

# Essai d'inoculation d'*Azolla Africana* dans un milieu peuplé de *Lebistes Reticulatus*

Pierre Adrien REYNAUD\*  
Claude PAYCHENG\*\*

\* Microbiologiste ORSTOM.

\*\* Chimiste ORSTOM,  
B.P. 1386, Dakar, Sénégal

## Résumé

*L'inoculation d'Azolla africana dans les mares d'irrigation des cultures maraîchères de la région du Cap-Vert (Sénégal), après un début prometteur, a échoué.*

*Ce travail met en évidence l'activité prédatrice du poisson *Lebistes reticulatus* et un échange chimique entre ces deux espèces. *Azolla* n'est pas une nourriture complète pour le poisson mais en sa présence l'augmentation de la concentration en carbone et en calcium de ce dernier est accrue alors qu'*Azolla* augmente, aux dépens du poisson, sa concentration en sodium lorsque ce dernier est éliminé.*

**Mots-clefs :** Inoculation - *Azolla africana* - *Lebistes reticulatus* - composition chimique.

## Abstract

EFFECT OF *AZOLLA AFRICANA* INOCULATION IN *LEBISTES RETICULATUS* SURROUNDING

*Azolla africana inoculation in an irrigation pond of market-garden in Cap-Vert région (Sénégal), after a first promising stage, failed. This paper shows the predator activity of the fish *Lebistes reticulatus* and studies chemical exchanges between these two species. *Azolla* is not a complete nutriment for the fish but increases its carbon and calcium rate whereas *Azolla*, with *L. reticulatus*, increases its sodium rate.*

**Key words :** Inoculation - *Azolla africana* - *Lebistes reticulatus* - Chemical composition.

## INTRODUCTION

L'association *Azolla-Anabaena* est une symbiose entre une fougère hydroptéridée et une Cyanobactérie fixatrice d'azote (PETERS *et coll.* 1979). On la rencontre fréquemment dans les écosystèmes d'eau douce des régions tempérées et tropicales (BECKING 1979). Sa capacité de fixer l'azote est équivalente à celle des légumineuses les plus efficaces (ROGER et REYNAUD 1979). Elle pourrait constituer une source d'azote biologique sous la forme d'engrais vert ou de fourrage, ce qui explique l'intérêt qu'on lui porte actuellement.

Les pays asiatiques l'utilisent comme fertiliseur azoté dans la riziculture (SING 1977, KULASOORIYA et DA SILVA 1977, LIU CHUNG CHU 1979, DAO, THE

TUAN et TRAN QUANG THUYET 1979). SING (1979) résume ses conditions optimales de développement : température de 20 à 30° C, pH de 5 à 8, dans une lame d'eau de 5 à 10 cm, et apport de 4 à 8 kg de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, de 4 à 10 kg de K<sub>2</sub>O et de 50 kg de cendres domestiques par hectare.

Au Sénégal, à côté des essais qui se poursuivent en rizière, nous avons essayé d'introduire *Azolla pinnata* var. *africana* dans un biotope caractéristique de la zone maraîchère : la céane. La céane est un trou d'eau qui peut atteindre 5 mètres de diamètre creusé dans le sol et alimenté par la nappe phréatique. Elle est utilisée pour l'arrosage à la main et plus rarement à la pompe, des cultures maraîchères qui l'entourent. L'azote est fourni normalement à ces cultures par les résidus de poisson et les coques d'arachide. La multi-

plication d'*Azolla* dans les céanes puis son enfouissement dans le sol constituerait un apport d'engrais azoté appréciable.

Un essai a été tenté en ce sens : nous avons inoculé à raison de 200 g d'*Azolla* fraîche par mètre carré, une céane et avons observé un doublement de la surface recouverte par *Azolla* en trois jours. Au bout de quinze jours lorsque *Azolla* a recouvert la totalité de la surface de l'eau, elle a commencé à jaunir puis à disparaître. Les constantes abiotiques de la céane sont compatibles avec la culture d'*Azolla* : température voisine de 30° C, pH 8, niveau d'eau constant, intensité lumineuse non limitante.

Il s'est donc développé parmi les organismes vivant dans ce biotope en homéostasie, après un temps de latence, une réaction négative à l'introduction d'*Azolla*.

Ce travail a pour but de définir le type de cohabitation entre *A. africana* et *Lebistes reticulatus*, poisson insectivore que l'on rencontre dans toutes les céanes du Cap Vert où il est introduit par obligation légale afin d'éliminer les larves de moustiques.

Pour préciser l'influence que ces deux espèces ont l'une sur l'autre nous avons étudié les possibilités d'échanges de quelques éléments nutritifs dans un environnement simplifié.

