

THÈSE

PRÉSENTÉE À L'UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE II

FACULTÉ DES SCIENCES DE LUMINY

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR D'ÉTAT-SCIENCES

PAR PIERRE REYNAUD

**Ecophysiologie des Cyanobactéries
Fixatrices d'Azote, libres ou en symbiose
(Azolla) dans la zone tropicale sèche ;
prospectives agronomiques.**

SOUTENUE LE 18 OCTOBRE 1984 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN :

MME G. COHEN-BAZIRE

M. J.P. BELAICH

M. F. BLANC

M. J.C. PATTE

M. J. SENEZ

M. A. VAQUER

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 24.780 ex 2

Cote : A

21/04/1988

TDM 30

ORSTOM

Editions de l'ORSTOM

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION

Collection :

Travaux et documents microédités

PARIS 1988

ISBN 2-7099-0901-4

© ORSTOM

« La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, « que les «copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective» et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, «toute représentation ou reproduction intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause, est illicite» (alinéa 1er de l'article 40).

« Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code Pénal».

F 3

A Jacqueline
A Celine , A Marie-Alix

A Marie et Victor

RESUME :

Sous les conditions climatiques spécifiques à la zone tropicale sèche (hautes intensités lumineuses, longue période de sécheresse) les potentialités fixatrices d'azote atmosphérique par les cyanobactéries libres ou en symbiose avec la fougère aquatique Azolla sont analysées.

Les études écophysiologiques et les essais d'algalisation et d'azollisation ont mis en évidence: 1) les corrélations positives entre cyanobactéries fixatrices et pH, concentrations en C,N,Ca,P,K et sol sableux; 2) l'existence des populations algales sous trois états définis en fonction des potentialités fixatrices: sélectif, accumulatif ou évolutif; 3) des probabilités de réussites optimales si l'algalisation a lieu au début de l'état évolutif; 4) la complexité de la population algale, réponse aux conditions limitantes de l'environnement; 5) les caractéristiques principales de la croissance, de la fixation d'azote, de la reproduction sexuée d'Azolla pinnata var. africana; 6) une hiérarchisation des facteurs favorisant l'azollisation; 7) l'importance de l'effet retard qui permet d'estimer à 120 kg N.ha^{-1} l'apport d'azote par l'azollisation sur un cycle végétatif du riz.

MOTS-CLES: Ecophysiologie, Cyanobactérie, Azolla, Riz, Fixation biologique de l'azote, Afrique tropicale sèche.

KEY-WORDS: Ecophysiology, Cyanobacteria, Azolla, Rice, Biological nitrogen fixation, Agronomic trials, dry tropical Africa.

...the cyanobacteria ,like a sleeping beauty,
just emerging from a profound coma of 150 years ...

Roger Y. STANIER (1980)

Monsieur le professeur STANIER m'a permis d'être parmi ceux qui ont pu assister au réveil de la "belle endormie"; son épouse Madame Germaine COHEN-BAZIRE a accepté de poursuivre cette tâche ingrate en devenant mon parrain de recherche et en participant à ce jury de thèse, je l'en remercie .

J'exprime ma gratitude à Monsieur le professeur Jacques SENEZ qui suit mes efforts et qui m'encourage depuis mes premières années de faculté .

Je remercie particulièrement Messieurs J.P. BELAICH , F. BLANC, J.C. PATTE et A. VAQUER qui ont accepté de juger ce travail.

Que Messieurs J.R. POSTGATE, W.V.P. STEWART et P. BOURRELLY qui m'ont fait part de leur savoir lors de mes séjours dans leurs laboratoires reçoivent ici l'expression de ma profonde reconnaissance .

La plus part des publications qui ont précédé ce travail ont été rédigées conjointement avec Pierre ROGER , son aide et son amitié m'ont été des plus précieuses, je ne l'en remercierai jamais assez .

Je tiens à remercier mes collègues du laboratoire de Biologie des Sols de DAKAR qui m'ont apporté leur concours et leur critiques : Y. DOMMERGUES , H.G. DIEM , G. RINAUDO , V. JACQ, C. FRANCHE, M. BOUREAU , P. PEDURAND ; ainsi que les chercheurs du Centre Océanographique de Thiaroye qui ont eu la patience de se pencher sur mes problèmes de statistiques et qui m'ont permis d'utiliser leurs installations : A. FONTANA , P. FREON , R. FAYE , F. LALOE , A. FONTENEAU , E. SUISSE DE STE CLAIRE .

Ce travail n'a pu être effectué qu'avec l'aval de la Direction Générale de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer et grâce aux possibilités offertes par le centre O.R.S.T.O.M. de DAKAR .

Je remercie en particulier P. DUPONT dont le flegme tranquille a résisté aux innombrables préparations de milieux, dosages d'azote et d'activité réductrice d'acétylène, mise au propre des graphiques , pendant toutes ces années .

Je ne peux oublier I. DIAWARA qui a su faire face avec brio au travail de dactylographie.

RESUME

Cette thèse est divisée en cinq chapitres et comprend deux annexes:

CHAPITRE 1: Ecologie des cyanobactéries fixatrices d'azote dans la zone tropicale sèche.

La méthode des suspensions-dilutions mise au point dans notre laboratoire a servi d'outil à une étude biométrique sur la composition et l'évolution de la flore algale dans les différents biotopes de la zone tropicale sèche. Les relations avec les paramètres biologiques, physicochimiques, climatiques des 86 stations de prélèvements, ont permis de distinguer trois états de la composition de la flore algale en rapport avec les potentialités de fixation d'azote photosynthétique:

a) Un état accumulatif: lorsque le sol est submergé depuis peu (mares temporaires, rizières en début de cycle), le nombre d'espèces algales et la biomasse sont élevés: ce matériel est disponible en vue des sollicitations ultérieures amenant des évolutions différentes. Lors de cet état, la fixation d'azote est très faible, les formes fixatrices ne représentent qu'une part peu importante de la biomasse totale. Elles sont limitées par les pH acides, par les hautes intensités lumineuses et par la minéralisation du carbone et de l'azote disponibles dans le sol.

b) Un état évolutif: avec une humidification suffisante, les biotopes évoluent pour aboutir, dans le cas optimum d'une rizière en fin de cycle à fort couvert végétal, à une dominance des cyanobactéries. L'établissement d'une flore fixatrice est facilité par le placement en profondeur des engrais azotés, le contrôle des prédateurs, et par une intensité lumineuse non limitante par excès ou par défaut.

c) Un état sélectif: dans la zone tropicale sèche il existe chaque année pour les sols cultivés une importante période de dessiccation. Les concrétions algales sont composées presque exclusivement de cyanobactéries; la résistance à la dessiccation, même à l'état quiescent, est un test sélectif pour l'isolement de souches fixatrices en vue d'une algalisation.

CHAPITRE 2: Facteurs biotiques et abiotiques affectant le développement et l'activité fixatrice d'azote des cyanobactéries.

Huit paramètres influant sur la fixation d'azote et sur la biomasse absolue et relative des cyanobactéries fixatrices d'azote mis en évidence au chapitre 1, sont testés dans les limites de leurs variations en zone tropicale sèche. Il s'agit de: l'intensité lumineuse jusqu'à 80 klux, la température entre 15 et 60° C, les réhumectations de courte durée, les variations de populations d'ostracodes (principaux prédateurs), le pH entre 4 et 10, la concentration en azote minéral dans les sols, la concentration en phosphore et la salinité jusqu'à des conductivités de 3 micromhos.

L'ensemble des résultats met en évidence l'adaptation des populations algales aux variations écologiques. Cette adaptation peut être considérée, sous deux aspects: l'adaptation de l'ensemble de la biomasse, ou celle, plus spécifique, des souches fixatrices. Cette dernière peut être une adaptation morphologique et/ou physiologique.

La composition de la biomasse totale dans un biotope est telle qu'elle permet, pour la gamme normale d'évolution de chaque paramètre, l'assurance d'une production continue (fixation d'azote par exemple).

CHAPITRE 3: Approche écophysiological de l'algalisation en zone tropicale sèche.

Le devenir d'une inoculation algale est tributaire de son importance par rapport à la population native.

La population algale d'une rizière passe de l'état accumulatif à l'état évolutif. Les essais d'inoculation de cyanobactéries sur cinq cycles culturaux du riz en microparcelles montrent que c'est lors de ce changement d'état, et non au début du cycle, que l'inoculation peut réussir, c'est-à-dire 30 à 40 jours après le semis, au moment du tallage. Une algalisation au tallage impose une deuxième algalisation sur le cycle de culture suivant, afin d'estimer leurs effets cumulatifs sur le rendement en grain.

L'effet de l'algalisation au tallage sera augmenté par l'apport de broyat de neem (Azadiracta indica), qui par son action insecticide, permet de décupler la biomasse algale totale et fixatrice et donc les potentialités de fixation biologique.

CHAPITRE 4: Ecophysiologie de la symbiose Azolla pinnata var. africana - Anabaena azollae.

Après avoir apporté quelques précisions sur la morphologie et la constitution chimique de la variété africaine d'Azolla pinnata, l'analyse des facteurs biotiques et abiotiques est effectuée par rapport à la croissance et à la fixation d'azote.

Une inoculation d'Azolla doit tenir compte des facteurs du milieu hiérarchisés de la façon suivante:

- une maîtrise totale de l'eau;
- une protection contre les hautes intensités lumineuses;
- des températures minimales de 18° la nuit et 25° C le jour;
- un apport de phosphore, et à un degré moindre, de calcium et de magnésium;
- une protection antiparasitaire.

Lorsque les conditions de croissance sont défavorables, Azolla change d'aspect, ce qui rend faciles un diagnostic, puis un moyen d'y remédier, comme nous le proposons.

CHAPITRE 5: Essais agronomiques pour l'utilisation optimale d'Azolla pinnata var. africana en riziculture.

Les pratiques traditionnelles sont présentées et les possibilités de leur optimisation sont proposées à la suite d'essais

agronomiques en microparcelles réalisés sur quatre cycles culturaux du riz. Un important effet résiduel permet d'obtenir, pour une inoculation d'Azolla et sa croissance pendant tout le cycle du riz, des rendements en grains équivalents à ceux d'essais où l'on a ajouté 60 kg d'N-urée sur le même cycle, et de même sur le cycle de culture suivant sans apport nouveau.

L'inoculation d'Azolla augmente toujours la récolte: l'augmentation est de 30 à 40% quand Azolla est incorporée avant ou après le repiquage du riz, et de 54% lorsqu'Azolla est incorporée avant et après le repiquage. Un défaut de maîtrise de l'eau, provoquant une minéralisation puis une dénitrification, crée un rapport C/N défavorable qui aura un effet négatif sur la croissance du riz.

L'utilisation d'Azolla est liée aux contraintes économiques; toutefois celles-ci ont peu d'incidence sur la riziculture familiale pratiquée en Afrique.

SUMMARYECOPHYSIOLOGY OF FREE-LIVING AND SYMBIOTIC (AZOLLA) NITROGEN-FIXING CYANOBACTERIA IN THE DRY TROPICAL ZONE; AGRONOMIC PROSPECTS.

This thesis is divided into five chapters.

CHAPTER 1 concerns the general ecology of cyanobacteria and eucaryotic microalgae under dynamic conditions prevailing in dry tropical areas (light intensities, dryness, extreme temperature, relative humidity). The study was based on the serial-dilution method which was used to estimate the composition and evolution of algal populations, primarily nitrogen-fixing cyanobacteria (N2BGA). Choice of taxa for biomass estimation was determined in regard to nitrogen-fixing activity, algal colonial morphology on nitrogen-free solid medium, and by the species biovolume. Depending on the taxon, the coefficient of variation for the method ranged from 8% to 20%.

Forty-eight biotic and abiotic factors (including absolute and relative composition of algal communities and the physical-chemical composition of surface soil) were estimated at 86 stations. This large scale sampling (appendix 2) permitted interpretation using the statistical methods of principal components analysis (tab.1-1) and analysis of correspondence (tab. 1-2) on the same data. Principal component analysis identified:

- i) distinct algal groups in the algal communities (fig. 1-4)
- ii) positive correlations between N2BGA and pH, C, N, Ca, P, K and sand (fig. 1-5);
- iii) similar algal composition in distinct areas (fig. 1-6).

Factorial analysis allowed comparison between quantitative factors (fig. 1-7) and some qualitative factors: vegetative cover (fig. 1-8), fertilization (fig. 1-9), moisture (fig. 1-10) and type of culture (fig. 1-11). The analyses indicated that in regard to nitrogen fixation potential, algal communities exist in three states: selective, active and accumulative. Change from one state to another depends mostly on water status (fig. 1-12).

CHAPTER 2 considers the effects of some biotic and abiotic factors under laboratory conditions on the growth and the nitrogen-fixing activity of natural populations and on isolated cyanobacteria, estimated by acetylene reduction activity (ARA).

In situ, evaluation of ARA as a function of light intensity indicated an inhibitory effect of luminosities higher than 25 klux (fig. 2-3). N2BGA may be regarded as sciophilous organisms. ARA of tropical strains showed four types of responses (fig. 2-4), in relation to the temperature gradient in dry tropical areas. N2BGA of temperate climates are adapted to larger temperature variations than tropical strains (fig.2-5).

Algal crust composition and effects of remoistening on ARA showed that the nitrogen-fixing population became active ten days after remoistening (fig. 2-6).

Limiting effects of ostracod population were demonstrated when the cyanobacterial biomass was greater than 1 g/cm² (fig.2-7). Ostracod populations could be destroyed by Anabaena flosaquae or by neem extracts (Azadiracta indica).

Biomass estimation of N2BGA in relation to soil pH showed that in comparison to the total algal biomass, N2BGA increased by a factor of 100 for an increase of 4 pH units (fig. 2-8B). For one strain (Nostoc punctiforme), the biomass increased 10,000 times with an increase of 3.5 units (fig. 2-9A).

Six standards curves were obtained from measurements of ARA in the pH range of 4 to 8 for 41 N2BGA isolated from Senegalese paddy soils. They illustrate acidophilic, acidotolerant, basophilic, and neutrophilic strains (fig. 2-10).

Confirmation of these observations was obtained by the isolation in paddy field of seven N2BGA. Their activity was similar to ARA presented in five of the standard curves. The mixture of the seven strains in the same protein concentrations as those measured in the fields showed a continuous ARA in the pH range 5 to 9 (fig. 2-11). There existed a unique natural algal population of N2BGA at its optimal N₂-fixing activity at each pH value.

After pH, N2BCA strain variation was most responsive to variation of phosphorus concentrations (fig. 2-13) and chloride concentrations (fig. 2-14).

In all likelihood, the total algal biomass was relatively constant with preferential dominance of different strains responding to ecological variations.

CHAPTER 3 : The concept of specific resistant strains was used to select cyanobacteria for algalization.

Algalization with different concentrations of selected strains, with and without urea, carbofuran or neem extracts, was tested on five rice cultures (tab.3-1). Yields reflected no significant differences among treatments with and without algalization (tab. 3-2).

It was determined that the inoculum would significantly develop only when introduced at tillering (fig. 3-1D, 3-2). Crude neem extract at 60 g/m² stopped the ostracod growth and increased N2BCA biomass ten-fold.

CHAPTER 4 : concerns ecophysiological studies of the native aquatic fern Azolla pinnata var. africana which contains the endophytic N2BCA Anabaena azollae.

Morphological description (fig. 4-3/4-5) is followed by chemical and nutritive value analysis.

Biological factors influencing N₂-fixation and growth of A. africana were successively analysed and optima proposed. Light was optimal between 17 and 60 klux. Temperature was optimal between 25 and 35° C. The harmful effect of dessiccation (fig. 4-7) could be solved by adding alginate (fig. 4-8) and/or by stocking Azolla at 6°C (fig. 4-9, tab. 4-4). For the protection of Azolla, fungal attacks were prevented by spraying cycloheximide (fig. 4-10) on the fronds: grazing by Nymphula sp. was stopped with 2.5 ppm of active carbofuran, Limnea natalensis was controlled with 250 mg/l of methaldehyde in the inoculum pools.

Lacks of Ca, Fe, Mg, K, P or major elements were perceptible as differences in the morphology of the fern (fig. 4-11), and by a loss of nitrogen, and cessation of N₂-fixation without Ca, Mg or P. Phosphorus could be stocked by Azolla at concentrations six-fold greater than necessary for its growth (tab. 4-6).

Dinitrogen fixation and combined-N assimilation took place simultaneously even at 44 ppm concentration of combined nitrogen. Utilization of nitrates was preferred to the use of ammonium (fig.4-12, 4-13). The fern was tolerant of 3 g NaCl/l. The pH was optimal between 5 and 7. Conditions for sporulation were observed (tab. 4-9).

