plants en âge de plantation ont été sélectionnés de façon aléatoire dans les 6 types de substrats, à raison de 2 plants par classe de hauteur et par type de substrat.

Après nettoyage à l'eau pour les débarrasser de la terre et autres débris, les plants échantillonnés ont été égouttés sur du papier essuie-tout. Les nodules de chaque plant ont été prélevés et placés dans un tube en verre de 100 ml, fermé hermétiquement. 10 ml d'air ont été prélevés dans chaque tube à l'aide d'une seringue de 12 ml. Ce volume d'air prélevé a été remplacé par le même volume d'acétylène. Le mélange des nodules et acétylène a été laissé incubé pendant 20 minutes. A l'issue de ce temps, 2 ml de gaz ont été prélevés puis injectés dans les tubes Vacutainer de type BD. Ces tubes ont été envoyés au Laboratoire des Symbioses Tropicales et Méditerranéennes du

CIRAD, à Montpellier, France, pour les analyses.

Paramètres mesurés, estimés et analyse des données

La hauteur et le diamètre des plants ont été mesurés à 1 mois (H1 et D1), 2 mois (H2 et D2), et 3 mois (H3 et D3) à l'aide d'une règle graduée et d'un pied à coulisse digital. Les biomasses des différents compartiments des plants ainsi que l'ARA des plants ont été estimées sur des plants âgés de trois mois. La biomasse totale ou Masse Sèche Totale (MST) du plant est la somme des masses sèches des différents compartiments de la plante. Toutes les données ont été enregistrées sur Excel. Pour tous les paramètres autres que l'ARA, l'analyse de variance a été faite suivant le modèle GLM (General Linear Models) à effets fixes ci-après :

$$X_{ij} = \mu + \text{rep}_i + \text{sub}_j + \varepsilon_{ij}$$

Avec :

X_{ij} : valeur phénotypique de l'individu étudié;

μ : valeur moyenne de la totalité des individus ;

rep_i : effet fixe des répétitions i ;

sub_j : effet fixe des substrats j ;

ε_{ij} : erreur résiduelle.

Par contre, pour le paramètre ARA, les effets classe de hauteurs et types de substrats ont été estimés suivant le test non paramétrique de Kruskal-Wallis (Hollander et Wolfe, 1973) avec comme hypothèses nulles « Pas de différence entre les valeurs médianes des classes de hauteurs et entre celles des types de substrats ».

Les moyennes des différents paramètres sont présentées sous forme (i) des histogrammes avec des barres d'intervalles de confiance et (ii) de boxplots avec moyennes et quartiles. La comparaison des moyennes des différents paramètres a été faite suivant les tests de Scheffer et post hoc Kruskal-Wallis, au seuil de 5%.

Tableau 1 : Proportions des différentes composantes des types de substrats utilisés.

Composantes	Proportions des différentes composantes par type de substrat (en %)					
	Type 1	Type 2	Type 3	Type 4	Type 5	Type 6
Terre noire	0	0	25	50	50	75
Charbon	25	50	25	50	25	25
Sciure fine	75	50	50	0	25	0
Total	100	100	100	100	100	100



Figure 1 : Vue d'un plant d'*Acacia mangium* Willd. à trois mois (âge de plantation).



Figure 2 : Plants débarrassés de la motte de terre en vue de la séparation des différents compartiments puis le séchage à l'étuve.



Figure 3 : Séparation des différents compartiments de la plante en vue du séchage à l'étuve. Chaque plant a été séparé en quatre compartiments : les nodules, les racines, la tige et les feuilles. Chaque compartiment a été, par la suite, emballé sur du papier aluminium pour être ensuite séché à l'étuve.

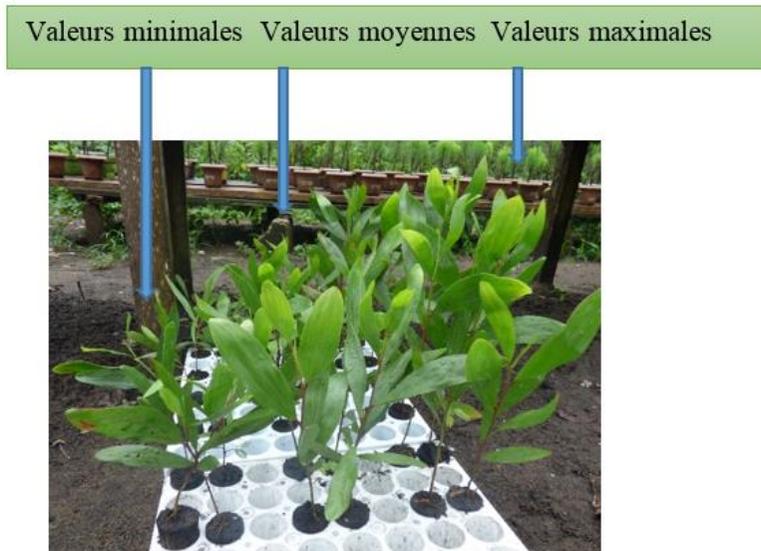


Figure 4 : Tri des plants d'*Acacia mangium* Willd. par classes de hauteurs. Trois classes ont été définies. Il s'agit des classes minimale, moyenne et maximale.