## MATERIEL ET METHODES

### 1. COMPOSANTS DU SYSTEME

Les éléments constituant le système dont nous étudions les variations ont été analysés en début

d'expérience et leurs compositions élémentaires sont regroupées dans le tableau I.

1.1. *Azolla pinnata*, var. *africana* : cette fougère aquatique a été prélevée dans un cours d'eau de moyenne Casamance (ROGER et REYNAUD, 1979) et cultivée dans le milieu de culture dont la composition est donnée au tableau I. Au début de l'expérience les frondes ont été lavées, pesées et réparties à raison de 3 g poids frais par module. Pour abrégé nous l'appellerons *Azolla* dans le texte.

1.2. *Lebistes reticulatus* : le guppi commun de la famille des Cyprinodontes provient d'une céane de la périphérie de Dakar. Les mâles et les femelles ont été conservés en aquarium pendant 1 mois. Les mâles très colorés ont une taille moyenne de 20,8 ± 1,4 mm, leur poids frais est de 90,5 mg ; les femelles ternes ont une taille moyenne de 22,8 ± 2,8 mm, leur poids frais est de 140 mg. Le poids sec représente 26 % du poids frais. Pour abrégé nous l'appellerons *Lebistes* dans le texte.

En début d'expérience les poissons ont été regroupés en lots homogènes de deux femelles et quatre mâles par module.

1.3. *Nourriture pour poisson* : une nourriture naturelle pour poissons comportant des substances nutritives d'origine animale et végétale et des vitamines, le Tétramin (Soc. Tétra : D 452 Melle 1003 FR) a été donné aux poissons à l'exclusion de tout autre aliment.

1.4. *Module* : il est constitué d'un récipient en altuglas de 20 × 29,5 cm contenant 700 g de sable sec dit « de Cambérène » et de 10 litres d'eau déminéralisée.

TABLEAU I

Composition chimique des éléments entrant dans la constitution des systèmes

	C	N	P	K	S	Na	Fe	Mg	Ca	Cl
<i>L. reticulatus</i> mg_g poids sec	548	102	28,5	1,3	0,58	—	0,105	1,02	52	—
<i>A. africana</i> mg/g poids sec	460	27	7	20,7	0	3,65	6,3	2,60	20,4	—
Tétramin mg/g poids sec	50	6	4,8	9,16	10,3	7,13	—	1,68	11,7	21,3
Substrat : sable + eau mg/module	156	0,4	2,7	1,23	0,52	14,2	—	6,66	21	21,9
Milieu <i>Azolla</i> mg/module	0	0	619	2331	2620	1,5	19	1988	3135	7043

De l'eau déminéralisée est rajoutée au cours de l'expérience pour compenser l'évaporation.

## 2. CONDITIONS EXPÉRIMENTALES

Le système expérimental est formé d'un bloc de 10 modules éclairé par 4 lampes Mazda Fluor Blanc Industrie 80 TFR, 12 h sur 24, fournissant au niveau de l'eau une intensité lumineuse correspondant à 190 milli watt par m<sup>2</sup>. La température ambiante est de 30° C, l'humidité relative varie quotidiennement entre 100 et 70 %. L'oxygénation est assurée 12 h sur 24 h par une pompe à air qui débite dans chaque module par l'intermédiaire de pipes en verre fritté 100 ml d'air par mn.

## 3. PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Une expérience préliminaire ayant montré que *Lebistes* mourrait en 48 h en présence d'une concentration normale de milieu pour *Azolla*, les 5 traitements ont été retenus et appliqués chacun à deux modules répartis au hasard dans le bloc de 10.

Traitement 1 (T1) : *Azolla* + *Lebistes* + nourriture pour poisson.

Traitement 2 (T2) : *Azolla* + *Lebistes*.

Traitement 3 (T3) : *Lebistes* + nourriture pour poisson.

Traitement 4 (T4) : *Azolla* + milieu pour *Azolla*.

Traitement 5 (T5) : *Azolla* + nourriture pour poisson.

L'expérience s'est poursuivie jusqu'à la mort des trois quarts des poissons du deuxième traitement, soit pendant 43 jours.

4. ANALYSES CHIMIQUES : en fin d'expérience *Azolla* et *Lebistes* ont été récoltés séparément, séchés et les analyses chimiques ont été faites pour chaque répétition des traitements. On a procédé de même pour le sable.