The relative scarcity of spontaneous Azolla growth in Senegalese paddy fields was explained mainly by the problem of survival during the long dry season. Evapotranspiration with Azolla was not significantly different from pool evaporation without Azolla.

Annual productivity showed dual periodicity. From November to April, the generation time was longer than 50 days, whereas from April to October it was 4 days. In optimised conditions, nitrogen fixation could be estimated as 560 kg/ha/year.

CHAPTER 5 : reports results of agronomic trials suggesting optimal use of Azolla pinnata var. africana.

A transect analysis in two valleys (tab. 5-1) showed the importance of the fern as an organic and nitrogen manure. C/N ratios remained constant, although C and N concentrations increased 4-fold from the dry cultivated areas at the top to the constant overflow bottom.

As the cultivation of rice was traditionnally carried out by women, agronomic practices remain unknown to African agronomists who did not take this ancillary method into account.

The trials were carried out at the ORSTOM station in Dakar during four cultivation cycles between 1980 and 1982. Three cultural applications of Azolla were tested: separated cultures of Azolla and rice, and incorporation before transplanting as a green manure; culture of Azolla in the rice field and incorporation before transplanting; dual culture with rice.

The residual effects were also measured. Results on rice yields (grain and straw, tab. 5-3, 5-5), on nitrogen balance (tab. 5-4, 5-7), and on Azolla growth (tab. 5-6) are discussed. It was estimated that the main agronomic interest was when Azolla was cultivated and incorporated before transplanting. When it was cultivated with rice, the residual effect on a second rice cycle was important. This form of azollization was able, for two successive rice cycles, to give grain yields similar to that obtained with two 60 kg N-urea/ha inputs.

TABLE DES MATIERES

	Page
INTRODUCTION GENERALE.....	23
CHAPITRE 1: ECOLOGIE DES CYANOBACTERIES FIXATRICES	
D'AZOTE DANS LA ZONE TROPICALE SECHE.....	33
1 INTRODUCTION.....	35
2 MATERIEL ET METHODES.....	37
2.1 Echantillonnage.....	37
2.1.1. Choix des stations de prélèvements.....	37
2.1.2 Mode de prélèvement.....	38
2.2. Estimation des biomasses par la méthode des suspensions-dilutions.....	39
2.3 Analyses physico-chimiques.....	40
2.4 Analyse des données.....	41
2.4.1 Principe de l'analyse.....	41
2.4.2 Présentation et traitement des données.	43
2.4.2.1 Pour l'analyse en composantes principales.....	43
2.4.2.2 Pour l'analyse des correspon- dances.....	46
3 RESULTATS.....	48
3.1 Observations sur les données de base.....	48
3.1.1 Exhaustivité de l'échantillonnage.....	48
3.1.2 Corrélations significatives suivant les tests de Spearman et de Bravais-Pearson	48
3.2 Analyse en composantes principales.....	53
3.2.1 Relations entre variables.....	53
3.2.1.1 Relations entre variables biologiques.....	53
3.2.1.1.1 Choix des variables.....	53
3.2.1.1.2 Associations entre variables biologiques.....	56
3.2.1.2 Relations entre variables physi- co-chimiques et composition algale.....	58
3.2.2 Associations privilégiées entre obser- vations et variables.....	61
3.2.3 Conclusions.....	64

3.3	Analyse des correspondances.....	67
3.3.1	Modalités de l'analyse.....	67
3.3.2	Observations générales sur l'analyse des correspondances.....	68
3.3.3	Analyse des correspondances sur les variables qualitatives.....	72
3.3.3.1	Influence du couvert végétal sur la composition de la flore algale.....	74
3.3.3.2	Influence de la fertilisation sur la composition de la flore algale.....	78
3.3.3.3	Influence de l'humidification du sol sur la composition de la flore algale.....	80
3.3.3.4	Influence du biotope sur la composition de la flore algale.....	83
3.3.4	Conclusions.....	86
CHAPITRE 2: FACTEURS BIOTIQUES ET ABIOTIQUES AFFECTANT LE DEVELOPPEMENT ET L'ACTIVITE FIXATRICE D'AZOTE DES CYANOBACTERIES.....		
1	INTRODUCTION.....	91
2	MATERIEL ET METHODES.....	92
2.1	Souches de cyanobactéries étudiées.....	92
2.1.1	Provenance, isolement.....	92
2.1.2	Maintenance en collection.....	92
2.2	Mesure de la fixation d'azote <u>in vitro</u> par la méthode de la réduction de l'acétylène (ARA).....	93
2.2.1	Dispositif de mesure.....	93
2.2.2	Calculs.....	94
2.3	Principe des courbes enveloppes et des droites limites.....	95
2.4	Méthodes de dosage particulières aux crêtes algales	95
2.5	Evaluation des biomasses d'ostracodes.....	96
3	RESULTATS.....	96
3.1	Action de l'intensité lumineuse.....	96
3.1.1	Sur les populations algales.....	96
3.1.2	Sur l'activité réductrice d'acétylène.....	97
3.2	Influence des variations de température sur l'ARA des cyanobactéries.....	98
3.2.1	Caractéristiques de l'ARA pour les souches tropicales.....	99

3.2.2	ARA des cyanobactéries tropicales ou tempérées en fonction de la température.....	101
3.3	Action de la réhumectation sur la composition et l'ARA des croûtes algales.....	102
3.3.1	Composition floristique des croûtes algales....	103
3.3.2	Evolution de la fixation d'azote (ARA).....	103
3.4	Un exemple de prédation sur les cyanobactéries fixa- trices: l'activité des ostracodes.....	106
3.4.1	Mise en évidence de l'activité prédatrice des ostracodes sur les cyanobactéries fixatrices...	106
3.4.2	Limitations biologiques des populations d'os- tracodes in vitro.....	107
3.5	Action du pH.....	108
3.5.1	pH acides et biomasse algale <u>in situ</u>	109
3.5.2	Activité réductrice d'acétylène en fonction du pH.....	113
3.5.3	Conclusions	115
3.6	Influence de la concentration en azote minéral sur la composition de la flore algale.....	115
3.7	Phosphore et ARA chez les cyanobactéries fixatrices..	117
3.8	Chlorure de sodium et ARA chez les cyanobactéries fixatrices.....	117
4	DISCUSSION ET CONCLUSIONS.....	120

CHAPITRE 3: APPROCHE ECOPHYSIOLOGIQUE DE L'ALGALISATION
EN ZONE TROPICALE SECHE..... 123

1	INTRODUCTION.....	125
2	MATERIEL ET METHODES.....	127
2.1	Dispositif expérimental.....	127
2.2	Echantillonnage et analyses.....	127
2.3	Isolement et sélection des cyanobactéries.....	127
2.4	Préparation des inoculums.....	128
2.5	Protocole expérimental.....	129
3	RESULTATS ET DISCUSSION.....	131
3.1	Développements des protocoles d'algalisation sur quatre cycles culturaux du riz.....	131
3.2	Effets de l'algalisation.....	134
3.2.1	Sur le rendement du riz.....	134
3.2.2	Sur la biomasse algale.....	135

3.2.3	Sur la fixation d'azote.....	137
3.2.4	Sur l'azote total de l'horizon de surface.....	137
3.3	Variations des populations algales.....	138
3.3.1	En fonction de l'apport d'engrais azoté.....	138
3.3.2	En fonction des précipitations.....	139
3.3.3	En fonction de l'application de broyat de neem.	139
4	CONCLUSION.....	141

CHAPITRE 4: ECOPHYSIOLOGIE DE LA SYMBIOSE AZOLLA PINNATA var.

AFRICANA - ANABAENA AZOLLAE.....143

1	INTRODUCTION.....	145
2	MATERIEL ET METHODES.....	148
2.1	Souches utilisées.....	148
2.2	Milieu et culture de référence.....	148
2.3	Mesure de l'activité réductrice d'acétylène (ARA).....	149
2.4	Protocoles expérimentaux pour les mesures de l'ARA in vitro.....	149
3	RESULTATS.....	151
3.1	Analyse morphologique.....	151
3.2	Analyse chimique.....	158
3.3	Facteurs climatiques influençant la croissance et l'ARA d' <u>Azolla africana</u>	159
3.3.1	Intensité lumineuse.....	159
3.3.2	Température.....	161
3.3.3	Humidité relative.....	162
3.3.3.1	Variations de l'ARA en fonction de l'humidité relative	162
3.3.3.2	Processus limitant l'effet létal de la dessiccation.....	164
3.4	Facteurs biotiques influant sur la croissance et l'ARA d' <u>Azolla africana</u>	166
3.4.1	Flore algale associée.....	166
3.4.2	Prédateurs et parasites.....	166
3.4.2.1	Activité prédatrice de <u>Lebistes</u> <u>reticulatus</u>	167
3.4.2.2	Activité prédatrice des insectes.....	168

3.4.2.3	Activité prédatrice de <u>Limnea natalensis</u> .	168
3.4.2.4	Champignons pathogènes.....	169
3.5	Etudes physiologiques sur <u>Azolla africana</u>	170
3.5.1	Etude nutritionnelle.....	170
3.5.1.1	Besoins en éléments minéraux.....	170
3.5.1.2	Cas particulier du phosphore.....	174
3.5.2	Effet des concentrations salines sur la croissance et l'ARA d' <u>Azolla africana</u>	176
3.5.2.1	Nature et concentration en azote combiné	176
3.5.2.2	Tolérance au chlorure de sodium	178
3.5.3	Influence du pH sur la croissance et l'ARA d' <u>Azolla africana</u>	180
3.5.4	Facteurs affectant la sporulation d' <u>Azolla africana</u>	180
3.6	Extrapolation des résultats de l'étude écophysologique en vue d'essais agronomiques.....	184
3.6.1	Evapotranspiration.....	184
3.6.2	Productivité.....	185
3.6.3	Estimation de l'activité réductrice d'acétylène	185
4	CONCLUSIONS.....	186
CHAPITRE 5: ESSAIS AGRONOMIQUES POUR L'UTILISATION OPTIMALE		
D'AZOLLA PINNATA var. AFRICANA EN RIZICULTURE... 189		
1	INTRODUCTION.....	191
2	MATERIEL ET METHODES.....	195
2.1	Présentation des parcelles expérimentales.....	195
2.2	Conditions de culture.....	196
2.3	Préparation de l'inoculum d' <u>Azolla</u>	196
2.4	Protocoles expérimentaux.....	197
2.4.1	Plan de l'expérience réalisée pendant l'hivernage 1980	197
2.4.2	Plan de l'expérience réalisée pendant la saison froide 1981.....	198
2.4.3	Plan de l'expérience réalisée pendant l'hivernage 1981.....	198
2.4.4	Plan de l'expérience pour l'hivernage 1982.....	199

2.5 Détermination du rapport azote ammoniacal/azote total .	199
3 RESULTATS.....	199
3.1 Choix du mode d'inoculation: essais de l'hivernage 1980	199
3.2 Effet résiduel des essais d'hivernage 80 sur une culture de riz pendant la saison froide 1981.....	203
3.3 Optimisation du rendement d' <u>Azolla</u> dans le système de cultures associées: hivernage 1981 et effet résiduel: hivernage 1982.....	205
3.3.1 Rendement en paille et en grains de riz.....	205
3.3.2 Les rendements en <u>Azolla</u>	207
3.3.3 Importations et exportations d'azote.....	207
4 CONCLUSIONS.....	209
4.1 Apport d'azote par <u>Azolla</u> en riziculture.....	209
4.2 Aspects locaux et économiques pour l'introduction de l'azollisation en riziculture traditionnelle.....	210
CONCLUSIONS GENERALES.....	214
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	220
ANNEXE 1 : Inventaire des cyanobactéries identifiées dans les biotopes de la zone tropicale sèche ouest- africaine.....	245
ANNEXE 2 : Données de base pour les analyses biométriques du chapitre 1.....	249

INTRODUCTION GENERALE

.....

Algues bleu-vert, Cyanophycées ou Cyanobactéries, selon qu'on emploie les terminologies botanique (Bourrelly, 1979) ou bactériologique (Stanier et coll. (1978) désignent les mêmes procaryotes possédant une biologie semblable à celle des algues, et une organisation cellulaire de type bactérien (Friedmann, 1982).

SYSTEMATIQUE DES CYANOBACTERIES

Depuis les ouvrages-références de Bornet et Flahault (1886-1888) et Gomont (1892) sur la systématique des algues bleu-vert, une quinzaine d'auteurs discutés par Bourrelly (1970), ont présenté leur propre classification basée sur la structure morphologique. Cette abondance montre la fiabilité discutable de cette approche, critiquée par Drouet et Daily (1956) qui considèrent les critères morphologiques comme variables avec les conditions écologiques. Ces deux auteurs retiennent 24 genres alors que Desikachary (1959) en compte 77 sur les sols indiens et les évalue à 160 dans le monde.

Les propositions de Stanier et coll. (1978) d'inclure les algues bleu-vert dans le code International de Nomenclature Bactérien changent radicalement les critères de classification; les souches sont définies à partir de paramètres observés en culture pure. Le poids des critères de classification est contestable (Kondratyeva, 1982) ainsi que la synonymie entre procaryotes et bactéries (Geitler, 1979). Les deux fonctions caractéristiques de ces microorganismes: photosynthèse et fixation d'azote, peuvent être rattachées pour la première au monde végétal, pour la seconde au monde microbien, les situant ainsi entre eucaryotes et procaryotes (Stanier et Cohen-Bazire, 1977). A la suite du "Symposium on taxonomic concepts on blue-green algae" (Friedmann et Borowitzka, 1982) et dans l'attente d'une classification absolue, un compromis autorise les appellations cyanophycées ou cyanobactéries.

Le travail exposé ici fait référence principalement à la fonction fixatrice d'azote, aussi nous emploierons en général le terme cyanobactérie et la classification proposée par Rippka et coll. (1979), qui privilégie l'hétérocyste, un critère morphologique de potentialité fixatrice. Toutefois nous présentons une liste des souches identifiées suivant le Code International de Botanique (annexe I) afin de permettre des comparaisons avec les études qualitatives antérieures.

PHOTOSYNTHESE

A l'intérieur d'une paroi cellulaire gram-négative, les cyanobactéries possèdent un appareil photosynthétique très semblable à celui des chloroplastes des eucaryotes. Localisé dans les thylakoïdes, il comprend comme pigments principaux la chlorophylle a, le β carotène, la zéaxanthine et 3 types de phycobiliprotéines: phycocyanine allophycocyanine et allophycocyanine B. L'enzyme clef intervenant dans l'assimilation du gaz carbonique (CO_2), le D5-ribulose 1-5 diphosphate carboxylase, est très semblable à celui des plantes supérieures (Smith, 1983). Ces microorganismes se différencient des bactéries photosynthétiques par leur possibilité de photosynthèse en aérobiose qui leur confère une photoautotrophie aérobie (Fogg et coll. 1973).

COMPLEXE NITROGENASE

Une propriété caractéristique de certains procaryotes est la transformation de l'azote de l'air en azote combiné biologiquement assimilable. Des microorganismes aux propriétés physiologiques très variées vis-à-vis de l'oxygène moléculaire: bactéries aérobies (*Azotobacter*.....), anaérobies facultatives (*Klebsiella*...), anaérobies strictes (*Clostridium*), chimioautotrophes (*Thiobacillus*), photosynthétiques (*Chromatium*...), ainsi qu'une importante fraction des cyanobactéries (Stanier, 1974, Stewart, 1977), ont en commun le même complexe enzymatique réduisant l'azote moléculaire en ammoniac: le complexe nitrogénase (Eady, 1981). A partir des isolements et des purifications sur *Clostridium pasteurianum* (Huang et coll. 1973), sur *Azotobacter vinelandii* (Burns et coll., 1970) sur *Klebsiella pneumoniae* (Eady et coll., 1972) le complexe nitrogénase a été déterminé. Il est composé de deux protéines. Une molybdoferroprotéine (MoFe protéine) de masse moléculaire comprise entre 200.000 et 300.000 dont la fonction est de réduire le substrat, une ferroprotéine (Fe protéine, dinitrogénase réductase) d'une masse moléculaire voisine de 50000, transfère les électrons à la MoFe protéine (Mortenson et Thorneley, 1979). Toutes deux sont formées de plusieurs sous-unités et possèdent des groupements sulfures labiles. Elles sont inhibées à des degrés différents par l'oxygène: chez *K. pneumoniae* une inhibition de 50%

de l'activité a lieu pour une pression partielle de 0,2 atmosphère d'O₂ après 8mn pour la MoFe protéine, et après 40 secondes pour la ferroprotéine (Eady et coll., 1972). Cette sensibilité se rencontre chez tous les microorganismes (Zumft et Mortenson, 1975).