RESULTATS

Effet du substrat sur la croissance en Hauteur et en Diamètre des plants

La croissance en hauteur des plants de *Acacia mangium* Willd. en pépinière à un mois ne montre pas de différences significatives entre les différents substrats. Cependant, à deux et trois mois celle-ci est significativement différente ($P < 0,001$) d'un substrat à un autre. La comparaison des moyennes indique que les moyennes de croissance en hauteur pour les

substrats 4 19,39 cm (a) et 6 19,49 cm (a), à trois mois, ne diffèrent pas significativement mais sont par contre meilleures comparativement à celles des autres substrats (Figure 5). Ces deux valeurs moyennes optimales sont suivies de celles des plants issus du substrat 5 : 17,55 cm (b); la moyenne la plus basse -13,80 cm (d)- est obtenue avec les plants issus du substrat 2. Un effet répétition a été noté à 1 mois et le test de Scheffer révèle que les

répétitions 1 et 3 ainsi que 2 et 3 sont différentes significativement.

La croissance en diamètre chez *acacia* montre des effets substrat et répétition très significatif ($P < 0,001$) aux trois âges. La comparaison des moyennes indique que jusqu'à trois mois, les meilleurs substrats sont ceux des types 4 et 6 et ne diffèrent pas significativement entre eux. Leurs valeurs moyennes sont respectivement égales à 2,63 mm (a) et 2,66 mm (a), le dernier est le type 2 avec une valeur moyenne de 2,28 mm (b). L'effet répétition observé a montré que les répétitions 1 et 2 ainsi que 1 et 3 sont significativement différentes d'après le test de Scheffer (Figure 6).

Effet du substrat sur la biomasse totale des plants

L'analyse de variance a révélé l'existence des effets substrat très significatif ($P < 0,001$) pour ce paramètre, par contre aucun effet répétition n'a été observé, comme l'illustre la Figure 7. La comparaison de moyenne par le test de Scheffer au seuil de 5% montre que les substrats 4 (2,24 g) et 6 (2,10 g) ne sont pas différents significativement et que ces derniers par contre diffèrent significativement des substrats 1, 2, 3 et 5. La valeur moyenne de biomasse totale des plants la plus élevée a été obtenue avec le substrat de type 4 (2,24 g) et la moins élevée, avec les plants issus du substrat 3 (1,40 g).

Effet substrat sur la Masse Sèche des Nodules (MSN)

En ce qui est de la masse sèche des nodules, l'analyse de variance a révélé un effet substrat très significatif ($P < 0,001$) et la comparaison des moyennes montre que les substrats 4 et 6 ne sont pas significativement différents mais diffèrent significativement de tout le reste des substrats. La moyenne de MSN la plus élevée s'observe sur le substrat 4 (0,16 g) suivi des substrats 6 (0,13 g) et 5 (0,12 g). La plus faible moyenne de MSN a été enregistrée sur le substrat 3 (0,09 g) (Figure 8). Un effet répétition a été noté ($P < 0,001$),

d'après le test de Scheffer au seuil de 5%, les répétitions 1 et 3 ; ainsi que 2 et 3 sont différentes significativement.

Effet substrat sur la Masse Sèche des Racines (MSR)

La MSR des plants d'acacia en pépinière varie en fonction des substrats. Le test de comparaison des moyennes indique que la moyenne de MSR du substrat 4 est significativement différente de celles du reste des substrats (Figure 9). La MSR observée sur le substrat 4 (0,36 g) est suivie des substrats 6 (0,30 g) et 5 (0,24 g). Le substrat 3 (0,18 g), présente la MSR la plus faible à 3 mois. L'effet répétition a été également noté ($P < 0,001$). Les répétitions 1 et 2 ainsi que 1 et 3 sont différentes significativement.

Activité Réductrice d'Acétylène

Les quantités d'éthylène fixées par les nodules issus des plants de *Acacia mangium* Willd. âgés de 3 mois, en fonction des classes de hauteurs sont représentées sur la Figure 10. Bien qu'il y ait une tendance croissante apparente de la quantité d'éthylène fixée en fonction des classes de hauteurs (3,67 $\mu\text{Mol/h}$ d'éthylène pour la classe inférieure ; 5,11 $\mu\text{Mol/h}$ d'éthylène pour la classe moyenne et 5,95 $\mu\text{Mol/h}$ d'éthylène pour la classe supérieure), le test non paramétrique de Kruskal-Wallis, a permis de confirmer l'hypothèse nulle, c'est-à-dire qu'il n'y a pas de différences significatives entre les valeurs médianes des classes de hauteurs ($P\text{-value} = 0,971$). En conséquence, il n'y a pas d'effet classe de hauteurs sur les quantités d'éthylène fixées.

Pour l'effet types de substrats par contre, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a permis de rejeter l'hypothèse nulle : il y a donc des différences significatives entre les valeurs médianes des différents types de substrats ($P\text{-value} = 0,039$). La Figure 11 rapporte l'effet du substrat sur la fixation de l'éthylène ainsi la comparaison des moyennes suivant le test post hoc Kruskal-Wallis.