Les éléments chimiques ont été dosés au moyen des méthodes suivantes :

- Carbone : carmohographe ; l'échantillon est brûlé dans un courant d'oxygène à 1200° C, le CO<sub>2</sub> dégagé est amené dans une cellule de mesure. La variation de conductivité est proportionnelle à la teneur en carbone de l'échantillon.
- Soufre : Sulmhographe ; l'échantillon est brûlé dans un courant d'O<sub>2</sub>, le SO<sub>2</sub> dégagé est dissous dans un mélange acide sulfurique + eau oxygénée puis dosé par conductimétrie.
- Azote : méthode de Kjeldahl, dosage colorimétrique au Technicon du bleu d'indo-phénol.
- P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> total : attaque nitrique, dosage colorimétrique au Technicon du bleu de molybdène.
- Fer total ; attaque chlorhydrique, dosage colorimétrique par l'orthophénantroline.

- Bases échangeables : extraction par l'acétate d'ammonium.
- Ca et Mg : absorption atomique.
- Na et K : émission de flamme.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les traitements sont regroupés en deux séries :

- Série A : conditions normales de croissance, c'est-à-dire nourriture pour poisson pour *Lebistes* (T3) et milieu de culture pour *Azolla* (T4) et aussi coexistence des deux espèces en l'absence de milieu nutritif (T2).
- Série B : apport de nourriture pour poisson dans chaque traitement, ce qui s'apparente au cas d'une inoculation d'*Azolla* dans un céane déjà colonisée par *Lebistes* (T1, T3, T5).

### 1. OBSERVATIONS DIRECTES

Dans les traitements où les espèces sont réunies, *Azolla* présente soit une croissance ralentie (série A) soit peu de racines et une infection par les champignons (série B). Ceci suggère un type de coaction bien défini : un effet phytophage du poisson sur la fougère. *Lebistes* désorganise les frondes d'*Azolla* en coupant les fragiles radicelles puis en séparant les feuilles. La croissance végétative est très ralentie et *Azolla* est contaminée par les champignons.

L'état anémique des poissons dans le traitement T2 montre qu'*Azolla* n'est pas une nourriture complète pour ceux-ci. Elle prolonge seulement leur survie.

On observe également que la nourriture pour poisson ne permet qu'un développement très ralenti quoique normal d'*Azolla* ; le Tétramin doit en effet être décomposé avant d'être assimilable par les racines ; il apporte néanmoins les éléments indispensables à la croissance.

### 2. COMPOSITION CHIMIQUE

L'étude des coactions entre les 2 espèces est complétée par leur influence réciproque sur l'assimilation d'éléments majeurs (carbone, azote, potassium, phosphore) et d'autres éléments (sodium, fer, magnésium, calcium, soufre). A cet effet nous avons regroupé dans le tableau II :

- 1 - La différence de poids sec moyenne des deux modules P1 - Po, pour chaque espèce entre le début (Po) et la fin (P1) de l'expérience.
- 2 - Le gain ou la perte d'un élément par une espèce dans chaque traitement : A1 - Ao où Ao et A1 sont les valeurs moyennes en mg par g de poids sec pour l'élément considéré, respectivement en début et en fin d'expérience.

TABLEAU II

Variations du poids sec et de la composition chimique d'*Azolla africana* (A.a.) et de *Lebistes reticulatus* (L.r.) dans les différents traitements (Voir détails dans le texte)

	Traitements	P1 - Po mg	A1 - Ao mg								
			C	N	P	K	Na	Fe	Mg	Ca	S
<b>Série A</b>											
Espèces réunies L.r.	T2	- 164	- 60	- 11	- 3	0,2	0,41	0,03	0,06	- 6,30	- 0,04
A.a.	T2	985	514	34	3,4	3,6	11,60	0,81	3,46	- 2,42	4,88
Espèces séparées L.r.	T3	114	54	11	3,2	2,1	1,85	0,08	0,28	1,70	2,40
A.a.	T4	1651	704	64	50	111	1,87	1,11	23,00	9,70	28,87
<b>Série B</b>											
Espèces réunies L.r.	T1	200	100	20	5,7	2,8	2,43	0,10	0,37	4,90	3,17
A.a.	T1	501	234	47	7	4,9	1,55	- 0,54	2,17	1,21	0,20
Espèces séparées L.r.	T3	114	54	11	3,2	2,1	1,85	0,08	0,28	1,70	2,40
A.a.	T5	782	479	62	12,2	12,7	10,40	- 0,76	3,61	- 0,04	9,95

Ces deux informations permettent de comparer d'un traitement à l'autre les échanges de chacun des éléments analysés.