L'activité de ce complexe demande:

- une source d'électrons: les pyridines nucléotides (NADP) chez les aérobies ou en conditions symbiotiques; la fermentation du pyruvate, du formiate ou H₂ chez les anaérobies; le système photosynthétique chez les organismes photosynthétiques (Bothe, 1970, Smith et coll. 1971);
- un transporteur d'électrons: ferredoxine (Mortenson, 1964) ou flavodoxine (Shetna et coll., 1966);
- une source d'énergie: l'adénosine triphosphate (ATP) fournie par phosphorylation au niveau du substrat chez les anaérobies, par phosphorylation oxydative chez les aérobies, par photophosphorylation chez les photosynthétiques;
- une source d'ions métalliques: Mg⁺⁺ (Dilworth et coll. 1965) Mn⁺⁺ ou Co⁺⁺ (Haystead et Stewart, 1972), nécessaire à la régénération d'ATP.

La synthèse de la nitrogénase est induite par l'absence de source d'azote combiné dans le milieu de culture. Elle est réprimée par l'augmentation de l'azote intracellulaire, elle est inhibée compétitivement par H₂, CO ou NO et dénaturée par l'oxygène, cette dénaturation pouvant ne pas être irréversible (Pienkos et coll., 1983). Chez les microorganismes aérobies, le fonctionnement du système n'est donc possible que par l'existence de processus de protection envers l'oxygène. Les enzymes respiratoires des bactéries aérobies strictes (type *Azotobacter*), utilisent l'oxygène avant qu'il n'atteigne le site de fixation d'azote (Dalton et Postgate, 1969); de plus les sites sensibles de la nitrogénase sont protégés par une protéine (Postgate, 1982). Chez les bactéries microaérophiles de type *Rhizobium* qui fixent l'azote en symbiose chez les légumineuses, la leghémoglobine limite la pression d'oxygène au minimum indispensable au développement du *Rhizobium* (Bergersen, 1978).

PROTECTION DE LA NITROGENASE CHEZ LES CYANOBACTERIES

Dès 1928, Drewes montre que les cyanobactéries peuvent fixer l'azote atmosphérique. Ce n'est qu'après la mise en évidence

de l'inhibition de la fixation par l'acétylène (Schollhorn et Burris, 1966) et la réduction de l'acétylène en éthylène (Dilworth, 1966) que cette double réaction est utilisée pour mesurer l'activité nitrogénase (Koch et Evans, 1966). Elle permet, plus aisément qu'avec le dosage de l'azote marqué, l'inventaire des souches fixatrices. Il apparaît très rapidement que certaines cellules différenciées: les hétérocystes représentant 7% des cellules chez les formes libres, considérés auparavant comme ayant fonction de rhizoïdes (de Puymaly, 1957), sont le siège préférentiel de la fixation d'azote (Fay et coll., 1968).

L'organisation de ces cellules résumée par Stewart (1977b) et par Haselkorn (1978) se différencie des cellules végétatives par :

- l'absence de photosystème II donc de production d'O₂;
- une grande capacité de fournir de l'ATP par photophosphorylation et phosphorylation oxydative (Almon et Böhme, 1982);
- un système d'assimilation de l'ammonium qui prévient son accumulation (Thomas et coll., 1977);
- la disparition des enzymes de la photosynthèse et de la photorespiration (Codd et coll., 1980);
- un système d'enveloppes multiples glycolipidiques initié au moment de la formation des hétérocystes (Krepski et Walton, 1983) qui protège par son arrangement le système nitrogénase (Winkenbach et coll., 1972)

L'hétérocyte fournit donc un environnement adapté au fonctionnement de l'activité nitrogénase. Sa différenciation est induite par la carence en azote du milieu. L'enzyme est synthétisé en aérobiose dans les hétérocystes (Fleming et Haselkorn, 1973), mais Peterson et Wolk (1978) retrouvent à l'état non activé une faible quantité de MoFe protéine (9%) et de ferroprotéine (31%) dans les cellules végétatives.

La présence d'hétérocystes, si elle signifie invariablement l'effectivité de la fixation d'azote, sauf dans le cas de mutations recherchées (Sinha et Kumar, 1973), n'est pas une condition indispensable à ce processus.

Les cyanobactéries peuvent se distinguer morphologiquement entre formes unicellulaires et formes filamenteuses; parmi ces dernières entre formes hétérocystées et formes qui ne présentent jamais d'hétérocystes (homocystées).

Si toutes les souches hétérocystées fixent l'azote en aérobiose

en culture pure, une proportion non négligeable des autres groupes (Tableau 1) possède aussi cette propriété, tout au moins en micro-aérophilie. C'est le cas pour des formes unicellulaires (Rippka et Waterbury, 1977) et des formes homocystées (Stewart et Lex, 1970).

	Nombre de genres		% d'espèces fixatrices	Principaux genres fixateurs	
	A	B			
Unicellulaires.	Reproduction par fission binaire ou bourgeonnement	25	6	19	<u>Gloeotheca</u> , <u>Synechococcus</u>
	Reproduction par fission multiple	8	5+1	32	<u>Chroococcidiop- sis</u> , groupe <u>Pleurocapsa</u>
	formes fixées	7	-	-	
Filamenteuses	Sans hétérocystes avec ramifications	10			<u>Oscillatoria</u> ,
	sans ramifications	17	5	56	groupe LPP
	Avec hétérocystes avec ramifications	26	2	100	<u>Fischerella</u> , <u>Chlorogloeopsis</u>
	sans ramifications	17	3	100	<u>Nostoc</u> , <u>Anabaena</u> , <u>Scytonema</u>

Tableau 1. Représentation schématique de la diversité morphologique des cyanobactéries et de leur potentialité de fixer l'azote en culture pure. A: classification de Bourrelly (1970), B: classification de Rippka et coll. (1979).

Quelques souches unicellulaires, en particulier du genre Gloeotheca (Gloeocapsa), fixent l'azote en aérobiose (Wyatt et Silvey, 1969, Rippka et coll., 1971). Dans ces conditions leur temps de génération considérablement ralenti (Reynaud, 1978) suggère une séparation temporaire de l'activité photosynthétique et de l'activité nitrogénase (Gallon et coll., 1974). Chez les homocystées, Pearson et coll. (1979) observent chez une souche de Microcoleus chthonoplastes une fixation aérobie mais les conditions ne sont pas axéniques.

SYMBIOSES INDUITES PAR LES CYANOBACTERIES

Les cyanobactéries constituent des symbioses fixatrices d'azote avec :

- des lichens (Peltigera, Collema...) pour les genres Nostoc, Gloeocapsa, Gloeotheca, Synechocystis, Pleurocapsa, Scytonema, Calothrix, Fischerella;
- des hépatiques (Anthoceros, Blasia...), des angiospermes (Gunnera) pour le genre Nostoc;
- des cycadées (Cycas, Macrozamia...) pour les genres Nostoc et Anabaena;
- des ptéridophytes (Azolla) pour le genre Anabaena (Stewart et coll., 1983).

L'activité fixatrice des cyanobactéries est plus importante en symbiose. Pour Azolla, fougère aquatique, la forte fixation d'azote observée est associée à l'augmentation considérable des hétérocystes (30% des cellules végétatives) de la cyanobactérie symbiote Anabaena azollae contenue dans les cavités des lobes supérieurs des feuilles (Hill, 1977).

L'azote, presque exclusivement sous sa forme NH_4^+ est assimilé par l'intermédiaire de poils absorbants ramifiés situés à la base des cavités et inversement le carbone, sous forme de sucrose, est transporté de l'Azolla à Anabaena azollae par des poils absorbants non ramifiés situés sur les parois de la cavité (Peters et coll., 1982).

ROLE DES CYANOBACTERIES

Les cyanobactéries sont les seuls organismes capables à la fois d'une photosynthèse aérobie et d'une fixation d'azote. Une telle indépendance trophique combinée à une grande adaptabilité aux variations des facteurs édaphiques, leur confère une ubiquité remarquable et une aptitude élevée à coloniser les milieux abiotiques ou caractérisés par des conditions édaphiques extrêmes. Cette capacité est mise en évidence par Fritsch dès 1907; plus récemment Henriksson et coll. (1972) montrent que les cyanobactéries sont parmi les premiers organismes colonisant un volcan nouvellement émergé.

L'influence des cyanobactéries sur la colonisation, la maintenance ou l'évolution des biotopes naturels est étudiée dans les mares hypersalées (Cohen, 1975, Carpenter et coll., 1978), les milieux désér-

tiques (Brock, 1975, Eskew et Ting, 1978), les terrils de charbon (Shubert et Starks, 1980) ou les zones polaires (Alexander, 1975). Alors que la fixation d'azote par les cyanobactéries libres est évaluée dans les rizières du sud-est asiatique à 20-30 kg d'N.ha⁻¹ par cycle cultural (Venkataraman, 1981), elle est de 40 kg pour Azolla (Lumpkin et Plucknett, 1982). Le rôle bénéfique des cyanobactéries dans l'équilibre azoté des sols de rizières, pressenti par De (1939), est augmenté par l'accumulation de conditions favorisant leur croissance: température en général élevée, submersion, disponibilité d'éléments minéraux, tension d'oxygène faible. Pour une fixation biologique mondiale estimée à 17,5.10⁷ tonnes d'azote par an, la production industrielle d'azote-engrais est de 4,4.10⁷ t.an⁻¹ (Chatt, 1976). Dans les rizières qui couvrent 140 millions d'hectares dans le monde, Wetselaar (1981), d'après les données de la littérature, pense que les microorganismes photoautotrophes peuvent apporter de 4,5 à 50 kg N.ha⁻¹.an⁻¹ alors que les microorganismes hétérotrophes contribueraient pour 7 à 34 kg N.ha⁻¹.an⁻¹ à l'enrichissement des sols.

L'intérêt porté à la fixation d'azote biologique est évident lorsque l'on considère que le rendement moyen en riz est de 2,4 t.ha⁻¹ (Stangel, 1979). Pour l'améliorer d'une tonne.ha⁻¹, il faut fournir 50 kg d'azote.ha⁻¹ supplémentaires; cela permet de nourrir 3 personnes, donc à l'échelle planétaire assure la survie de 420 millions d'habitants. Or l'engrais azoté d'origine industrielle devient trop élevé pour les pays en voie de développement comme l'exprime Venkataraman (1981): "The spiraling cost of chemical nitrogen fertilizers, the widening gap between the supply and demand and the prevailing low purchasing power among the small and marginal farmers in the developing countries are at present the major constraints in exploiting the genetic potential of the crops fully".

ECOPHYSIOLOGIE

Il s'agit donc de perfectionner le système de fixation d'azote biologique, potentiel mais très variable, par une intervention agronomique assurant sa régulation et son optimisation. C'est ainsi que l'analyse de la littérature sur les cyanobactéries par Roger et Kulasoorya (1980) montre que les recherches sur l'algalisation (inoculation de cyanobactéries en rizière) sont focalisées sur la technologie de l'algalisation et sur le rendement en grain.

Entre ces deux étapes nous ne possédons que très peu d'informations:

- sur l'évolution de la population algale introduite;
- sur les interactions avec la flore autochtone;
- sur la quantification de l'azote fixé par les cyanobactéries;
- sur l'assimilation de l'azote biologique par le riz;
- sur les pratiques culturales optimalisant l'algalisation.

Le même manque d'informations apparaît pour Azolla. Pour augmenter la production d'azote biologique, il est indispensable d'étendre nos connaissances sur les interactions entre les cyanobactéries libres ou en symbiose et le milieu, de distinguer les facteurs principaux influençant leur croissance et leur fixation d'azote, et d'analyser ces facteurs au laboratoire. La confrontation systématique des observations in situ et des expériences au laboratoire doit conduire aux essais agronomiques.

ZONE TROPICALE SECHE

Les climats tropicaux sont caractérisés par l'absence de périodes humides et fraîches et par au moins un ou deux mois sec et chaud (aride). La classification climatologique de Landsberg et coll. (1963), révisée par Charreau et Nicou (1971) distingue deux classes dans la zone tropicale:

- les climats tropicaux semi-humides: plus de quatre mois et demi de pluies;
- les climats tropicaux secs: une saison des pluies comprise entre deux et quatre mois et demi.

Les climats tropicaux secs s'étendent sur environ 7600 km², pour les deux tiers en Afrique (Sénégal, Gambie et Niger en totalité, Mali, Haute-Volta, Nigeria, Guinée Bissao, en partie). Cependant les précipitations annuelles peuvent être importantes: 1500mm en Casamance, moyenne entre 1931 et 1975 (Dancette, 1977). Même dans les régions où les pluies sont les plus abondantes, comme elles ont lieu entre juin et octobre, l'aridité de la saison sèche est très marquée.

La saison sèche est caractérisée par des variations nycthémérales de températures importantes (souvent plus de 20°C), par des intensités lumineuses incidentes qui atteignent 100 klux, par une humidité relative variant de 98% à 30% en 6h. L'eau étant indispensable à la croissance des cyanobactéries, trois systèmes sont à considérer pour leur étude dans cette zone climatique:

- les zones submergées en permanence: mares et cours d'eau perennes, lacs

- où les cyanobactéries peuvent amener une eutrophisation;
- les zones submergées ou humectées artificiellement pendant un cycle de culture: les rizières et les maraichages;
 - les zones humectées uniquement par les pluies où les cyanobactéries subissent tous les aléas de la saison sèche.

Une zone littorale sous-dunaire constamment humectée a fait l'objet d'études antérieures (Reynaud et Roger, 1978, 1981a,b).

Le but de ce mémoire est de préciser les interactions entre les cyanobactéries libres ou en symbiose avec Azolla et les principaux paramètres influant sur leur activité fixatrice. Ces connaissances doivent permettre l'utilisation optimisée de la fixation d'azote photosynthétique en riziculture dans la zone tropicale sèche Ouest Africaine.

Une méthodologie permettant l'évaluation qualitative et quantitative de la flore algale a été mise au point (Reynaud et Laloé, sous-pression). Elle a permis de préciser la composition algale des différents biotopes et l'analyse biométrique de l'influence des facteurs biotiques et abiotiques (chapitre 1). Nous avons ensuite analysé séparément chacun des principaux facteurs du milieu sur l'activité fixatrice d'azote (nitrogénasique) des cyanobactéries isolées (chapitre 2).

Cette approche écophysiological a autorisé une étude prospective de l'algalisation (sélection de souches, conditions d'inoculations, évolution de la flore algale) dans le troisième chapitre. Parallèlement la symbiose Anabaena azollae et la fougère autochtone Azolla pinnata var. africana a fait l'objet d'une étude écophysiological (chapitre 4) pour déboucher sur des possibilités d'applications agronomiques (chapitre 5).

CHAPITRE I: ECOLOGIE DES CYANOBACTERIES FIXATRICES
D'AZOTE DANS LA ZONE TROPICALE SECHE

A



B



- A: Rizière submergée: riz au stade montaison
B: Rizière desséchée, le riz est récolté depuis un mois, des taches sombres signalant des croûtes algales sont visibles.

I. INTRODUCTION

Les cyanobactéries se développent préférentiellement dans les biotopes tropicaux (Mague, 1977). L'écosystème de la rizière tropicale fournit un environnement particulièrement favorable mais on les rencontre aussi sur la plupart des sols. Une succession de pluies et de courtes périodes de sécheresse favorise leur croissance (Calder, 1959). Pendant la saison sèche certaines des espèces forment des croûtes algales en agglomérant avec leur gaine gélatineuse des particules de sable (Barbey et Couté, 1976). Stewart et coll. (1978) ont estimé à $3 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$ l'azote fixé par les croûtes algales dans les régions sèches du nord du Nigeria. Elles limitent de plus l'évaporation sous-jacente et protègent les sols meubles de l'érosion éolienne. Sous les cultures irriguées, comme les bananeraies, les cannes à sucre ou les primeurs, les croûtes algales peuvent atteindre 0,5 cm d'épaisseur et fixer plus de $200 \text{ kg d}'\text{N}_2 \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{an}^{-1}$ (Chap. 2.3.3).

Les données sur l'écologie des cyanobactéries fixatrices d'azote sont toutefois très fragmentaires. L'absence de méthodes satisfaisantes pour estimer la biomasse et la composition des groupes algaux a limité les études écologiques des algues du sol (Fogg et coll., 1973). L'analyse des pigments extraits dans l'acétone permet l'évaluation de la biomasse algale totale par le dosage de la chlorophylle et des cyanobactéries par le dosage de la myxoxanthine (Singh, 1961).

Cette méthode n'indique pas la composition floristique et, dans la plupart des cas, n'est pas utilisable car la matière organique contenue dans les échantillons, les acides humiques en particulier, est aussi extraite par l'acétone; les problèmes sont semblables pour les autres dosages biologiques (acide muranique, ATP).