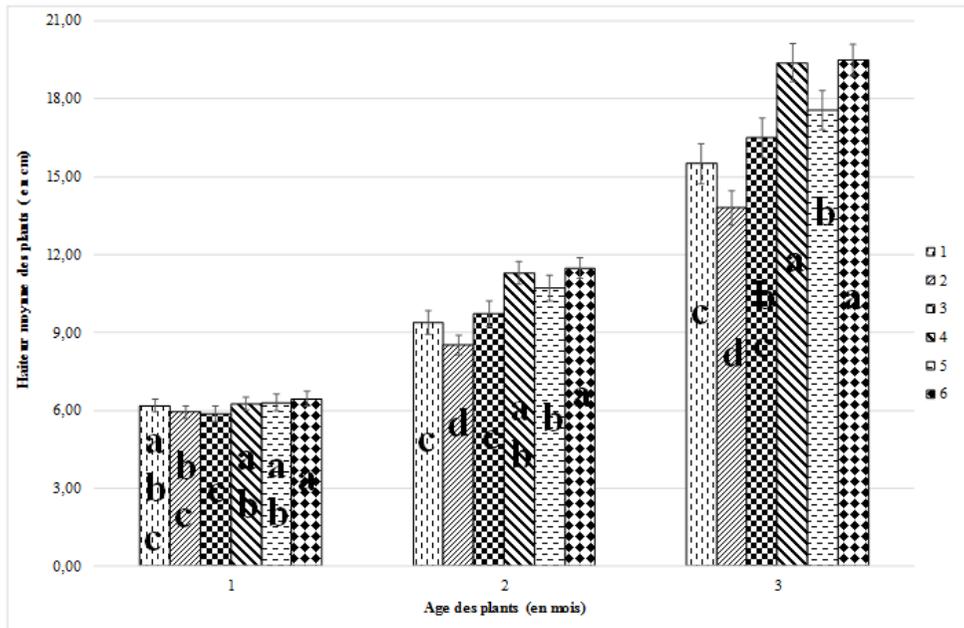


Figure 5 : Evolution de la hauteur des plants de *Acacia mangium* Willd. par type de substrat à 1, 2 et 3 trois mois après transplantation. Les bars représentent l'intervalle de confiance estimé à partir de 88 mesures individuelles par type de substrat. Les lettres distinguent les valeurs moyennes qui sont significativement différentes, au seuil de 5%. Voir le texte pour plus d'information.

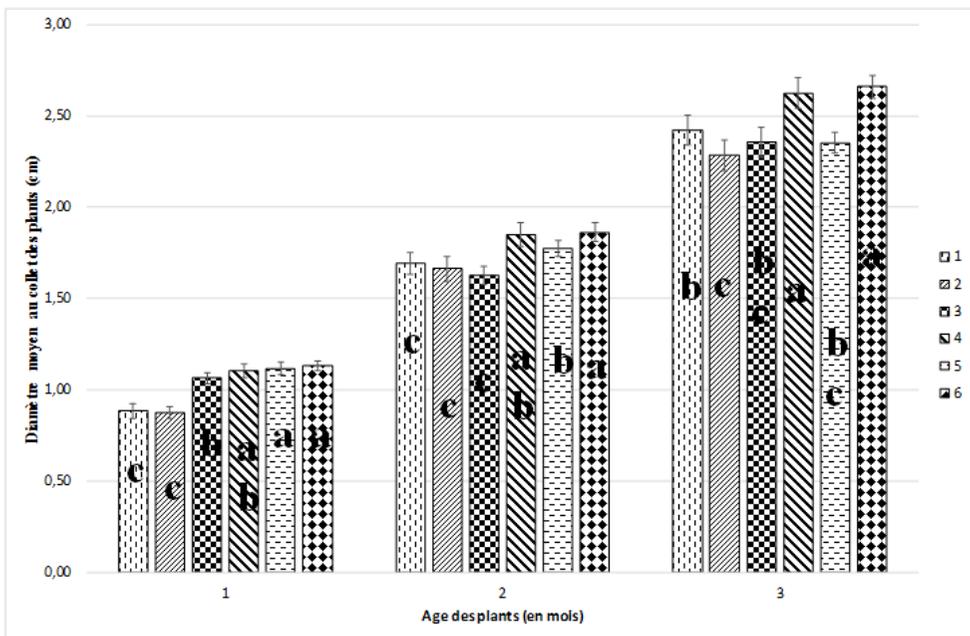


Figure 6 : Evolution du diamètre des plants de *Acacia mangium* Willd. en par type de substrat à 1, 2 et 3 trois mois après transplantation. Les bars représentent l'intervalle de confiance estimé à partir de 88 mesures individuelles par type de substrat. Les lettres distinguent les valeurs moyennes qui sont significativement différentes, au seuil de 5%. Voir le texte pour plus d'information.