**2.1 Variations des teneurs en éléments majeurs.** Chez *Lebistes* l'introduction d'*Azolla* n'a aucune influence dépressive sur sa composition relative lorsqu'il dispose d'une autre source de nourriture. Dans le cas contraire *Azolla* ne peut compenser la perte des éléments nutritifs principaux et les poissons meurent. Lorsque les espèces sont réunies on observe un déficit carboné relatif chez *Azolla* en présence de Tétramin c'est-à-dire lorsque les poissons ont une activité optimale. En l'absence de poissons les variations de la teneur en N sont du même ordre de grandeur dans le milieu pour *Azolla* et dans le milieu avec le Tétramin. Le potassium et le phosphore sont peut-être les facteurs limitant la croissance, on en retrouve beaucoup plus dans *Azolla* de T4 que dans les autres traitements. *Azolla* n'a pas utilisé le phosphore ou le potassium excrété par *Lebistes* dans le traitement T2.

En présence de *Lebistes* l'augmentation de la teneur en C d'*Azolla* est plus faible qu'en son absence (séries A et B) et, de plus l'augmentation de la teneur en C de *Lebistes* est plus grande en présence d'*Azolla* qu'en son absence (série B).

## 2.2. Variations de la teneur en autres éléments

**2.2.1. Sodium :** l'augmentation de la teneur en Na chez *Azolla* est équivalente en présence de Tétramin lorsque les espèces sont séparées (T5) et en l'absence de Tétramin avec les espèces réunies (T2). Elle

est 5 fois plus forte que dans les deux autres cas. La perte de poids en poisson et la diminution relative de la teneur en sodium dans le traitement T2 suggèrent la réutilisation de cet élément par la fougère.

**2.2.2. Fer total :** dans le cas de la croissance avec Tétramin *Azolla* accuse un déficit en fer (T1, T5).

**2.2.3. Magnésium :** les concentrations sont relativement stables ; on note cependant une augmentation relative plus marquée en T4. Il n'y a pas d'échange entre les deux espèces.

**2.2.4. Calcium :** en T2 on note une diminution relative pour les deux espèces. En T1, l'augmentation de la teneur en calcium de *Lebistes* est 3 fois plus importantes qu'en T3 et pour *Azolla* la teneur en Ca est très peu modifiée.

**2.2.5. Soufre :** l'augmentation de la teneur en soufre est beaucoup plus faible chez *Azolla* lorsque les deux espèces sont réunies que lorsqu'elles sont séparées. Dans le premier cas on rencontre dans le sable des traces de sulfato-réduction.

## CONCLUSION

L'ensemble des interactions entre *Lebistes reticulatus* et *Azolla africana* se résume à un développement amélioré du premier et un très net ralentissement de la croissance de la fougère.

*Lebistes* se présente comme un prédateur occasionnel d'*Azolla*. Il n'a pas besoin d'elle pour sur-

vivre. Les variations de la composition en éléments minéraux et les échanges observés entre les deux espèces n'ont permis de mettre en évidence qu'une utilisation du sodium de *Lebistes* par *Azolla* et une augmentation de la teneur en carbone et en calcium du

poisson en présence d'*Azolla*. Le poisson utiliserait *Azolla* préférentiellement à d'autres espèces végétales ; l'implantation de celle-ci dans les mares où se trouve déjà une population importante de *Lebistes reticulatus* semble vouée à l'échec.

## BIBLIOGRAPHIE

- BECKING (J.H.), 1979. - Environmental requirements of *Azolla* for use in tropical rice production. in « Nitrogen and Rice », IRRI, Los Banos : 345-374.
- DAO THE TUAN, TRAN QUANG THUYET, 1979. - Use of *Azolla* in rice production in Vietnam. in « Nitrogen and Rice », IRRI, Los Banos : 395-406.
- KULASOORIYA (S.A.), DA SILVA (R.S.Y.), 1977. - Effect of *Azolla* on yield of rice. *Int. Rice Res. Newsl.* 2 (3) : 10.
- LIU CHUNG CHU, 1979. - The use of *Azolla* in rice production in China. in « Nitrogen and Rice », IRRI, Los Banos : 375-394.
- PETERS (G.A.), MAYNE (B.C), RAY (T.B.), TOIA Jr. (R.E.), 1979. - Physiology and biochemistry of the *Azolla-Anabaena* symbiosis. in « Nitrogen and Rice », Los Banos : 325-344.
- ROGER (P.A.), REYNAUD (P.A.), 1979. - Premières données sur l'écologie d'*Azolla africana* en zone sahélienne (Sénégal). *Æcol. Plant.* 14 (1) : 75-84.
- SING (P.K.), 1977. - Multiplication and utilisation of fern « *Azolla* » containing nitrogen fixing algal symbiont as green manure in rice cultivation. *Riso* 26 : 125-138.
- SING (P.K.), 1979. - Use of *Azolla* in rice production in India in « Nitrogen and Rice », IRRI, Los Banos : 407-419.