L'examen direct au microscope permet de préciser les espèces présentes (Tchan, 1953), il est facilement applicable aux échantillons d'eau. Par contre, pour les sols, les particules organiques et minérales gênent le comptage. La plupart des évaluations de biomasse algale sont exprimées en nombre d'algues par gramme de sol, unité qui ne tient pas compte des algues présentes dans l'eau de submersion et ne permet pas d'extrapolations.

Il est préférable d'estimer la biomasse algale en micro cubes par cm^2 de sol, chaque cm^2 correspondant à la représentation en deux dimensions d'un cylindre dont la hauteur ajoute le premier centimètre de sol à l'eau de submersion. Dans ce cas, il est possible de comparer les populations algales quel que soit le degré d'humidification du sol.

Cette unité est facilement utilisable pour la méthode d'estimation qui consiste à ramener tous les échantillons prélevés à un même volume; à homogénéiser cette suspension; à procéder à une série de dilutions pour permettre la numération des algues sur un milieu de culture approprié. Nous avons amélioré cette méthode dite "des suspensions-dilutions" par l'utilisation de milieux sélectifs (Reynaud et Roger, 1977). Une étude détaillée des problèmes d'utilisation de la méthode pour la caractérisation des taxons, les causes d'erreurs intra et inter-échantillons, est présentée à partir de l'exemple d'un sol de rizière (Reynaud et Laloé sous-presse).

Par cette méthode nous avons pu établir que la distribution des algues du sol suit approximativement une loi log-normale (la transformation logarithmique permet de normaliser les données): elle est de type agrégatif (Roger et Reynaud, 1978). Il devient alors possible de calculer un intervalle de confiance pour la moyenne des numérations. Pour une souche d'Anabaena sp. dans une rizière de 0,25 ha., 30 prélèvements permettent d'avoir une biomasse comprise dans un intervalle de confiance de +32, -27%. La précision de la méthode est assez faible. Cependant les populations algales varient sur les sols secs de quelques unités à 10^6 /g.sol sec (Tchan et Beadle, 1955, Araragi et coll., 1979) et dans les rizières jusqu'à 10^7 unités/g.sol sec (Roger et Kulasooriya, 1980). L'ordre des précisions obtenues par la méthode des suspensions-dilutions permet des comparaisons prudentes mais justifiables entre la composition algale de deux biotopes ou le suivi de son évolution dans un même biotope.

Une estimation des populations algales par cette méthode a été effectuée en parallèle avec une analyse physico-chimique de la suspension et avec une analyse des paramètres climatiques et culturaux sur les rizières du Sénégal (Reynaud et Roger, 1978). Elle a mis en évidence des corrélations hautement significatives entre la biomasse algale fixatrice (valeur absolue et valeur relative) et la densité du couvert végétal d'une part, le pH du sol d'autre part.

Nous avons étendu aux divers biotopes représentatifs de la zone tropicale sèche au Sénégal la recherche de ces informations. En raison de leur volume important, les résultats obtenus peuvent être traités par deux analyses mathématiques complémentaires. L'analyse en composante principale justifie à posteriori le choix des taxons dans

la méthode des suspensions-dilutions, établit les relations positives ou négatives entre les variables et définit les types d'associations algales dans les biotopes.

L'analyse des correspondances permet d'expliquer l'importance relative des variables du milieu (pH, intensité lumineuse, composantes chimiques) et des variables biologiques (composition relative et absolue des différentes composantes de la flore algale) sur l'établissement des cyanobactéries fixatrices d'azote.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Echantillonnage

2.1.1. Choix des stations de prélèvement

Les prélèvements sont effectués dans 86 stations choisies de façon à représenter tous les méso-écosystèmes terrestres susceptibles, dans la zone tropicale sèche, de posséder une population de cyanobactéries fixatrices d'azote (Figure 1.1., Annexe 2).

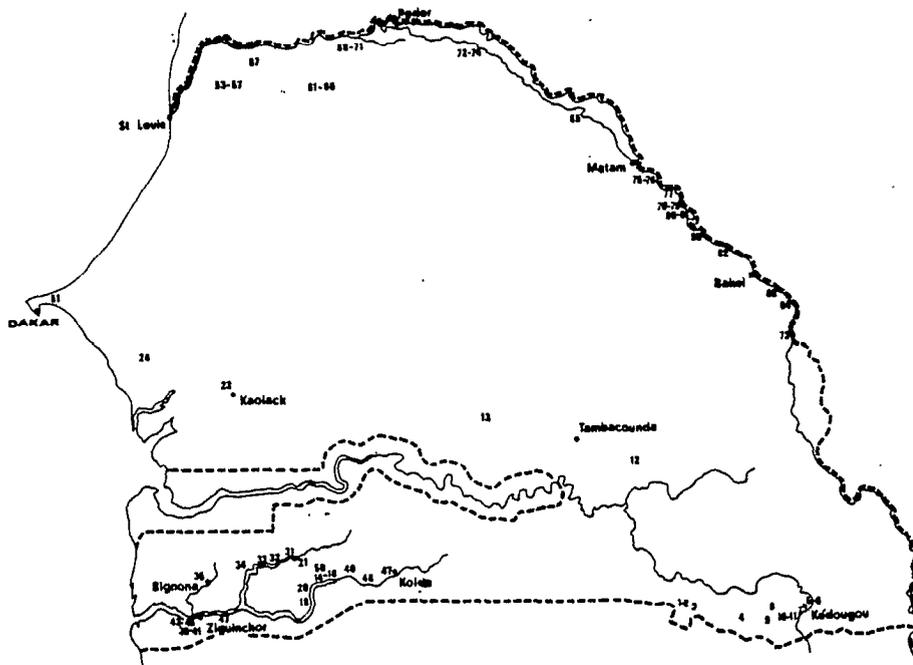


Figure 1-1: Stations de prélèvement : les numéros références sont expliqués en annexe 2.

Ces stations peuvent être groupées suivant plusieurs thèmes:

a) *Les grandes zones géographiques:*

- région du Fleuve: 40 stations
- région du Sénégal-Oriental: 14 stations
- région de Casamance: 29 stations.

b) *Les activités agronomiques :*

- rizières irriguées du Fleuve: 20 stations
- rizières irriguées de Casamance: 9 stations
- rizières pluviales de Casamance: 12 stations
- rizières pluviales du Sénégal-Oriental: 8 stations.
- jachères: 5 stations
- cultures d'arachide: 3 stations
- mares temporaires et canaux d'irrigation: 9 stations
- sols jamais cultivés: 10 stations
- dunes: 9 stations.

c) *Les stades de croissance du riz :*

- stade 2-3 feuilles: 11 stations
- stade tallage-montaison : 10 stations
- stade épiaison-montaison: 21 stations
- stade après récolte: 9 stations.

d) *Les degrés d'humidification du sol :*

- sol sec: 21 stations
- sol humide: 22 stations
- sol engorgé: 22 stations
- sol submergé: 21 stations.

2.1.2. Mode de prélèvement

Chaque prélèvement regroupe 10 carottages effectués avec un tube de 2cm de diamètre. Le tube est enfoncé verticalement dans l'eau de submersion et le sol, puis il est bouché à sa partie supérieure et retiré. L'échantillon, constitué par le premier centimètre de sol et l'eau de submersion, est récupéré en chassant la carotte du tube au moyen d'un piston. Lors des prélèvements nous avons i) évalué pour chaque station, la densité du couvert végétal au moyen d'une échelle arbitraire: 1: pas de couvert végétal, 2: couvert peu dense (herbes, riz en début de cycle); 3: couvert moyen (riz stade montaison-épiaison) 4: couvert très fourni (riz à maturité; 10% de la lumière incidente) ii) mesuré le pH in situ lorsque c'était possible; iii) pris connaissance du type de fumure apporté.

Les prélèvements sur sols humides, engorgés ou submergés ont été traités au fur et à mesure de leur arrivée au laboratoire. Les prélèvements sur sol sec sont conservés dans des récipients hermétiques et traités en fonction des possibilités.

2.2. Estimation des biomasses par la méthode des suspensions-dilutions

La surface totale de sol prélevé pour un échantillonnage est de $31,4\text{cm}^2$ donc la dilution 10^{-1} correspond à une mise en suspension dans un volume total de 400ml. Dans le cas des sols submergés où le volume total des prélèvements sol + eau est supérieur à 400 ml, on applique un facteur de correction aux évaluations de biomasse (rapport de 400 ml au volume réel) afin d'avoir des résultats comparables.

Cette suspension est définie comme la dilution 10^{-1} . Les dilutions 10^{-1} sont dilués jusqu'à 10^{-6} ; 1ml de chaque dilution est étalé sur deux milieux gélosés à 1% répartis à raison de 30ml par boîte de Petri. On effectue trois répétitions. Les milieux utilisés sont le milieu BG11 (ALLEN et STANIER, 1968) qui permet le développement des algues eucaryotes et procaryotes pour les dilutions 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ; le milieu BG11 sans NaNO_3 qui ne permet que le développement des cyanobactéries fixatrices - GO - (ALLEN et STANIER, 1968) pour les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} . Les incubations sont faites dans une étuve lumineuse à 30°C . L'intensité lumineuse, de 500 lux environ, est produite par des tubes au néon type lumière du jour (Mazda Fluor, T.F.R., 20W). Au cours de l'incubation on permute tous les trois jours, horizontalement et verticalement, les boîtes de Petri afin d'éliminer toute hétérogénéité due à la position des boîtes dans l'étuve.

Les comptages sont effectués, après 21 jours d'incubation, sous un microscope stéréoscopique (Wild, M5). Une trame divise les boîtes de Petri en carrés de 1cm de côté, chaque carré est entièrement visible au grossissement X12. La trame permet le comptage des colonies sur toute la surface de la boîte de Petri. Lors du comptage nous avons regroupé les algues par familles. S'il existe pour une famille plusieurs espèces dominantes, les comptages sont faits séparément et les espèces associées sont reportés aux espèces dominantes morphologiquement les plus proches.

Les colonies correspondant à un même taxon sont prélevées sur la gélose, suspendues dans du milieu liquide BG11 et homogénéisées 10 minutes sur un agitateur magnétique Rühromag RS15 à la vitesse maxima. Sur la suspension obtenue nous mesurons la taille d'une centaine de fragments de filaments, le diamètre des agrégats de cellules ou, pour les diatomées, la longueur et le diamètre des frustules.

Ces valeurs sont ensuite rapportées au volume de base le plus proche: cylindre, sphère, ou cône.

Les biovolumes sont multipliés par le nombre de colonies trouvé pour 1ml de suspension à la dilution 10^{-1} . Les résultats sont rapportés en micron-cubes de matière vivante par colonne de 1cm^2 de section regroupant le premier centimètre de sol et l'eau de submersion; $1.10^{-10} \mu^3 \cdot \text{cm}^2$ correspond à une tonne de matière fraîche par hectare.

Les variables biologiques sont représentées suivant trois types d'évaluation:

- a) le nombre d'unités de comptage par cm^2 de sol pour les taxons regroupant des espèces aux biovolumes très variables;
- b) le pourcentage de la biomasse de chaque taxon par rapport à la biomasse algale totale d'un échantillon;
- c) la biomasse de chaque taxon.

Les variables non observées sont représentées par l'unité dans le tableau des données afin de ne pas négliger la probabilité de présence du taxon et aussi pour ne pas introduire de valeurs nulles dans les analyses statistiques.

2.3. Analyses physico-chimiques

Elles sont effectuées par le laboratoire d'analyse de l'ORSTOM à Dakar, les méthodes sont décrites par Paycheng (1980). Les échantillons de sol correspondent à l'horizon 0-2cm; ils sont analysés après séchage et broyage.

L'analyse mécanique permet de classer les éléments du sol par taille après la destruction de la matière organique et des agrégats; on distingue 5 catégories:

- les sables grossiers de 2mm à 0,2mm
- les sables fins de 0,2mm à 50 microns

- les limons grossiers de 50 microns à 20 microns
- les limons fins de 20 microns à 2 microns
- les argiles où les éléments sont inférieurs à 2 microns.

La mesure du pH se fait sur une suspension de sol dans l'eau (1/2,5) puis dans une solution KCl.N.: les sols non saturés ont un pH-KCl inférieur de quelques dixièmes d'unités au pH eau.

Les dosages du potassium, du phosphore total et du phosphore assimilable, de l'azote total, du carbone total, du calcium, du sodium, du magnésium, du soufre, du fer total et du fer libre, sont effectués. Le rapport carbone/azote, la somme des bases (S) échangeables, la capacité d'échange (T), le rapport S/T, la conductivité sont déterminés pour une première comparaison des corrélations.

Ces analyses ayant été effectuées sur une période de 4 ans, elles n'ont pas été complètes pour certains échantillons: c'est le cas pour les N° 25-51 où il n'y a pas eu d'analyse mécanique de dosage du fer et du sodium, pour les N° 58-86 pour la conductivité et les N° 58-66 pour le soufre total.

Les résultats sont présentés de la façon suivante :

- pH : dixième d'unité;
- analyse mécanique: chaque catégorie en % du total;
- phosphore total et phosphore assimilable en g pour 100 g de sol sec;
- calcium, sodium, magnésium, soufre en milliéquivalents pour 100 g de sol sec;
- carbone, azote: en mg par g de sol sec;
- fer total, fer libre en g pour 100 g de sol sec.

2.4. Analyse des données

2.4.1. Principe de l'analyse

Nous possédons sur 86 stations un ensemble de 48 paramètres quantifiés, composés des relevés physico-chimiques (22 variables) et de la composition floristique (26 variables). Chaque station est de plus, caractérisée par 4 variables supplémentaires: humidité in situ, couvert végétal, type de fertilisation, stade et état des cultures, définies par des modalités.

L'ensemble de ces informations se présente sous la forme d'un tableau rectangulaire de mesures dont les colonnes figurent les variables et dont les lignes représentent les stations de prélèvement. Les informations qu'il contient ne sont pas, par leur volume même, directement assimilables et nous devons en extraire l'essentiel par une représentation imagée facilement interprétable.

Une première approche consistera à examiner si deux variables sont indépendantes ou si elles varient linéairement, positivement ou négativement. Comme l'on ignore si ces variables sont réparties sur l'ensemble des échantillons suivant une loi normale, on déterminera entre elles le coefficient de corrélation des rangs (r_s) dû à Spearman (1904, in Snedecor et Cochran, 1957) calculé entre les valeurs des rangs de classement.

Le tableau de corrélations croisées obtenu, représentant 1200 valeurs, permet d'identifier les corrélations les plus importantes mais ne donne aucune indication sur les associations entre variables liées par de faibles corrélations, ni ne permet l'établissement de relations entre stations. Pour obtenir ces indications nous utiliserons les capacités de l'analyse en composantes principales qui permet de considérer les 48 paramètres (n) comme les 48 points d'un espace à 86 dimensions (p) ou inversement, les 86 stations seront les points d'un espace à 48 dimensions. Le but de cette analyse est d'approcher au mieux, en perdant le moins d'informations possible, le nuage de points obtenu dans cet espace en cherchant le sous-espace de dimensions réduites tel que les distances entre les projections des points-observations mesurés sur cette droite soient les plus proches possibles des distances définies dans l'espace à 86 ou 48 dimensions. Une démonstration mathématique suivie est développée par Lebart et Fénelon (1971).

A cette étape de l'analyse les proximités existant entre les points qui représenteront deux stations sont directement interprétables dans un sous-espace à deux dimensions: plus ils sont proches, plus ils ont des variables égales. Le coefficient de corrélation entre deux variables est représenté par le cosinus de l'angle sous lequel on voit ces deux variables dans l'espace à 86 dimensions. Une corrélation est forte par rapport à l'axe 1 lorsque l'angle formé avec cet axe est très faible. Dans ce type de représentation si deux variables sont très proches, soit elles mesurent la même chose, soit elles sont liées par une relation particulière.

Il faut toutefois, pour autoriser une analyse en composantes principales, que la normalité des données entre elles soit vérifiées. En effet, cette analyse est basée sur la mesure des coefficients de corrélation de Bravais-Pearson (r) qui suppose une distribution conjointe normale des deux variables (Schwartz, 1969).

Les variables 3, 5, 8, 15, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 50, 51, 52, ne participent pas à cette analyse car elles ont pour une part un effectif trop faible et pour l'autre une appréciation en classes et non en valeurs; il resterait 462 graphiques de normalité à établir. Pour simplifier cette opération nous avons seulement comparé le coefficient de corrélation r au coefficient r_s de Spearman en tenant pour valeurs non normales les coefficients r très supérieurs à r_s ; dans ce cas on considère qu'il peut y avoir au moins une valeur qui ne correspond pas à une loi normale.