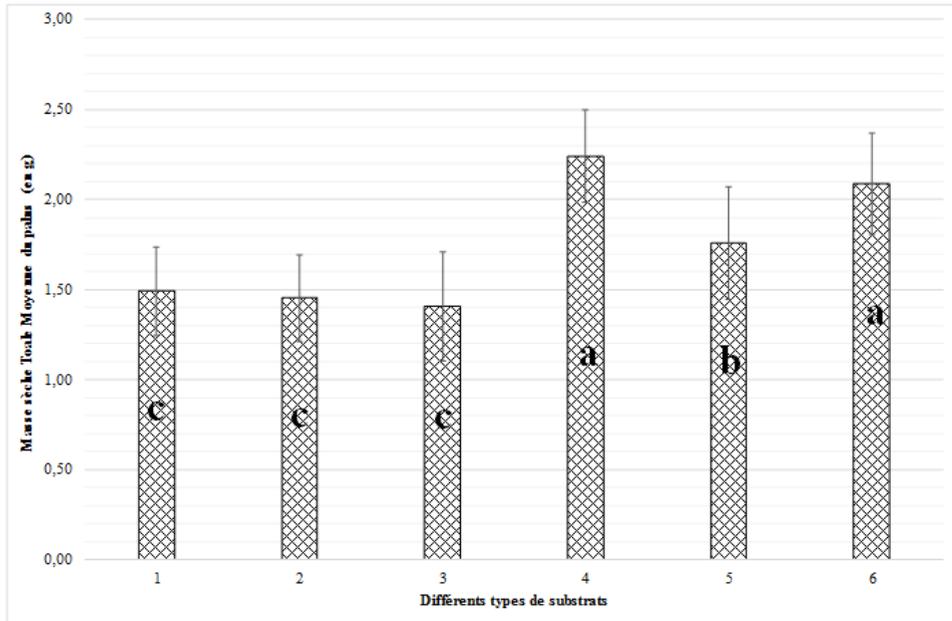


Figure 7 : Biomasse totale des plants *Acacia mangium* Willd. en fonction du type de substrat à 3 mois après transplantation. Les bars représentent l'intervalle de confiance estimé à partir de 88 mesures individuelles par type de substrat. Les lettres distinguent les valeurs moyennes qui sont significativement différentes, au seuil de 5%. Voir le texte pour plus d'information.

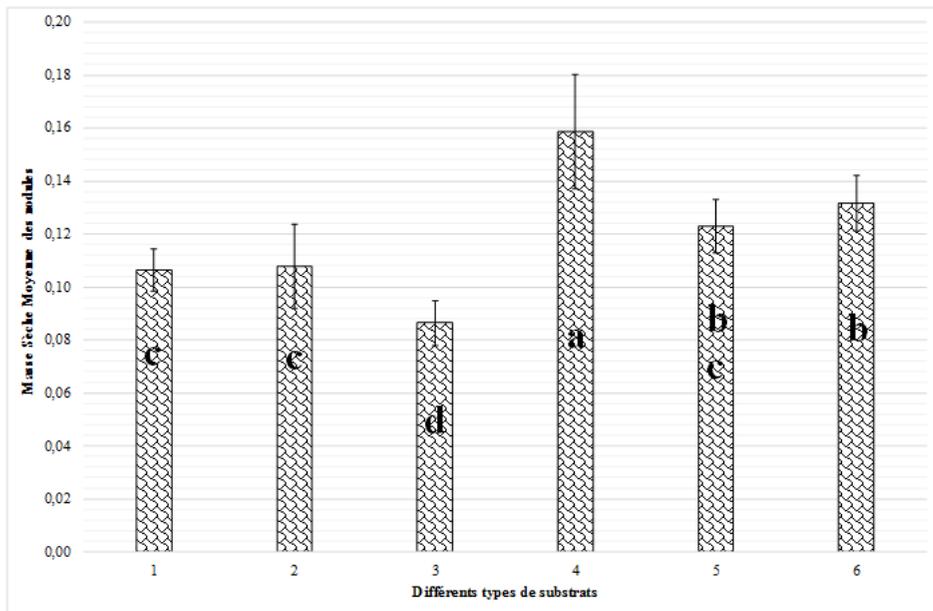


Figure 8 : Masse sèche des nodules en fonction du type de substrat chez *Acacia mangium* Willd., 3 mois après transplantation (Age de plantation). Les bars représentent l'intervalle de confiance estimé à partir de 88 mesures individuelles par type de substrat. Les lettres distinguent les valeurs moyennes qui sont significativement différentes, au seuil de 5%. Voir le texte pour plus d'information.

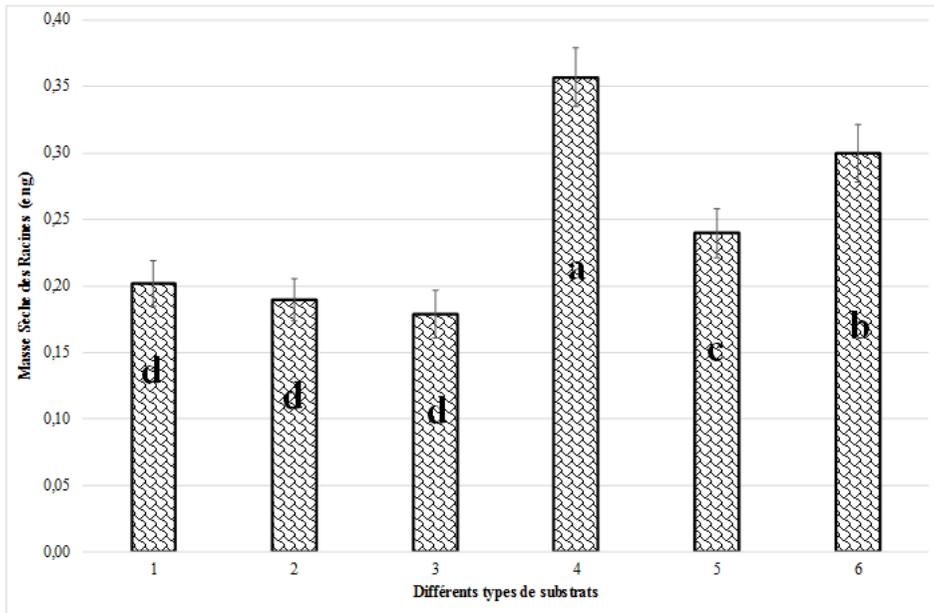


Figure 9 : Variation de la masse sèche des racines en fonction du type de substrat chez *Acacia mangium* Willd., 3 mois après transplantation. Les bars représentent l'intervalle de confiance estimé à partir de 88 mesures individuelles par type de substrat. Les lettres distinguent les valeurs moyennes qui sont significativement différentes, au seuil de 5%. Voir le texte pour plus d'information.