Une troisième étape dans le traitement des données consiste à définir à partir de l'histogramme de chaque variable des classes ayant des effectifs équivalents pour permettre une analyse des correspondances avec la métrique du χ^2 (Benzecri, 1976). Ce type d'analyse permet d'introduire les 4 paramètres supplémentaires considérés comme des variables illustratives; elles seront mises en exergue dans les représentations graphiques.

2.4.2. Présentation et traitement des données

Les données sont introduites sur disquette 421-60 suivant la séquence décrite dans le tableau 1-1. Un numéro d'ordre de 1 à 52 et un libellé d'une à trois lettres est attribué à chacune. Elles sont traitées sur l'ordinateur IBM 43-31 du Centre de Recherche Océanographique de Thiaroye (Sénégal) à partir des programmes de Lebart et coll. (1977).

2.4.2.1. Pour l'analyse en composantes principales nous obtenons:

- le dictionnaire des variables: moyenne, écart-type, valeur minimum et maximum;
- la matrice des corrélations;
- l'édition des valeurs propres: histogramme, pourcentage et pourcentage cumulés;
- le graphique des variables;

- la matrice des corrélations dans l'ordre des variables sur le premier facteur;
- les coordonnées des variables sur les 6 premiers facteurs;
- les coordonnées des observations sur les 6 premiers facteurs;
- la représentation simultanée des variables et des observations;

N° d'ordre	Libellé	Intitulé complet
1	pH	pH eau 7,9
2	K	K ⁺ 11,15: milliéquivalent pour 100 g de sol sec
3	PT	Phosphore total 17,22: P ₂ O ₅ % de sol sec
4	PA	Phosphore assimilable 24,29: P ₂ O ₅ % de sol sec
5	EC	Conductivité 31,35: micromhos
6	C	Carbone 37,41: en mg par g de sol sec
7	N	Azote 43,47 " "
8	CSN	Rapport C/N 49,52
9	CA	Calcium 54,58: milliéquivalent pour 100 g de sol sec
10	NA	Sodium 60,64 " "
11	MG	Magnésium 66,70: " "
12	SO	Soufre 72,76: 10 ⁻² de sol sec
13	FET	Fer total 78,82: 10 ⁻² de sol sec
14	FEL	Fer libre 84,88: " "
15	CAE	Capacité d'échange 90,93: milliéquivalent/100 g de sol sec
16	ARG	Argile 95,98: % de la texture
17	LIF	Limon fin 100,103: "
18	LIG	Limon grossier 105,108: "
19	SAF	Sable fin 110,113: "
20	SAG	Sable grossier 115,118: "
21 *	HIS	Humidité in situ 120,121: 4 classes
22 *	CV	Couvert végétal 123,124: 7 classes
23	SST	Rapport somme des bases, capacité d'échange 7,9
24	SB	Somme des bases échangeables 11,14: meq./100 g
25 *	FET	Fertilisation 16,18: 4 classes
26 *	ETC	Etat de culture 20,21: 8 classes
	CDI	Colonies diatomées 10 ² -10 ⁶ /cm ²
	CDU	Colonies algues vertes unicell. 10 ² -10 ⁸ /cm ²
	CVF	Colonies algues vertes fil. 10 ¹ -10 ⁶ /cm ²
	CCU	Col. cyanobactéries unicell. 10 ² -10 ⁶ /cm ²
	CHN	Col. cyano. non ramifiées 10 ² -10 ⁶ /cm ²

Tableau 1-1 : Ensemble des paramètres testés dans les analyses de données. Les libellés seront employés dans le texte. L'intitulé complet indique successivement: la signification du paramètre, sa répartition sur la disquette de référence, * : variables qualitatives.

N° d'ordre	Libellé	Intitulé complet
27	COS	Colonies d'homocystées taille moyenne 23,28 : 10^1 à 10^5 000 000 par cm^2
28	COM	Colonies d'homocystées grande taille 30,35: 10^1 à 10^6
29	CCA	Colonies de Calothrix spp. 37,41 : 10^1 à 10^5
30	CPS	Colonies de Pseudanabaena spp. 43,47: 10^4 à 10^8
31	CHR	Colonies hétérocystées ramifiées 49,54 : 1 à 10^5
32	CUF	Colonies de cyanobactéries unicellulaires fixatrices 56,61: 1 à 10^5
33	PDI	% diatomées: 63,67 0,001 à 99
34	PVU	% Algues vertes unicellulaires: 69,73 0,001 à 99
35	PVF	% Algues vertes filamenteuses : 75,79 0,001 à 99
36	PCU	% Cyanobactéries unicellulaires: 81,86 0,001 à 99
37	PCL	% Cyanobactéries homocystées : 88,90 0,1 à 99
38	PHN	% Cyanobactéries hétérocystées non ramifiées : 92,96 0,001 à 99
39	PHR	% Cyanobactéries hétérocystées ramifiées : 98,103 0,0001 à 99
40	PTH	% Total de cyanobactéries hétéro- cystées 105,108 : 0,01 à 99
41	PTC	% Total cyanobactéries 110,112 : 0,1 à 99
42	PFS	% Pseudanabaena spp. 114,117 : 0,01 à 99
43	POL	% Homocystées: moyennes + grandes 119,123 : 0,001 à 99
44	PUF	% Cyanobactéries unicellulaires fixatrices 7,12 : 0,001 à 99
45	MHN	Biomasse cyanobactéries hétérocystées non ramifiées 14,19 : 10^5 à 10^{10} $\mu\text{g. cm}^{-2}$
46	MHR	Biomasse cyanobactéries hétérocystées ramifiées 21,26 : 10^4 à 10^9 " "
47	MTH	Biomasse totale cyanobactéries hétérocystées 28,33 : 10^5 à 10^{10} " "
48	MPS	Biomasse Pseudanabaena spp. 35,39: 10^6 à 10^{10} " "
49	MHT	Biomasse algale totale 41,46 : 10^7 à 10^{11} " "
50	MNP	Biomasse Nostoc punctiforme 48,55 : 10^7 " "
51	NSF	Nombre de souches fixatrices 57,59
52	NSH	Nombre de souches non fixatrices: 61-63.

Tableau 1-1 suite: Les paramètres sans numéro d'ordre sont éliminés de l'analyse après une étude préliminaire (voir § 3.2.1.1.1.).

- la partition des observations caractérisées sur les 6 premiers facteurs en 10 classes, les 9 premières contiennent les observations les plus stables dans les 3 partitions de base; chaque partition de base est formée en 3 itérations autour de 4 observations sources tirées au hasard;
- le graphique de densité illustrant la partition.

Comme toutes les observations ne possèdent pas toutes les variables nous avons choisi d'une part, d'éliminer les observations incomplètes et d'autre part, d'éliminer les variables n'étant pas dans toutes les observations; pour cela nous avons décomposé l'analyse:

- 1) en introduisant seulement les 26 variables liées à la composition floristique sur les 86 observations;
- 2) inversement, pour figurer un maximum de corrélation, en introduisant 44 variables pour 48 observations;
- 3) la représentation de 85 observations définies à partir de 34 variables.

2.4.2.2. Pour l'analyse des correspondances

Un histogramme établi pour chaque variable (annexe 2) permet de définir des classes que l'on a tenté de rendre équipondérées (Tableau 1-2). Le programme d'analyse donne successivement :

- le dictionnaire des variables avec le nombre d'observations de variables et de classes (modalités);
- l'épuration des données actives en supprimant les classes ayant un effectif inférieur à 5;
- les modalités abandonnées pour chaque variable;
- un bilan du traitement avec un développement complet (tri-à-plat) des variables;
- une analyse de correspondances multiples avec lectures directes du codage réduit;
- une édition des valeurs propres, pourcentage, pourcentage cumulé et histogramme;
- une édition des coordonnées et des contributions relatives et absolues sur les 6 premiers axes pour chaque variable;
- un graphique des modalités actives.

Variables	Classe 1		Classe 2		Classe 3		Classe 4		Classe 5		Abréviations
	Limites	Eff.	Limites	Eff.	Limites	Eff.	Limites	Eff.	Limites	Eff.	
pH	4-5	14	5-6,5	50	6,5 et +	22					pH
K	0,05-0,2	25	0,2-0,5	30	0,5-0,7	6	0,7<	7			K
Phosphore total	<0,4	52	0,4-1	29	1<	4					PT
P. assimilable	<0,05	57	0,05-0,1	15	0,1-0,7	12	0,7<	1			PA
Conductivité	<50	23	50-100	20	100-500	16	500<	10			EC
Carbone	<5	22	5-10	24	10-20	19	20-40	19	40<	1	C
Azote	<0,4	23	0,4-1	30	1-2	20	2<	14			N
C/N	<10	39	10-15	34	15<	13					CN
Calcium	<1	30	1-6	33	6-18	18	18<	5			CA
Sodium	<0,1	22	0,1-0,6	17	0,6-1	8	1-5	7	5<	4	NA
Magnésium	<0,1	17	0,1-1	26	1-10	37	10<	3			MG
Soufre	<0,1	27	0,1-0,4	17	0,4<	4					S
Fer total	<1	12	1-3	18	3-8	32	8<	6			FT
Fer libre	<0,5	13	0,5-3	35	3<	18					FL
Argile	<10	11	10-30	31	30-60	25	60<	3			AR
Limon fin	<10	25	10-30	40	30<	5					LF
Limon grossier	<10	38	10-30	30	30<	2					LG
Sable fin	<10	14	10-30	30	30-60	24	60<	2			SF
Sable grossier	<10	16	10-30	26	30-60	16	60<	12			SG
COS	<1	14	1-1.10 ⁴	26	10 ⁴ -10 ⁵	27	10 ⁵ <	19			CS
COM	<1	64	1-1.10 ³	9	10 ³ -10 ⁴	11	10 ⁴ <	3			CM

Variables	Classe 1		Classe 2		Classe 3		Classe 4		Classe 5		Abréviations
	Limites	Eff.	Limites	Eff.	Limites	Eff.	Limites	Eff.	Limites	Eff.	
CCA	<1	54	1-1.10 ²	2	1.10 ² -1.10 ³	16	1.10 ³ -1.10 ⁴	13	10 ⁴ <	1	CC
CPS	<1,10 ²	33	10 ² -10 ³	46	10 ³	7					CP
CHR	<1	42	1-1.10 ³	4	1.10 ³ -5.10 ⁴	30	5.10 ⁴ <	10			CH
CUF	<1	19	1-1.10 ⁴	32	1.10 ⁴ -1.10 ⁵	28	1.10 ⁵ <	7			CF
PDI	<0,001	15	0,001-1	23	1-10	29	10<	19			DI
PVU	<0,001	12	0,001-0,1	25	0,1-1	25	1<	24			VU
PVF	<0,001	51	0,001-1	15	1-10	20	10<	3			VF
PCU	<0,0001	23	0,0001-0,1	9	0,1-1	19	1-5	28	5<	7	CU
PCL	<10	10	10-50	20	50-75	20	75-95	18	95<	18	CL
PHN	<0,001	11	0,001-1	42	1-10	25	10<	8			HN
PHR	<0,0001	21	0,0001-1	16	1-10	26	10<	23			HR
PTH	<0,01	1	0,1-5	42	5-25	27	25<	16			TH
PTC	<50	19	50-95	26	95-98	8	98<	34			TC
PPS	<5	29	5-25	40	25	17					PS
POL	<25	14+20	25-75	36	75	16					OL
PUF	<0,0001	18	0,0001-0,1	14	0,1-1	34	1<	20			UF
MHN	<1.10 ⁵	1	1.10 ⁵ -1.10 ⁶	63	1.10 ⁶ -1.10 ⁷	20	1.10 ⁷ <	2			MH
MHR	<1.10 ⁴	29	1.10 ⁴ -5.10 ⁵	19	5.10 ⁵ -1.10 ⁷	28	1.10 ⁷ <	10			MR
MTH	<1.10 ⁸	37	1.10 ⁸ -1.10 ⁹	31	1.10 ⁹ -1.10 ¹⁰	17	1.10 ¹⁰ <	1			MT
MPS	<1.10 ⁷	24	1.10 ⁷ -1.10 ⁸	55	1.10 ⁸	7					MP
MHT	<1.10 ⁸	17	1.10 ⁸ -1.10 ⁹	53	1.10 ⁹ -1.10 ¹¹	15	1.10 ¹¹ <	1			BT
MNP	<1.10 ³	41	1.10 ³ -1.10 ⁴	18	1.10 ⁴ -1.10 ⁶	18	1.10 ⁶ <	8			MN
NSF	<3	23	3-6	44	6-9	14	9<	5			NF
NSH	<3	61	3-6	22	6<	3					NH

Tableau 1-2 : Intervalle des classes utilisées pour l'analyse des correspondances.

3. RESULTATS

3.1. Observations sur les données de base

Les histogrammes de répartition des variables utilisées dans les analyses suivantes sont présentées en annexe 2.

3.1.1. Exhaustivité de l'échantillonnage

Pour une validation de l'analyse numérique, il est recommandé de s'assurer que le recueil des données n'est pas artificiellement tronqué ni notoirement incomplet pour les observations aussi bien que pour les variables (Benzecri et coll., 1976).

Les stations représentent pratiquement toutes les possibilités de développement de la flore algale: du sol de rizière au bas fond dunaire. Dans le paragraphe 2.1.1. elles sont décrites à partir de thèmes différents: la localisation géographique, l'activité agronomique, les stades de croissance du riz, le degré d'humidification du sol. Nous introduisons de plus dans les analyses des thèmes supplémentaires: le type de fertilisation et le couvert végétal (Tableau 1-1). Cependant il peut y avoir toujours une certaine subjectivité au choix des stations même si celles-ci semblent représenter tout l'éventail des situations possibles. Aussi sur la base des analyses physico-chimiques, nous représentons cette exhaustivité par deux configurations :

- a) *un facteur de fertilité morphologique* (Muller et Gavaud, 1976): la texture du sol, figurée par le diagramme textural (Fig. 1-2, Durand, 1965). Elle souligne une répartition des stations sur tous les types de texture, sols argileux, sableux ou limoneux; les sols sableux, couvrant de grandes surfaces sont les plus représentés;
- b) *un facteur de fertilité chimique* par le rapport pH/N appliqué sur les échelles du diagramme de fertilité de Dabin (1964) montre une grande dispersion des stations (Fig. 1-3) allant d'une très bonne fertilité (2, 3, 83) à une très mauvaise (15, 23, 34).

3.1.2. Corrélations significatives suivant les tests de Spearman et de Bravais-Pearson.

Avec un ensemble de variables particulièrement hétérogènes car ayant pour unités des milligrammes pour 100 g de sol, des microns-cubes par cm², des pourcentages, on ne peut, a priori, établir si la

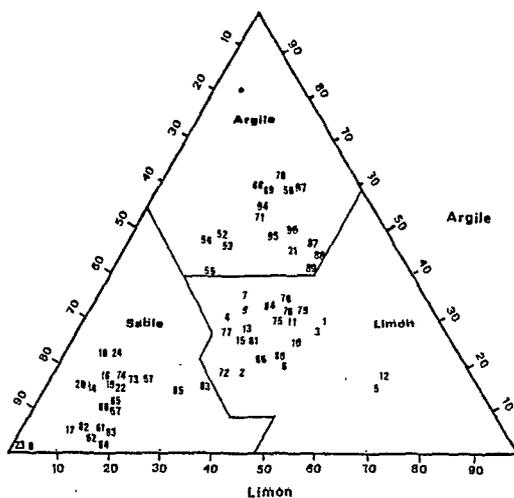


Figure 1-2: Diagramme textural des stations de prélèvement

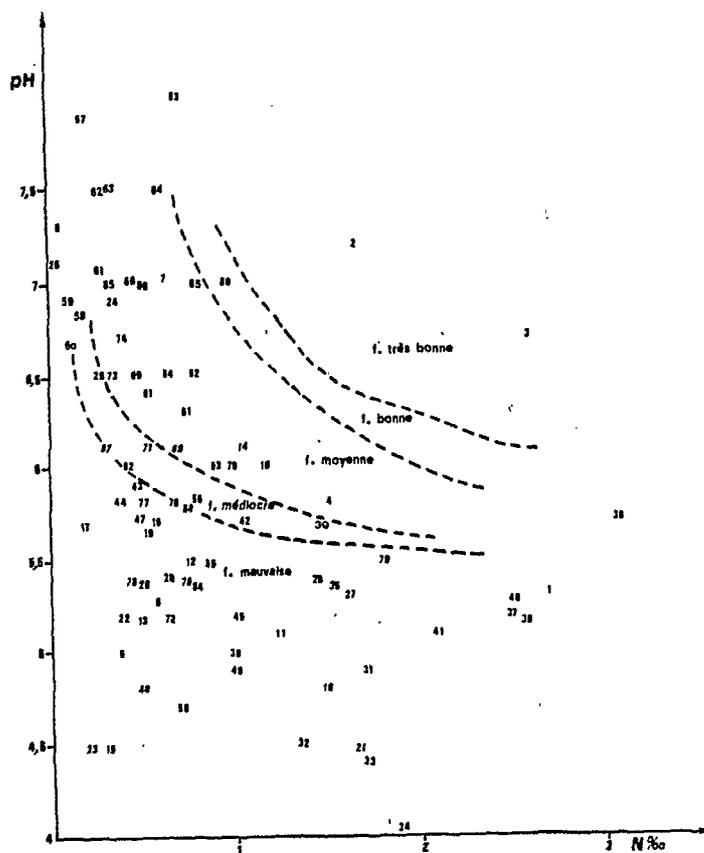


Figure 1-3: Diagramme de fertilité chimique d'après Dabin (1964) sur l'ensemble des stations.

population de deux variables suit une distribution normale. Il est possible néanmoins, d'examiner si deux variables sont indépendantes ou si elles varient dans le même sens ou en sens contraire par le test de corrélation des rangs de Spearman. Les variables sont rangées de leur plus forte vers leur plus faible valeur sans tenir compte des unités ni des écarts types par rapport aux valeurs moyennes.

$$r_s = 1 - \frac{n - 1 - \sum d^2}{n(n^2 - 1)} \quad r_s, \text{ le coefficient de corrélation peut varier}$$

de - 1 à + 1; d = différence entre les rangs des deux variables d'un échantillon.

La comparaison de ces "rs" avec les coefficients "r" de Bravais-Pearson obtenus parallèlement, permet de déterminer plus sûrement les corrélations significatives. Lorsque "r" sera proche de + 1 ou - 1 en étant supérieur à "rs", la distribution sera probablement asymétrique.

Pour avoir un nombre maximum de relations nous effectuons un test avec 30 variables sur 86 observations et avec 9 autres variables sur 57 observations (Tableaux 1-3, 1-4).

Pour des corrélations de plus de dix paires, l'hypothèse nulle de " r_s " est analogue à celle de " r " et les mêmes seuils de significations sont utilisés avec un degré de liberté égal à $n-2$.

Aussi les coefficients de corrélations sont positifs avec un seuil de signification de 5% lorsqu'ils sont supérieurs à $\pm 0,22$ pour 84 degrés de liberté et $\pm 0,26$ pour 55 d.d.l.

Il existe 155 corrélations positives, 99 corrélations négatives et 15 corrélations nulles avec le test de Spearman; 97 corrélations positives, 43 corrélations négatives et 64 corrélations nulles avec le test de Bravais-Pearson; soit 254 et 140 corrélations significatives sur l'ensemble du tableau. Il y a 120 corrélations significatives communes aux deux tests. Sur les 20 corrélations où " r " est significative et " r_s " ne l'est pas, six ont " r " très supérieur à " r_s ". Il s'agit des paires :

PVU-CPS	CCA-MPS	MPS-PDI
PVU-PA	CCA-CPS	MTH-K

Pour chacune d'entre elles les histogrammes (annexe 2) d'au moins une variable montrent une répartition très éloignée d'une loi normale: PVU a 45 valeurs inférieures à 0,1 et 2 valeurs entre 20 et 50; CCA a 61 valeurs inférieures à 10 et une valeur supérieure à 10.000; PA a 57 valeurs inférieures à 0,05 et une égale à 1,3; MPS a 79 valeurs inférieures à 10^8 et une valeur supérieure à 10^9 ;

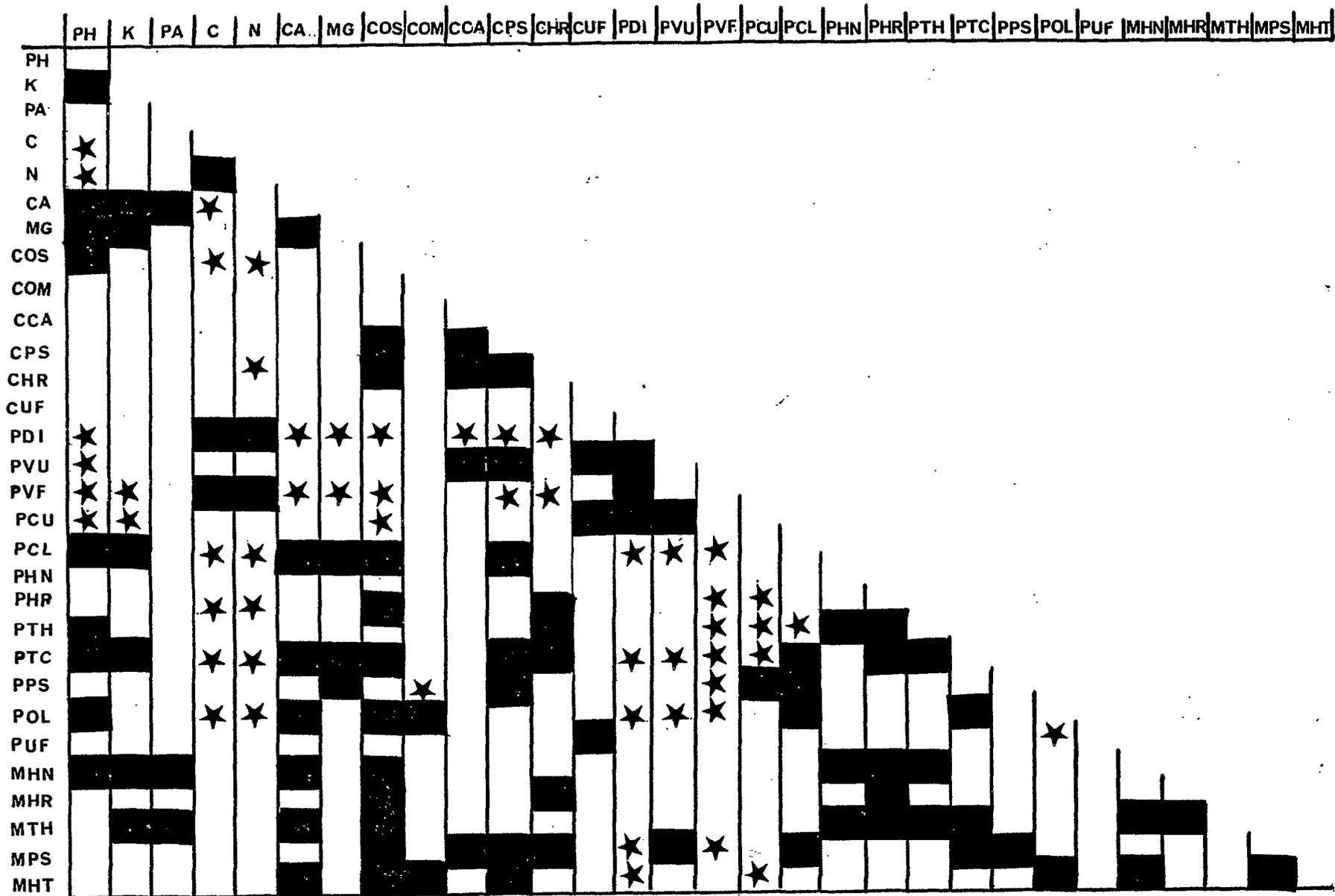


Tableau 1-3 : Corrélations croisées effectuées pour 30 variables sur 86 stations. Les corrélations significatives au seuil de 5% sont signalés: ■ positives; ★ négatives.

MTH a 37 valeurs inférieures à 10^8 et une valeur supérieure à 10^{10} . Ces corrélations doivent être considérées avec réserve dans l'analyse en composantes principales. Il est à remarquer que le couple CUF-COM donne des corrélations $r < r_s$ avec 57 échantillons et $r = r_s \approx 0$ avec 86 échantillons. En tout état de cause, l'analyse sera effectuée avec le maximum d'échantillons possible.

	SO	NA	FET	FEL	ARG	LIF	LIG	SAF	SAG	COM	CCA	CUF
SO	1											
NA	<i>0,76</i> <i>0,39</i>	1										
FET	0,1 <i>0,23</i>	0,13 <i>0,03</i>	1									
FEL	0,02 <i>0,29</i>	0,13 <i>0,10</i>	<i>0,77</i> <i>0,77</i>	1								
ARG	<i>0,29</i> <i>0,28</i>	<i>0,61</i> <i>0,70</i>	<i>0,36</i> <i>0,28</i>	<i>0,40</i> <i>0,28</i>	1							
LIF	0,04 <i>0,28</i>	0,03 <i>0,40</i>	<i>0,52</i> <i>0,39</i>	<i>0,55</i> <i>0,39</i>	<i>0,47</i> <i>0,64</i>	1						
LIG	-0,23 <i>-0,19</i>	-0,21 <i>0,04</i>	0,07 <i>-0,08</i>	0,09 <i>-0,06</i>	-0,12 <i>0,09</i>	0,33 <i>0,45</i>	1					
SAF	-0,22 <i>-0,29</i>	<i>-0,36</i> <i>-0,51</i>	<i>-0,49</i> <i>-0,50</i>	<i>-0,61</i> <i>-0,57</i>	<i>-0,70</i> <i>-0,71</i>	<i>-0,70</i> <i>-0,70</i>	-0,06 <i>-0,04</i>	1				
SAG	-0,02 <i>-0,07</i>	<i>-0,21</i> <i>-0,43</i>	-0,26 <i>0,05</i>	-0,17 <i>0,11</i>	<i>-0,57</i> <i>-0,58</i>	<i>-0,56</i> <i>-0,55</i>	<i>-0,46</i> <i>-0,55</i>	0,17 <i>0,24</i>	1			
COM	-0,13 <i>0,05</i>	0,14 <i>0,20</i>	0,07 <i>-0,18</i>	0,18 <i>0,17</i>	0,18 <i>-0,32</i>	0,10 <i>-0,14</i>	-0,01 <i>0,03</i>	-0,03 <i>0,11</i>	-0,14 <i>0,23</i>	1		
CCA	-0,15 <i>-0,07</i>	-0,17 <i>0,04</i>	0,11 <i>0,34</i>	0,17 <i>0,13</i>	0,02 <i>0,07</i>	0,05 <i>0,21</i>	-0,08 <i>-0,01</i>	0,03 <i>-0,08</i>	-0,05 <i>-0,07</i>	0,06 <i>0,06</i>	1	
CUF	-0,18 <i>0,04</i>	-0,13 <i>-0,02</i>	-0,07 <i>0,34</i>	-0,06 <i>0,25</i>	-0,09 <i>0,07</i>	0,02 <i>0,08</i>	0,17 <i>0,05</i>	0,14 <i>-0,13</i>	0,05 <i>0,05</i>	0,31 <i>0,04</i>	0,15 <i>0,28</i>	1

57 échantillons

Tableau 1-4: Corrélations croisées effectuées pour 12 variables sur 57 stations; valeurs supérieures (droites) test de Bravais-Pearson, valeurs inférieures (italiques): test de Spearman.

3.2. Analyse en composantes principales

3.2.1. Relations entre variables

La figure 1-4 illustre la structure obtenue par la projection des variables biologiques sur les deux premiers axes qui expliquent respectivement 16,8 et 12,5% de la variance totale avec 86 observations.

La figure 1-5 illustre la structure obtenue par l'ensemble des variables physico-chimiques et biologiques sur les deux premiers axes qui expliquent respectivement 17,3 et 10,8% de la variance totale avec 48 observations.

3.2.1.1. Relations entre variables biologiques

Pour un même échantillon les variations du spectre algal sont présentées sous trois formes complémentaires (Tableau 1-5); nombre de colonies par cm^2 , biomasse relative et biomasse absolue. Cependant tous les constituants de la flore algale ne sont pas représentés sous ces trois formes; nous précisons, avant l'étude de la figure 1-4, les raisons de ces choix et les premières conclusions que l'on peut établir.

3.2.1.1.1. Choix des variables

a) *Poids des variables*: un certain nombre de variables correspondant aux unités de comptage ne sont pas introduites dans l'analyse. En effet une étude préliminaire sur les "rs" de ces variables par rapport aux biomasses relatives correspondantes a montré des corrélations significatives au seuil de 1% pour PDI-CDI, PVU-CDU, PVF-CVF, PCU-CCU, POS-COS, PHN-CHN. Il est apparu plus intéressant de comparer les biomasses relatives des constituants de la flore algale plutôt que le nombre d'unités de comptage par cm^2 , de plus la lecture des graphiques en est simplifiée.

Bien entendu nous avons tenu compte de cas particuliers où l'introduction des unités de comptage amenaient des informations supplémentaires.

	unité de comptage.cm ⁻²	% biomasse totale	biomasse µ3.cm ⁻²
<i>CYANOPHYTES</i>			
Formes Homocystées: petite taille	CPS-----	PPS } -----	MPS
taille moyenne	COS } -----	PCL	
grande taille	COL } -----	POL	
Formes Hétérocystées: Calothrix spp.	CCA -----	+	+
Hétérocystées		PHN } -----	MHN
non ramifiées		PTH	
Hétérocystées ramifiées	CHR -----	PHR } -----	MHR
Nostoc punct.			MNP
Formes unicellulaires: fixatrices	CUF-----	PUF	
totales		PCU	
Total des cyanophytes:		PTC	

EUCARYOTES

Diatomées-----	PDI
Algues vertes unicellulaires-----	PVU
Algues vertes filamenteuses -----	PVF
Total -----	MHT

Tableau 1-5: Composition de la flore algale: sigles représentant les différentes estimations utilisées pour chaque groupe algal pris en compte.

b) *Precision du biovolume inter-observations:*

Nous avons montré :

(REYNAUD et LALOE, 1985), que l'erreur sur le biovolume augmente avec le nombre d'espèces rassemblés dans le même taxon. Cette tendance est plus importante lorsqu'un taxon rassemble des espèces sur un grand nombre d'observations. La corrélation entre unité de comptage et biomasse est égale à 1 si le taxon ne représente qu'un seul biovolume, correspondant à un ensemble d'espèces différenciés seulement par la description détaillée des différents articles (cellules végétatives, hétérocystes, akinètes).

La relation unité de comptage-biomasse est illustrée par deux exemples.

Dans le premier cas le nombre d'unités de comptage et la biomasse des homocystées de petite taille (CPS) et MPS) ont une corrélation $r = r_s = 0,98$: ce taxon rassemble les espèces aux biovolumes semblables dont l'exemple type est *Pseudanabaena* spp. Les deux variables se recouvrent, elles seront confondues pour la suite de l'analyse.

Dans le deuxième cas le taxon "cyanobactéries hétérocystées ramifiées" a un $r = 0,57$ et un $r_s = 0,85$, ce qui signifie qu'il correspond au rassemblement d'espèces ayant des biovolumes très différents et aussi, que les espèces aux biovolumes les plus forts sont en général représentées en plus grand nombre que les espèces ayant des biovolumes plus faibles. Dans l'analyse le nombre d'unités de comptage (CHR), la biomasse (MHR) et le pourcentage (PHR) seront donc considérés séparément.

c) Cas des unités de comptages par cm^2 : certains taxons sont présentés seulement sous le nombre d'unités de comptage par cm^2 car ils regroupent, d'un prélèvement à un autre, des souches ayant des biovolumes très différents, dont la grande variabilité au niveau des biomasses est difficilement interprétable, mais dont la prise en considération peut être intéressante.

C'est le cas de Calothrix spp. (CCA), regroupée avec les cyanobactéries hétérocystées non ramifiées pour l'estimation de la biomasse relative et absolue (PHN et MHN). CCA est étroitement lié aux homocystées de petite taille (CPS et MPS), aux homocystées de grande taille (COM) et à Nostoc punctiforme (MNP). Si l'association CCA-CPS-MPS est à considérer avec précaution (voir 3.1.2.), les proximités entre COM et MNP, COM et CPS ou MPS, COM et CCA sont parfaitement acceptables et donc par récurrence le nombre d'unités de comptage de Calothrix spp. est lié au nombre d'unités de comptage d'homocystées de petite taille.

C'est aussi le cas pour les cyanobactéries homocystées de taille moyenne (COS) et de grande taille (COM) qui sont ensuite regroupées pour l'estimation de la biomasse relative (POL). Il existe une étroite relation entre les cyanobactéries homocystées de grande taille (COM), les cyanobactéries unicellulaires (PUF, CUF, PCU) et les cyanobactéries hétérocystées ramifiées (CHR). L'augmentation du nombre d'unités de comptage d'homocystées de taille moyenne (COS) augmente le nombre d'espèces d'homocystées.

d) *Cas de la variable définissant une espèce.* Lorsque la variable désigne précisément une espèce comme par exemple Nostoc punctiforme, facilement identifiable, très fréquente, mais qui ne représente pas plus d'1% de la biomasse totale (annexe 2), il est préférable d'étudier alors ses corrélations à partir de la biomasse par cm^2 (MNP). Comme nous l'avons noté en (C), N. punctiforme est étroitement associé à Pseudanabaena spp. et à Calothrix spp.