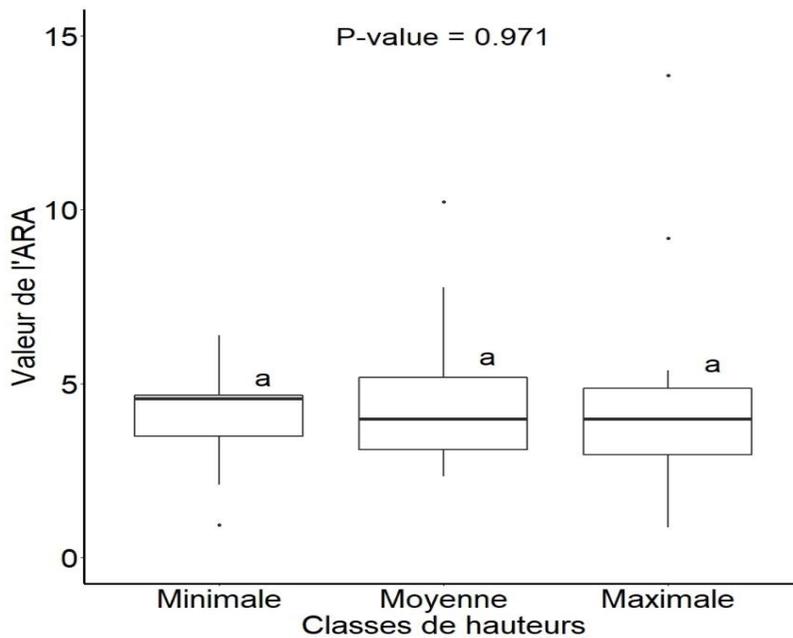


Figure 10 : Estimation de la quantité d'éthylène fixée en fonction des classes de hauteurs, à 3 mois après transplantation. Les valeurs de l'ARA représentent la quantité d'éthylène fixée en $\mu\text{Mol/h}$. La moyenne a été calculée à partir de 12 mesures individuelles par classe de hauteurs. Les lettres distinguent les valeurs moyennes qui sont significativement différentes, au seuil de 5%.

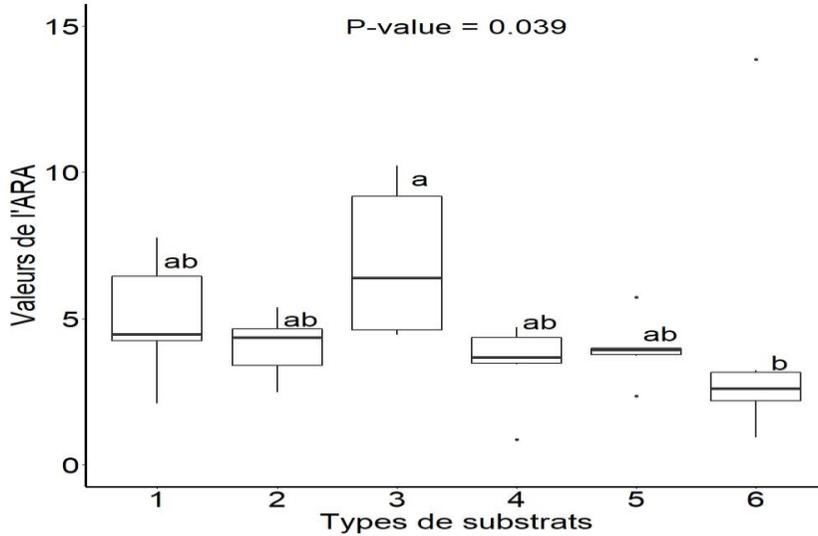


Figure 11 : Estimation de la quantité d'éthylène fixée par types de substrats des plants chez *Acacia mangium* Willd. à 3 mois après transplantation. Les valeurs de l'ARA représentent la quantité d'éthylène fixée en $\mu\text{Mol/h}$. La moyenne a été calculée à partir de 6 mesures individuelles par type de substrat. Les lettres distinguent les valeurs moyennes qui sont significativement différentes, au seuil de 5%.

DISCUSSION

Les plants installés sur les substrats de types 2 et 3 ont présenté dès le début de la phase de l'élevage en plein éclaircissement, un retard de croissance comparativement à ceux élevés sur les substrats de types 4 et 6, parce que la sciure de bois non décomposée, composante majeure de ces types de substrats, n'aurait pas été colonisée par les symbiotes d'*Acacia mangium*. Aussi, le caractère inerte de ces types de substrats, au début de l'expérimentation serait également une explication plausible. Il ressort des résultats obtenus que les types de substrats ayant une forte proportion de terre sont les meilleurs. Ce qui s'expliquerait par le fait que la croissance des *Acacia spp.* est modulée par des bactéries (rhizobium) logés dans la terre (Vernié, 2008). En plus, la terre fournit des nutriments dès les premiers instants de croissance aux jeunes plants et stimule, grâce à ses microorganismes, la nodulation, une stimulation qui serait comprise comme une mise à disposition des éléments nutritifs dans le cas d'un apport minéral d'engrais azotés expérimenté par Amba et al. (2013).

Les valeurs moyennes de Masse Sèche Totale (Biomasse Totale) les plus élevées ont

été observées au niveau des substrats de types 4 et 6. Ce qui justifie naturellement les corrélations de l'ordre 0,58 et 0,52 obtenues respectivement entre la Biomasse Totale et la Hauteur à 3 mois et entre la Biomasse Totale et le Diamètre à 3 mois. Ces résultats sont conformes à ceux obtenus par M'sadak et al. (2012), qui ont montré que le diamètre au collet peut expliquer à plus de 97% la variation de la masse totale du plant.