3.2.1.1.2. Associations entre variables biologiques

Sur la figure 1-4, l'axe 1 explique positivement les algues eucaryotes et négativement les cyanobactéries; l'axe 2 exprime la tendance homocystée vers la tendance hétérocystée. La biomasse algale totale (MHT), les colonies de cyanobactéries unicellulaires fixatrices (CUF), le pourcentage de cyanobactéries unicellulaires (PCU) et le pourcentage de cyanobactéries hétérocystées non ramifiées (PHN) sont expliqués par les facteurs 1 et 2.

La corrélation dans l'ordre des variables sur le premier facteur permet une séparation préliminaire en 2 groupes par rapport au pourcentage de cyanobactéries (PTC): les corrélations fortement positives: PCL, POL, NSH, COS, PPS, PTH, PHR, NSF, et les corrélations négatives: PVU, PDI, PVF. Comme les valeurs propres actives représentent 34% et que le premier axe ne représente que 16,8% de l'ensemble des valeurs propres, il faut tenir compte de l'ordre des variables sur le deuxième et sur le troisième axe.

L'ensemble des résultats permet de différencier la flore algale en 4 groupes :

groupe 1: algues eucaryotes, PVU, PVF, PDI orientées sur l'axe 1;

groupe 2: cyanobactéries hétérocystées ramifiées et non ramifiées MTH, NSF, PTH, PHR, CHR, MHR, MHN, PHN; orientées négativement sur l'axe 2.

groupe 3: dans le troisième quadrant résultant des axes 1 et 2, l'ensemble des cyanobactéries homocystées, PCL, PTC, POL, COS, MPS, PPS, CPS, COM, NSH, la biomasse totale (MHT) et les colonies de Calothrix spp. (CCA).

groupe 4: cyanobactéries unicellulaires fixatrices et non fixatrices, PUF, CUF, PCU situées à l'intersection des axes 1 et 2.

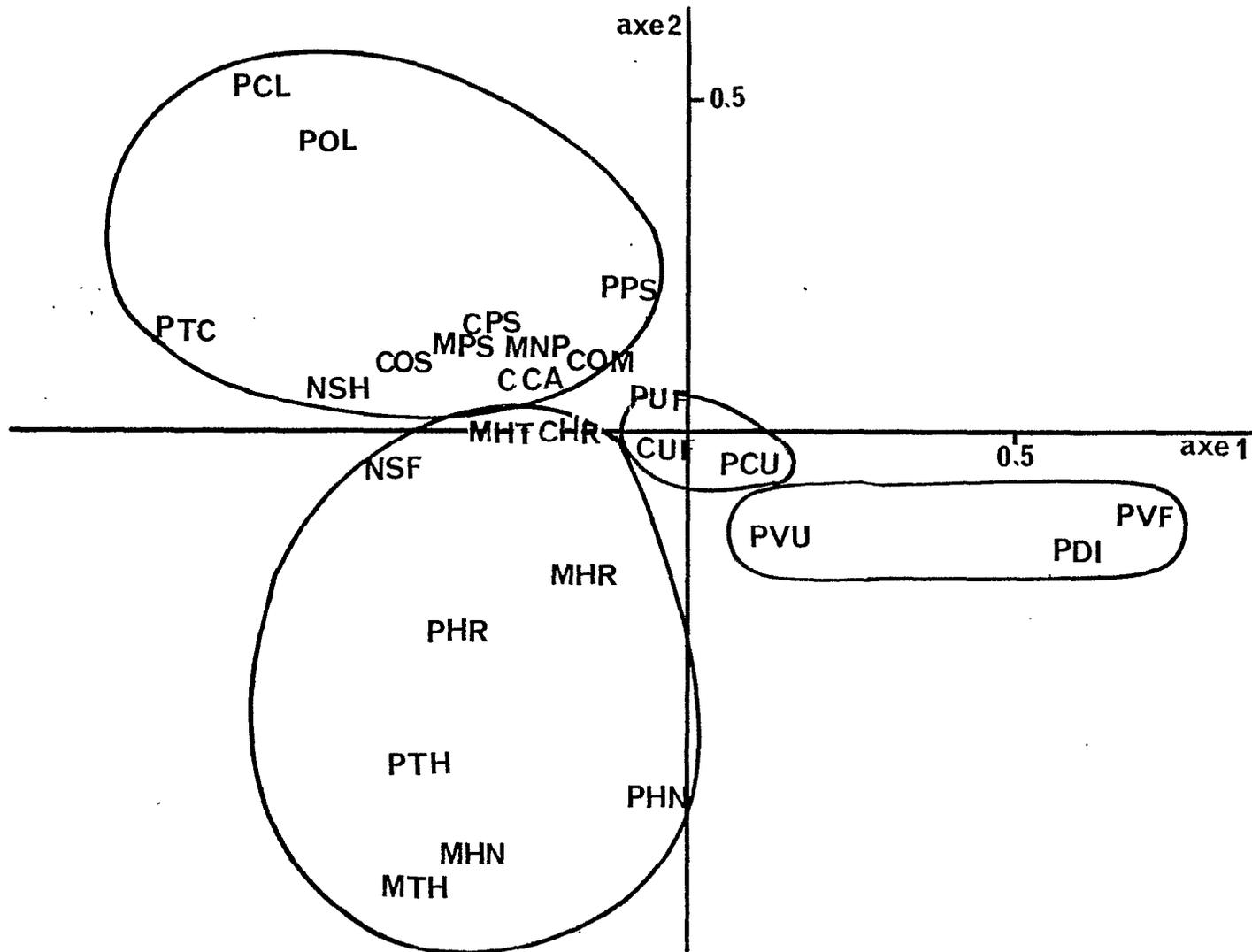


Figure 1-4: Ecologie des cyanobactéries en zone soudano-sahélienne; analyse en composantes principales des constituantes de la flore algale. Les variables sont distribuées dans le système des axes 1 et 2 et rassemblées suivant les conditions du § 3.2.1.1.2. en quatre groupes définis dans le texte.

La disposition des groupes 2 et 3 suggère plus entre eux des associations que des exclusions. La présence de cyanobactéries homocystées ne signifie pas l'absence de formes hétérocystées mais une représentation plus ou moins importante de ces dernières. Par contre la présence de fortes concentrations d'algues vertes filamenteuses ou de diatomées est en opposition avec la présence de cyanobactéries dans la même population.

Le nombre de souches homocystées (NSH) est toujours lié au nombre de souches hétérocystées (NSF) dans un biotope: ce sont des conditions écologiques qui augmenteront ou diminueront le nombre total d'espèces.

3.2.1.2. Relation entre variables physico-chimiques et composition algale.

Sur la figure 1-5 les 4 groupes algaux sont représentés en pointillés, les variables physico-chimiques sont encerclées. Nous avons recours pour expliquer cette figure aux conclusions établies dans le paragraphe précédent et à la matrice des corrélations de Bravais-Pearson. Les groupes algaux 1, 3 et 4 sont ici regroupés à l'intersection des deux premiers axes alors que le groupe 2, cyanobactéries hétérocystées, conserve son identité dans le deuxième quadrant.

La plupart des variables physico-chimiques sont nettement séparées des variables biologiques. Ceci peut s'expliquer de deux façons: par l'absence de corrélations entre les deux types de variables ou par de très fortes corrélations entre variables physico-chimiques.

Le pH: l'analyse des axes 1 et 2 situe le pH avec le groupe 2 de cyanobactéries hétérocystées, ce qui signifie que lorsque le pH augmente, la biomasse absolue et relative des cyanobactéries hétérocystées, ramifiées ou non, augmente. Ce résultat est conforme aux observations de Brannon (1945), Mitra (1951), Marathe (1966) qui observent une prépondérance des cyanobactéries dans les sols alcalins. Cependant, compte tenu de la faiblesse des premières valeurs propres, les axes 1 et 2 ne renferment pas toutes les informations. L'analyse de la matrice des corrélations signale aussi des corrélations négatives, significatives à 1%, entre le pH et le groupe 1 des algues eucaryotes et des corrélations positives avec la biomasse relative d'homocystées (POL, PCL).

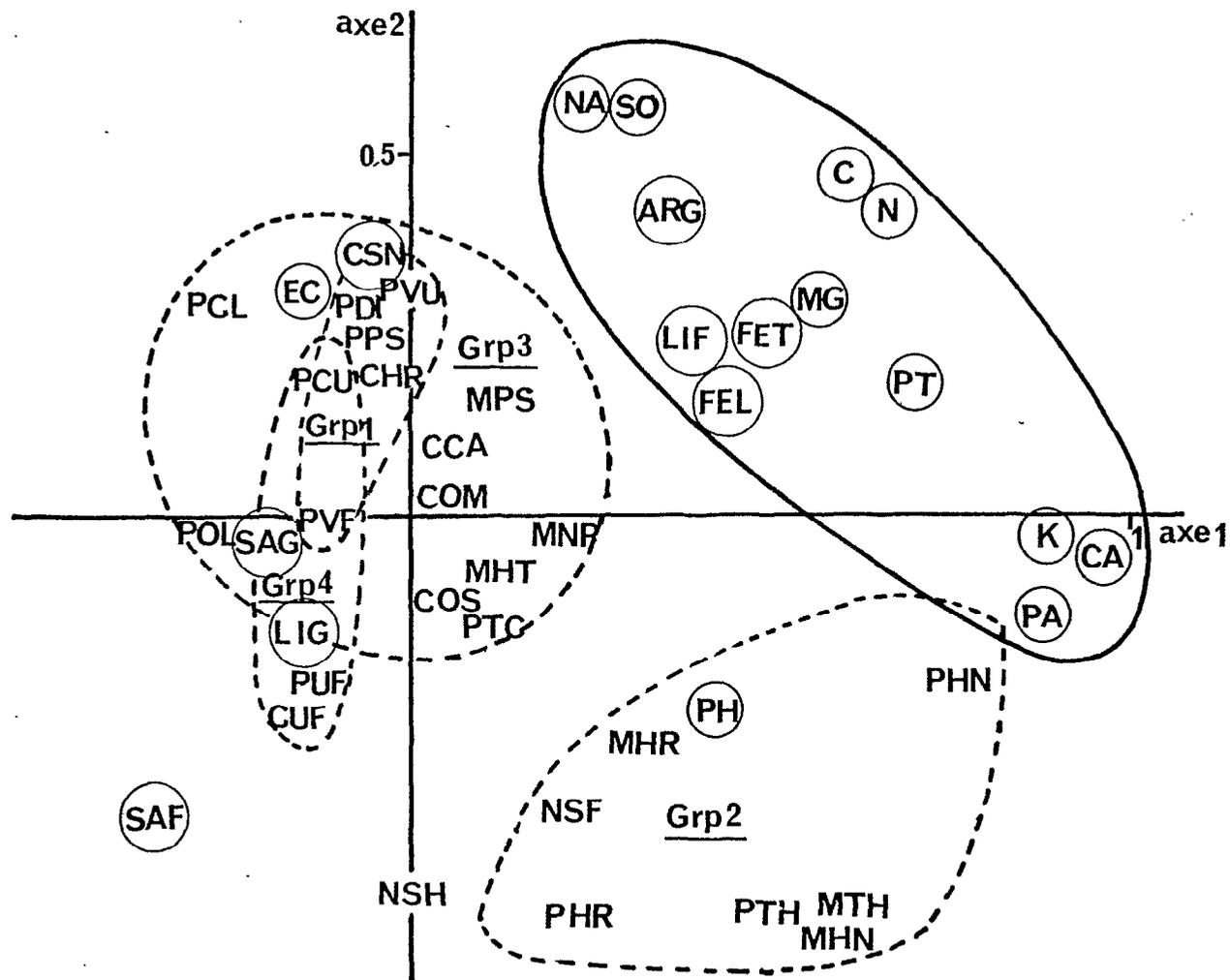


Figure 1-5: Ecologie des cyanobactéries en zone soudano-sahélienne; analyse en composantes principales des constituants de la flore algale et de la composition physico-chimique (sigles encadrés) du sol de surface. Voir § 3.2.1.2. pour la définition des axes 1 et 2.

Les composantes de la matière organique: carbone (C) et azote (N) sont étroitement liées entre elles et avec le % de cyanobactéries hétérocystées non ramifiées (PHN), de diatomées (PDI) et d'algues vertes filamenteuses (PVF). Nous retrouvons les conclusions de Reynolds et Walsby (1975) pour lesquels l'addition simultanée de composés azotés et de CO₂ augmente la concentration d'algues vertes. Aux faibles concentrations en matière organique l'on trouve des biomasses relatives importantes de cyanobactéries homocystées (POL, PCL, PTC).

L'augmentation du rapport C/N (CSN) est parallèle à celle de la biomasse relative de Pseudanabaena spp. (PPS), de cyanobactéries unicellulaires (PCU) et de diatomées (PDI). Ces souches sont en général parmi les premiers colonisateurs d'un sol et leur présence en d'importantes proportions de la biomasse algale est caractéristique d'un biotope en formation; inversement des C/N faibles correspondent à une matière organique évoluée.

Les éléments minéraux ont des actions de deux ordres: i) ceux dont l'augmentation dans le sol de surface augmente la biomasse relative et la biomasse totale de cyanobactéries hétérocystées non ramifiées (PHN, MHN, MTH). Il s'agit du calcium (CA), du potassium (K), du phosphore (PT, PA), du fer (FET, FEL), ii) ceux dont l'augmentation est en rapport avec une augmentation de la biomasse relative de diatomées: le soufre (SO), le sodium (NA). Le magnésium (MG) n'est lié qu'à la biomasse de Nostoc punctiforme (MNP).

Il est à noter que phosphore assimilable (PA) et fer libre (FEL) ont des corrélations plus fortes avec les variables biologiques que le phosphore et le fer total (PT, FET).

Un besoin en calcium pour une croissance optima est montré pour les algues vertes, les cyanobactéries et les diatomées (Healey, 1973). En général les cyanobactéries demandent plus de calcium pour pousser sans azote minéral; l'addition de carbonate de calcium aux rizières augmente simultanément la croissance des algues et la fixation d'azote (Okuda et Yamaguchi, 1952, Subba Raju, 1972).

Les besoins en phosphore pour une croissance optima diffèrent considérablement d'une espèce à l'autre lorsqu'aucun autre facteur n'est limitant (Kuhl, 1974). Okuda et Yamaguchi (1952) établissent une étroite relation entre cyanobactéries et phosphore assimilable sur 177 sols submergés: la croissance devient normale au-dessus de '6 ppm.

Sur des sols argileux, Granhall (1975) a noté l'augmentation des cyanobactéries fixatrices avec l'augmentation du phosphore assimilable.

L'augmentation de la conductivité (EC), classiquement liée au rapport C/N, est en relation avec celle des populations de cyanobactéries unicellulaires (PUF, PCU). Elle diminue la biomasse totale de cyanobactéries (MTH), plus particulièrement la biomasse relative d'homocystées (POL) et le nombre de souches présentes dans le biotope (NSF, NSH). Ce dernier point est observé par Marathe (1967) sur les sols de l'Inde, et par Al-Kaisi (1976) sur les sols irakiens.

Les composantes de la texture du sol ont une répartition particulière sur la figure 1-5. Les pourcentages d'argile (ARG) et de sable fin (SAF) forment une corrélation négative très forte ($r = 0,70$), ordonnant les premiers facteurs et oblitérant les relations qui pourraient les lier à d'autres variables; il ne sera pas possible d'établir qu'un sol sableux ou un sol argileux favorise ou limite le développement d'un groupe algal à partir de nos données. Les observations de Granhall et Henrikson (1969), Anantani et Marathe (1972) montrent qu'il existe plus d'espèces sur les sols argileux que sur les sols sableux; ils lient ce fait à une meilleure conservation de l'eau de surface dans les argiles.

Nous avons par contre, dans le cas du limon grossier (LIG) ou du sable grossier (SAG) des corrélations, positives ou négatives, moins fortes avec les autres composantes de la texture, ce qui permet de mettre en évidence des relations avec la flore algale.

Ainsi sur un sol composé en majorité de sable grossier l'on rencontre principalement des formes homocystées de taille moyenne (COS, POL) et des cyanobactéries fixatrices ramifiées (CHR). Sur un sol composé en grande partie de limon grossier, la flore algale comprend surtout des cyanobactéries unicellulaires fixatrices (PUF, CUF), des algues vertes filamenteuses (PVF) et des formes homocystées (POL).