Pour ce qui est de la MSN, les valeurs moyennes les plus élevées ont été obtenues avec le substrat de type 4. Ce substrat est suivi des substrats de types 6 et 5. Ces résultats montrent que le mélange sciure, terre noire et charbon permet un bon développement des nodules. Notons que, ces meilleurs substrats ont une proportion de terre supérieure ou égale à 50%. Dans ce sens, nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Bongoua et al (2018) qui ont montré que le type de substrat composé de 2/3 de fibres de coco et de 1/3 de sol était le meilleur en termes de croissance et de nodulation, en pépinière, pour les plants d'*Acacia mangium*, comparativement à celui constitué de 100 de fibres de coco.

L'analyse de l'Activité Réductrice d'Acétylène a révélé que la dose de fertilisation

apportée aux plants n'a entraîné ni l'avortement des nodules ni l'arrêt de l'activité fixatrice de l'azote pour les plants. Aussi, nos résultats ont montré que le substrat de type 3 qui a présenté la Biomasse Totale la plus faible ainsi que les plus faibles valeurs des paramètres de croissance à trois mois, a par contre enregistré la plus importante activité de réduction d'acétylène. En considérant que l'apport de l'azote booste la croissance des plants (Schulz and Glaser, 2012), nos résultats sont conformes à ceux trouvés par Uddin et al. (2008), qui soutiennent que le nombre et la taille des nodules peuvent être considérablement contraints par l'utilisation d'engrais azotée, bien que la dose apportée en soit le déterminant (N'dri Kouassi et al., 2019). Aussi la pauvreté en azote (Voisin et al., 2010) ou en phosphore (Qiao et al., 2007 ; Chen et al., 2011 ; Qin et al., 2012) d'un milieu de croissance stimule chez les légumineuses la nodulation (Qiao et al., 2007, Voisin et al., 2010), bien que les travaux de Razzaque et al. (2016) aient prouvé le contraire. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Voisin et al. (2010) qui soutiennent que la fixation symbiotique démarre dès que les réserves et les reliquats azotés ne permettent plus de subvenir aux besoins en azote pour la croissance.

Conclusion

Cette étude a révélé que la dose de fertilisation appliquée n'inhibe ni la nodulation ni le fonctionnement des nodules. Ainsi, elle a permis d'optimiser les conditions de production des plants de *Acacia mangium* en pépinière, dans des caissettes alvéolées avec un substrat composé de 50% de terre noire + 25% de sciure fine de bois + 25% de charbon de bois. Elle n'a pas révélé un effet classe de hauteurs sur la fixation de l'éthylène mais plutôt une influence du type de substrat sur l'ARA. L'itinéraire de production des plants dans des plaques alvéolées a été adopté par les reboiseurs dans la mesure où elle facilite la logistique lors des plantations. Avec cet itinéraire, un nombre de plants égal à 50 000 peut être levé en pépinière avec un seul chargement du véhicule spécialisé de transport des plants.

CONFLIT D'INTERETS

Les auteurs déclarent qu'ils n'ont pas de conflit d'intérêts.

CONTRIBUTIONS DES AUTEURS

M-NJS a suivi le dispositif expérimental en pépinière. MF a supervisé les travaux de recherche. JBB a exécuté le protocole ARA. Tous les auteurs ont participé à la rédaction de l'article.

REMERCIEMENTS

Nous remercions la Coordination Nationale du Programme National d'Afforestation et de Reboisement (CN-PRONAR), commanditaire de cette étude pour avoir mis les moyens nécessaires à sa réalisation. Aussi, nous exprimons notre gratitude à l'endroit du Professeur Antoine GALIANA pour ses conseils et pour avoir facilité nos analyses.

REFERENCES

- Akouehou SG, Agbahungba AG, Houndehin J, Mensah GA, Sinsin BA. 2011. Performance socio-économique du système Agroforestier à *Acacia auriculiformis* dans la Lama au sud du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **5**(3): 1039-1046.
- Amba AA, Agbo EB, GarbaA. 2013. Effect of nitrogen and phosphorus fertilizers on nodulation of some selected grain legumes at Bauchi, Northern Guinea Savanna of Nigeria. *Int. J. Biosc.*, **3**(10): 1-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.12692/ijb/3.10.1-7>
- Bangata BM, Ngbolua KN, Mawa M, Minengu M, Mobambo KN. 2013. Etude comparative de la nodulation et du rendement de quelques variétés d'arachide (*Arachis hypogaea* L., Fabaceae) cultivées en conditions éco-climatiques de Kinshasa, République Démocratique du Congo. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **7**(3): 1034-1040. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v7i3.11>
- Bassiloua JB. 2006. Variabilité de la nodulation d'*Acacia mangium* Willd.

- dans une chronoséquence Eucalyptus-Acacia. Mémoire de DEA, Université Marien Ngouabi, République du Congo, 50 p.
- Bisiaux F, Muliele JC, Peltier R. 2009. Plantations industrielles et agroforesterie au service des populations des plateaux Batéké, Mampou, en République Démocratique du Congo. *Bois et Forêts des Tropiques*, **301**(3): 21-22. DOI: <https://doi.org/10.19182/bft2009.301.a20404>
- Bongoua-Devisme A J, Ndoye F, Gnimassoun E-G, Diouf D, Balland-Bolou-Bi C, Djagoua EMV, Yao-Kouame A. 2018. Effet de la Proportion de Fibre de Coco Ajoutée au sol sur la Croissance des Plants d'*Acacia mangium*. *European Journal of Scientific Research*, **150**(4): 396-404.
- Bouvet J-M, Makouanzi G, Cros D, Vigneron P. 2016. Modeling additive and non-additive effects in a hybrid population using genome-wide genotyping: prediction accuracy implications. *Heredity*, **116**: 146–157. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/hdy.2015.78>
- Bulakali BP, Aloni J, Palata JC, Mergeai G. 2014. Performances de trois variétés de manioc (*Manihot esculenta* Crantz) cultivées en association avec *Stylosanthes guianensis* (Aublet) Swartz dans les conditions du plateau des Batéké (ville-province de Kinshasa, RDC). *Tropicicultura*, **32**(4): 158-167.
- Chaer GM, Resende AS, Campello EFC, de Faria SM, Boddey RM. 2011. Nitrogen fixing legume tree species for the reclamation of severely degraded lands in Brazil. *Tree Physiol*, **31**: 139–149. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpq116>
- Chen Z, Cui Q, Liang C, Sun L, Tian J and Liao H. 2011. Identification of differentially expressed proteins in soybean nodules under phosphorus deficiency through proteomic analysis. *Proteomics*, **11**: 4648–4659. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.201100231>
- Dubiez E, Marien JN, Bisiaux F, Freycon V, Peroches A, Peltier R. 2014. La durabilité des systèmes agroforestiers à *Acacia auriculiformis* A. Cunn ex Benth. en Afrique centrale. Projet Cap Makala, Les Notes de Perspectives N°7 - Juillet 2014, 4 p.
- Dubiez E, Freycon V, Marien JM, Peltier R, Harmand JM. 2018. Long term impact of *Acacia auriculiformis* woodlots growing in rotation with cassava and maize on the carbon and nutrient contents of savannah sandy soils in the humid tropics (Democratic Republic of Congo). *Agrofor Syst.*, **93**: 1167–1178. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10457-018-0222-x>
- Forrester DI, Buhus J, Cowie AL. 2005. On the success and failure of mixed-species tree plantations: lessons learned from a model system of *Eucalyptus globulus* and *Acacia mearnsii*. *Forest Ecology and Management*, **209**: 147-155. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.01.012>
- Galiana A, Alabarce J, Duhoux E. 1990. Nodulation in vitro de *Acacia mangium* Willd (Leguminosae). *Annales des Sciences Forestières, INRA/EDP Sciences*, **47**(5): 451-460. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2005.01.012>
- Hardy RWF, Holsten RD, Jackson EK, Burns RC. 1968. The Acetylene - Ethylene Assay for N₂ Fixation: Laboratory and Field Evaluation. *Plant Physiol.*, **43**: 1185-1207. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.43.8.1185>
- Hollander M, Wolfe DA. 1973. Nonparametric statistical methods. John Wiley & Sons: New York. <https://doi.org/10.1002/bimj.19750170808>
- Kasongo RK, Ranst EV, Kanyankogote P, Verdoodt A, Baert G. 2012. Réponse du soja (*Glycine max*) à l'application de phosphate de Kanzi et de dolomie rose de Kimpese sur sol sableux en RD Congo. *Canadian J. Soil Science*, **92**(6) : 905-916. DOI: <https://doi.org/10.1139/CJSS2011-097>
- Kasongo RK, Van Ranst E, Verdoodt A, Kanyankogote P, Baert G. 2009. Impact

- of *Acacia auriculiformis* on the chemical fertility of sandy soils on the Bateke´ plateau (DR Congo). *Soil Use and Management*, **25**: 21-27. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1475-2743.2008.00188.x>
- Kooke GX, Ali RKFM, Djossou J-M, Toko Imorou I. 2019. Estimation du stock de carbone organique dans les plantations de *Acacia auriculiformis* A. Cunn. ex Benth. des forêts classées de Pahou et de Ouèdo au Sud du Bénin. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **13**(1): 277-293. DOI: <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i1.23>
- Koutika LS, Richardson DM. 2019. *Acacia mangium*: Benefits and threats associated with its increasing use around the world. *Forest Ecosystems*, **6**(2): 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40663-019-0159-1>
- Koutika LS, Mareschal L, Epron D. 2016. Soil P availability under eucalypt and acacia on Ferralic Arenosols, Republic of the Congo. *Geoderma Reg*, **7**: 153–158. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.geodrs.2016.03.001>
- Koutika L-S, Mareschal L. 2017a. Acacia and eucalypt change P, N and C concentrations in POM of arenosols in the Congolese coastal plains. *Geoderma Reg*, **11**: 37–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.geodrs.2017.07.009>
- Koutika L-S, Ngoyi S, Cafieroand L, Bevivino A. 2019. Soil organic matter quality along rotations in acacia and eucalypt plantations in the Congolese coastal plains. *Forest Ecosystems*, **6**(2): 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40663-019-0197-8>
- Koutika L-S, Tchichelle SV, Mareschal L, Epron D. 2017b. Nitrogen dynamics in a nutrient-poor soil under mixed-species plantations of eucalypts and acacias. *Soil Biol Biochem*, **108**:84–90. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.01.023>
- Laclau JP, Bouillet JP, Gonçalves JLM, Moreira MZ, Trivelin P, Jourdan C, Silva EV, Piccolo MC, Tsai SM, Galiana A. 2008. Mixed-species plantations of *Acacia mangium* and *Eucalyptus grandis* in Brazil. Growth dynamics and above ground net primary production. *Forest Ecol. Manag.*, **255**: 3905-3917. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.10.049>
- M’sadak Y, El Amri A, Majdoub R, Ben Ali M. 2014. Caractérisations physique et hydrique des substrats de culture des plants forestiers en conteneurs. *Larhyss Journal*, **17** : 7-20.
- M’sadak Y, Elouaer MA, Kamel RE. 2012. Évaluation des substrats et des plants produits en pépinière forestière. *Bois et Forêts des Tropiques*, n° **313** (3) : 61-71. DOI: <https://doi.org/10.1918/bft2012.313a20497>
- Makouanzi G, Chaix G, Nourissier S, Vigneron P. 2017. Genetic variability of growth and wood chemical properties in a clonal population of *Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus grandis* in the Congo. *Southern Forests: a Journal of Forest Science*, **1**-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.2989/20702620.2017.1298015>
- Mankessi F, Saya AR, Toto M, Monteuuis O. 2010. Propagation of *eucalyptus urophylla* x *eucalyptus grandis* clones by rooted cuttings: influence of genotype and cutting type on rooting ability. *Propagation of Ornamental Plants*, **10**(1): 42-49.
- Mianhai Zheng, Hao Chen, Dejun Li, Xiaomin Zhu, Wei Zhang, Shenglei Fu, Jiangming Mo. 2016. Biological nitrogen fixation and its response to nitrogen input in two mature tropical plantations with and without legume trees. *Biol Fertil Soils*, **52**: 665–674. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-016-1109-5>
- N’dri Kouassi J, N’guessan Kouame, Koutoua Ayolie, Koffi Yao J, Kouadio Yatty J. 2019. Influence de la fertilisation sur la capacité de nodulation de deux espèces de légumineuses, *Vigna radiata* L. Wilczek et *Vigna unguiculata* L. Walp (Fabaceae). *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **13**(7): 3079-3086.

- DOI:
<https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v13i7.9>
- Orwa C, Mutua A, Kindt R, Jamnadass R, Anthony S. 2009. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. ICRAF Centre Mondial de l'Agroforesterie, Nairobi, Kenya, 5 p.
- Qiao WH, ZhaoXY, LI W, Zhang XY. 2007. Overexpression of AeNHX1, a root-specific vascular Na⁺/H⁺ Antiporter from *Agropyron elongatum*, confers salt tolerance to arabidopsis and festuca plants. *Plant Cell Reports*, **26**(9): 1663-72. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0354-3>
- Qin L, Zhao J, Tian J, Chen L, Sun Z, Guo Y, Liao H. 2012. The High-Affinity Phosphate Transporter GmPT5 Regulates Phosphate Transport to Nodules and Nodulation in Soybean. *Plant Physiology*, **159**: 1634-1643. <https://doi.org/10.1104/pp.112.199786>
- Razzaque MA, Haque MM, Karim MA, Solaiman ARM. 2016. Nitrogen fixing ability of mungbean genotypes under different levels of nitrogen application. *Bangladesh J. Agril. Res.*, **41**(1): 163-171. DOI: <https://doi.org/10.3329/bjar.v41i1.27681>
- Saya AR, Mankessi F, Toto M, Marien J-N, Monteuis O. 2008. Advances in mass clonal propagation of *Eucalyptus urophylla* x *E. grandis* in the Republic of Congo. *Bois et Forêts des Tropiques*, **297**(3) : 15-25.
- Schulz H and Glaser B. 2012. Effects of biochar compared to organic and inorganic fertilizers on soil quality and plant growth in a greenhouse experiment. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, **175**: 410-422. DOI: <https://doi.org/10.1002/jpln.201100143>
- Smith E, Kuria A, Muthuri C, Kindt R, Sinclair F. 2012. Interventions agroforestières pour lutter contre l'érosion et la pauvreté dans les bassins du Lac Tanganyika - République Démocratique Du Congo (RDC). The World Agroforestry Centre Po Box 30677-00100 Nairobi, Kenya, 73 p.
- Soro K, Mangara A, Kouame NMT, Soro D, Bakayoko A, Balle P. 2015. Impact d'une jachère améliorée et du calendrier cultural sur le rendement du maïs dans le Sud de la Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, **9**(4): 1790-1798. DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v9i4.5>
- Tchichelle SV, Epron D, Mialoundama F, Koutika L-S, Harmand J-M, Bouillet J-P, Mareschal L. 2017. Differences in nitrogen cycling and soil mineralisation between a eucalypt plantation and a mixed eucalypt and *Acacia mangium* plantation on a sandy tropical soil. *Southern Forest: a journal of forest sciences* **79**(1): 1-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.2989/20702620.2016.1221702>
- Uddin MB, Khan MAS, Mukul SA, Hossain MK. 2008. Effects of inorganic fertilizers on biological nitrogen fixation and seedling growth of some agroforestry trees in Bangladesh. *Journal of Forestry Research*, **19**(4): 303-306. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11676-008-0054-z>
- Vernié T. 2008. Analyse fonctionnelle d'EFD, un régulateur transrationnel de la nodulation au cours de l'interaction symbiotique entre *Medicago truncatula* et *Sinorhizobium meliloti*. Thèse de Doctorat de. Université Toulouse Iii – Paul Sabatier, 96 p.
- Voisin AS, Munier-Jolain NG, Salon C. 2010. The nodulation process is tightly linked to plant growth. An analysis using environmentally and genetically induced variation of nodule number and biomass in pea. *Plant and Soil*, **337**: 399-412. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0536-6>.