3.2.2. Associations privilégiées entre observations et variables.

La représentation simultanée des variables et des observations est obtenue à partir de 34 variables pour 85 observations (figure 1-6). Les observations caractérisées par 6 coordonnées cartésiennes sont divisées en 10 classes, nous avons représenté les 6 premières de "a" à "f" ayant respectivement des effectifs de 21, 19, 11, 7, 5,

5 observations; elles donnent des pourcentages cumulés de valeur propres de 24,7 - 47,1 - 60 - 68,2 - 74,1 - 80%. Les faibles valeurs propres sur les deux premiers facteurs expliquent la forme contournée des classes obtenues; pour nos commentaires nous poursuivrons, si besoin est, les investigations jusqu'au facteur 6.

La classe "a" caractérisée par l'axe 2, représente des stations provenant de toutes les régions. Les prélèvements sont effectués sur des sols secs ou engorgés portant des croûtes algales. Une analyse des données de base montre que la composition de ces croûtes est à dominance de formes homocystées: elles représentent au minimum 50% de la biomasse totale alors que les formes hétérocystées représentent au maximum 20% de cette biomasse.

Les stations de la classe "b" situées autour de l'axe 1, proviennent presque toutes de Casamance (16/19). Elles sont caractérisées par des populations importantes de diatomées et de chlorophycées filamenteuses.

Les stations de la classe "c" situées sur l'axe 2 correspondent à des biomasses algales assez faibles où prédominent les cyanobactéries unicellulaires et les formes homocystées. Elles sont de plus caractérisées par des C/N élevés marquant soit des zones de colonisation récente (arachide, mare temporaire) soit d'importantes hauteurs d'eau (20-25cm) ayant provoqué un effet de dilution.

Les stations de la classe "d" sont caractérisées par une formation algale en croûte ne contenant que des cyanobactéries, composées de 35 à 60% de leur biomasse par des formes fixatrices. Il s'agit de jachères sur sol sableux très rarement humidifiés possédant un potentiel de fixation d'azote élevé.

Les stations de la classe "e" correspondent à des biomasses algales faibles, composées principalement de Pseudanabaena spp., sur des sols pauvres à conductivité élevée.

Les stations de la classe "f" ne présentent pas de caractéristiques particulières sur les axes 1 et 2; on note une corrélation avec les cyanobactéries hétérocystées ramifiées sur les axes 3 et 5. Une corrélation avec les cyanobactéries hétérocystées ramifiées est établie aussi pour les stations 4, 58 et 64 sur l'axe 4.

La station 51, rizière à maturité de Thiaroye, est définie par plusieurs variables sur l'axe 1: cyanobactéries unicellulaires (CUF, PUF, PCU) et sur l'axe 2: phosphore assimilable (PA), cyanobac-

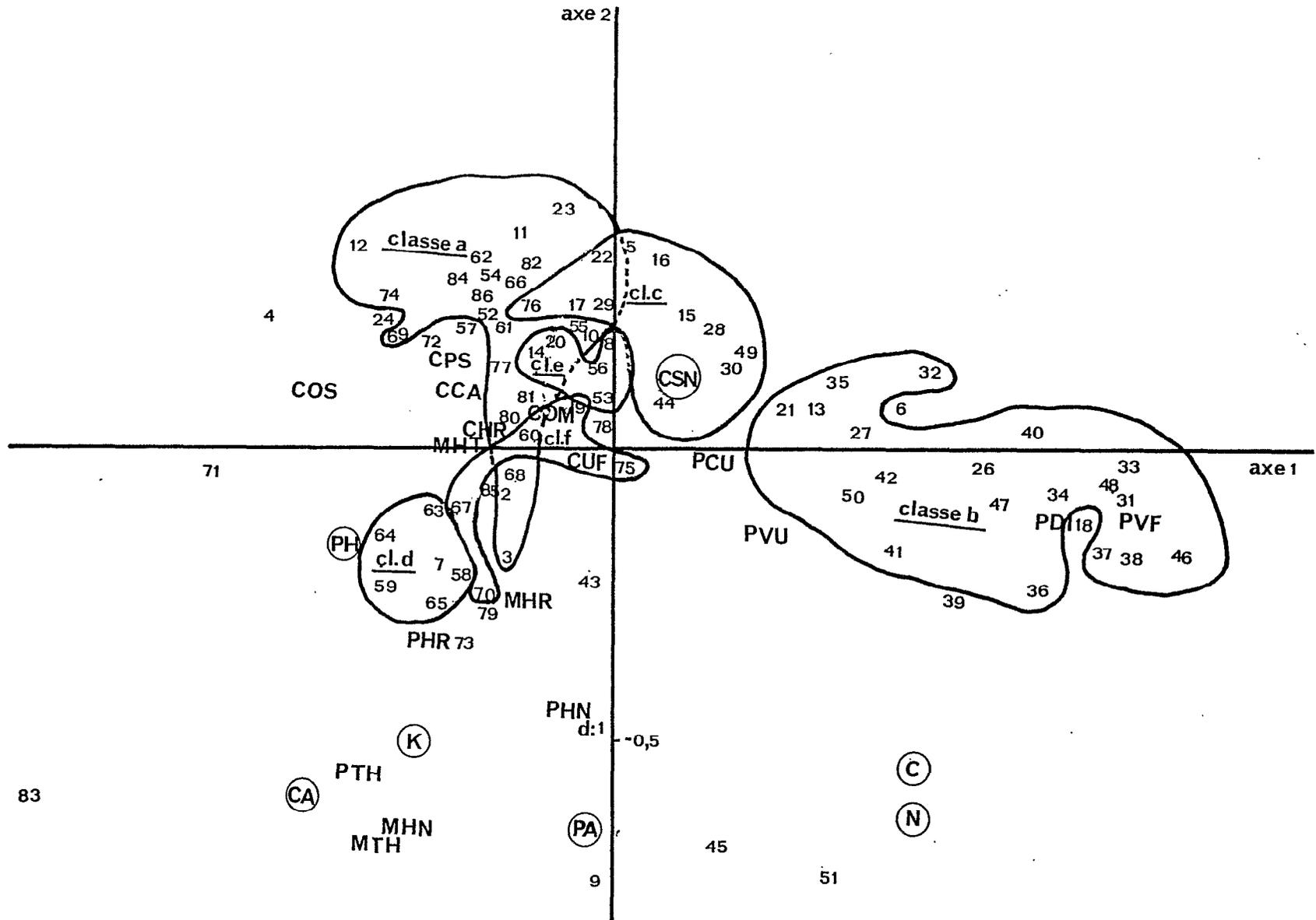


Figure 1-6: Ecologie des cyanobactéries en zone soudano-sahélienne; analyse en composantes principales. Représentation des corrélations privilégiées entre stations et variables dans le plan des composantes 1 et 2. Six classes de stations sont définies au § 3.2.2.

téries hétérocystées (PHN, MHN, MTH, MHT) mais aussi par la faible proportion de formes homocystées (1,2%). A l'opposé la station 4, rizière au stade 2 feuilles du Sénégal-Oriental est définie par ses biomasses importantes de Pseudanabaena spp. et de cyanobactéries hétérocystées ramifiées.

La rizière de Yaféra (N°83) de par son pH élevé (8) et ses concentrations en potassium (2,15 me % g de sol) et calcium (34 me % g de sol) est un cas limite de la prolifération des cyanobactéries hétérocystées dont on a identifié 10 espèces, contre 6 espèces d'homocystées et aucune algue eucaryote.

3.2.3. Conclusions

Sur un échantillonnage exhaustif des biotopes de la zone tropicale sèche représentés au Sénégal, nous avons effectué par l'intermédiaire de la méthode des suspensions-dilutions, l'estimation qualitative et quantitative des populations algales. Ces populations sont séparées en 12 groupes identifiés par leur morphologie et leur capacité à pousser sur un milieu sans azote. Ils sont décrits par leur nombre d'unités de comptage par cm^2 , leur biomasse absolue, leur biomasse relative, le nombre d'espèces homocystées et hétérocystées observées. Tous ces éléments, associés aux variables physico-chimiques du milieu, ont fait l'objet d'une analyse en composantes principales qui a permis de dégager les points suivants :

- Le pourcentage de variance expliqué par les axes 1 et 2 est assez faible (47%); il permet de dégager les informations essentielles, nous nous sommes référés aux données de base et aux matrices des corrélations pour leur confirmation.
- L'importance d'un groupe algal dans la population totale d'un biotope est justifiée principalement par sa biomasse relative. L'introduction des biomasses absolues permet de quantifier l'importance des algues: la biomasse algale totale atteint un maximum de $11,9 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ sur une station (81); elle se situe en général entre 0,1 et une $\text{t} \cdot \text{ha}^{-1}$ avec une valeur moyenne sur l'ensemble des prélèvements de $709 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. La biomasse des formes fixatrices d'azote atteint $2,7 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ (station 83) mais 37 stations ont des valeurs inférieures à $70 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, la valeur moyenne est de $86 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Treize espèces de cyanobactéries hétérocystées et 8 espèces d'homocystées ont été rencontrées au maximum sur une station; la moyenne est respectivement de cinq et trois espèces. Bien que moins nombreuses, les souches homocystées

représentent une biomasse plus importante que celle des souches hétérocystées, leur valeur moyenne est de $370 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$.

- Quatre groupes d'algues sont distingués: les algues eucaryotes, les cyanobactéries hétérocystées, les cyanobactéries homocystées et les cyanobactéries unicellulaires.
- Les variables physico-chimiques ont des influences très diverses sur les populations algales. Les relations principales sont regroupées (Tableau 1-6) en fonction des groupes algaux définis ci-dessus, il est alors aisé d'établir des règles de prolifération optima à partir de ces variables:

- . Les algues eucaryotes constituent la partie la plus importante de la biomasse sur des sols limoneux, à faible pH, riches en carbone, en azote, en sodium et en soufre.
- . Les cyanobactéries hétérocystées constituent la fraction la plus représentative de la population algale sur les sols sablonneux, à pH élevé, contenant des concentrations de carbone, d'azote, de calcium, de potassium, de phosphore et de fer assez importantes.
- . Les cyanobactéries homocystées se rencontrent sur différents types de sol ayant un pH neutre à alcalin, pauvres en matière organique, à faible conductivité et à C/N élevé; description correspondant à des biotopes nouvellement colonisés.
- . Les cyanobactéries unicellulaires ont une répartition très ubiquiste; leur importance augmente sur les sols limoneux, à C/N élevé et à forte conductivité.

Les relations entre variables et observations permettent une description des associations algales dans un biotope: sur 21 stations les croûtes algales sont à dominance de cyanobactéries homocystées alors que 7 stations ont des croûtes algales composées principalement de cyanobactéries hétérocystées.

Les rizières en début et milieu de cycle sont caractérisées par des populations importantes de chlorophycées et de diatomées comme nous l'avions montré dans une étude précédente (Roger et Reynaud, 1976).

Des populations algales peu abondantes, composées de cyanobactéries unicellulaires et de formes homocystées, principalement de Pseudanabaena spp. sont signalées sur les sols pauvres des classes "c" et "e". Pour la classe "e" les cyanobactéries hétérocystées ramifiées sont abondantes sur 8 stations qui possèdent des concentrations assez élevées en potassium et magnésium. Toutefois, sur la grande diversité des souches composant ce groupe, l'influence positive du potassium et du magnésium ne peut être considérée que comme une tendance.

Tableau 1-6: Principales relations entre variables physico-chimiques et groupes algaux définies par l'analyse en composante principale; ++: corrélation très positive; +: corrélation positive; 0: absence de corrélation; -: corrélation négative.

Associations algales				
Variables				
physico-chimiques :	groupe 1	groupe 2	groupe 3	groupe 4
pH	-	++	+	0
carbone	++	+	-	0
azote	++	+	-	0
C/N	+	0	+	+
conductivité	0	-	-	+
calcium	0	+	0	0
potassium	0	+	0	0
phosphore	0	+	0	0
sodium	+	0	0	0
fer	0	+	0	0
soufre	+	0	0	0
limon grossier	+	0	+	+
sable grossier	0	+	+	0

3.3. Analyse des correspondances

3.3.1. Modalités de l'analyse

L'analyse en composantes principales a été effectuée à partir de variables quantifiées, elle a mis en évidence des relations positives ou négatives entre ces variables. L'analyse des correspondances va nous permettre: i) de préciser la signification des corrélations nulles: s'agissait-il d'une absence de liaison ou de l'existence d'une liaison non linéaire, ii) d'introduire des données qualitatives représentant des observations in situ dont l'importance a été mise en évidence lors d'études précédentes (Reynaud et Roger, 1978 , Roger et Reynaud, 1979b): le couvert végétal, le stade de culture, l'humidification du sol, la fertilisation.

Pour mener à bien cette analyse, les valeurs de chaque variable sont groupées de façon à obtenir des classes ayant des effectifs en général équivalents mais tenant compte aussi:

- *Des erreurs de mesures*: les variables biologiques (biomasse et nombre de colonies) sont groupées par puissances de dix limitant ainsi les erreurs inhérentes à la méthode d'estimation.
- *Du codage des variables*: la classe 1 pour les variables biologiques: COS, COM, CCA, CPS, CHR, CUF, PDI, PVU, PVF, PCU, PUF, MHR, MNP, représente l'impossibilité d'établir la présence de ces taxons dans l'échantillon; sans que cela signifie, à priori, leur absence. Compte tenu de cet "à priori", et du fait qu'il aurait fallu considérer des espèces et non des taxons, il n'était pas possible de faire une classification binaire: présence-absence.

Les classes intermédiaires tentent de présenter des situations logiques tout en rassemblant des effectifs à peu près semblables : par exemple la biomasse relative de cyanobactéries homocystées (PCL) est divisée en cinq classes, la première correspond à moins de 10% de la biomasse totale, la deuxième, au seuil minimum observé pour la classe "a" des stations: 50% (3.2.2.); comme l'effectif entre 50 et 100% est de: 56, il est divisé en trois classes dont la dernière (au-dessus de 95%) signale une colonisation presque totale du biotope par ce groupe. Les classes sont réduites au nombre minimum, la classe la plus élevée correspond dans certains cas aux valeurs exceptionnelles (C, NA, COS, CCA, MTH, MHT) d'une à quatre observations,

elle sera rejetée de l'analyse qui exclut toutes les classes comprenant moins de 5 observations. Chaque classe correspond à une modalité de réponse à une question: quel est le pH du sol: entre 4 et 5, entre 5 et 6,5 ou au-dessus de 6,5; quel est le type et l'état de la culture sur la station:

7 modalités de réponse dont une, l'arachide (3 stations) est exclue de l'analyse.

Dans cette analyse nous présentons tout d'abord l'ensemble des modalités actives, puis séparément chaque variable qualitative.

3.3.2. Observations générales sur l'analyse des correspondances

Sur 85 observations nous pouvons poser 38 questions correspondant à 149 modalités.

Le pourcentage cumulé des valeurs propres sur les six premiers facteurs est de: 9,1 - 14,6 - 19,5 - 24,1 - 27,9 - 31,3%. Avec ces faibles pourcentages, 29 modalités ont des inerties sur les six premiers facteurs inférieurs à 0,003 et sont exclues de la représentation graphique (Fig. 1-7). Il s'agit des colonies de Calothrix spp. (CC1, CC2, CC3, CC4, CC5), des colonies de Pseudanabaena sp. (CP1, CP2, CP3), de l'état des cultures (EC1, EC5, EC6, EC7) et de modalités appartenant à des questions très diverses: C2, C3, NF2, CV2, CF2, CH2, PS2, K3, MH3, TC3, PA4, CF4, VF4, MT4, BT4, CM4, CA5. Nous ne conservons donc que 120 modalités actives (Fig. 1-7).

L'éparpillement des variables, à première vue assez confus, s'ordonne autour de deux thèmes: i) sur l'axe 1, représenté par les valeurs croissantes du pH et du calcium de la droite vers la gauche, opposées aux classes du carbone et de l'azote; ii) sur une diagonale depuis le haut-droit du graphique jusqu'au bas-gauche, on trouve le long d'un nuage de point les valeurs croissantes des cyanobactéries homocystées. Le léger infléchissement sur la droite correspond au fait que l'on observe très peu d'homocystées entre les pH 4 et 5.

Pratiquement perpendiculaire à cette direction se trouvent les lignes brisées joignant les différentes classes de cyanobactéries hétérocystées ramifiées ou non ramifiées. Les hétérocystées non ramifiées forment des lignes brisées incurvées vers le bas. Leurs extrémités correspondent aux classes extrêmes. Cette courbure, associée aux populations d'homocystées, signifie que ce sera pour les observations où l'on aura les biomasses absolues et relatives d'homocystées les plus élevées que les biomasses absolues et relatives d'hétérocystées seront les plus divergentes: très faibles ou très importantes.

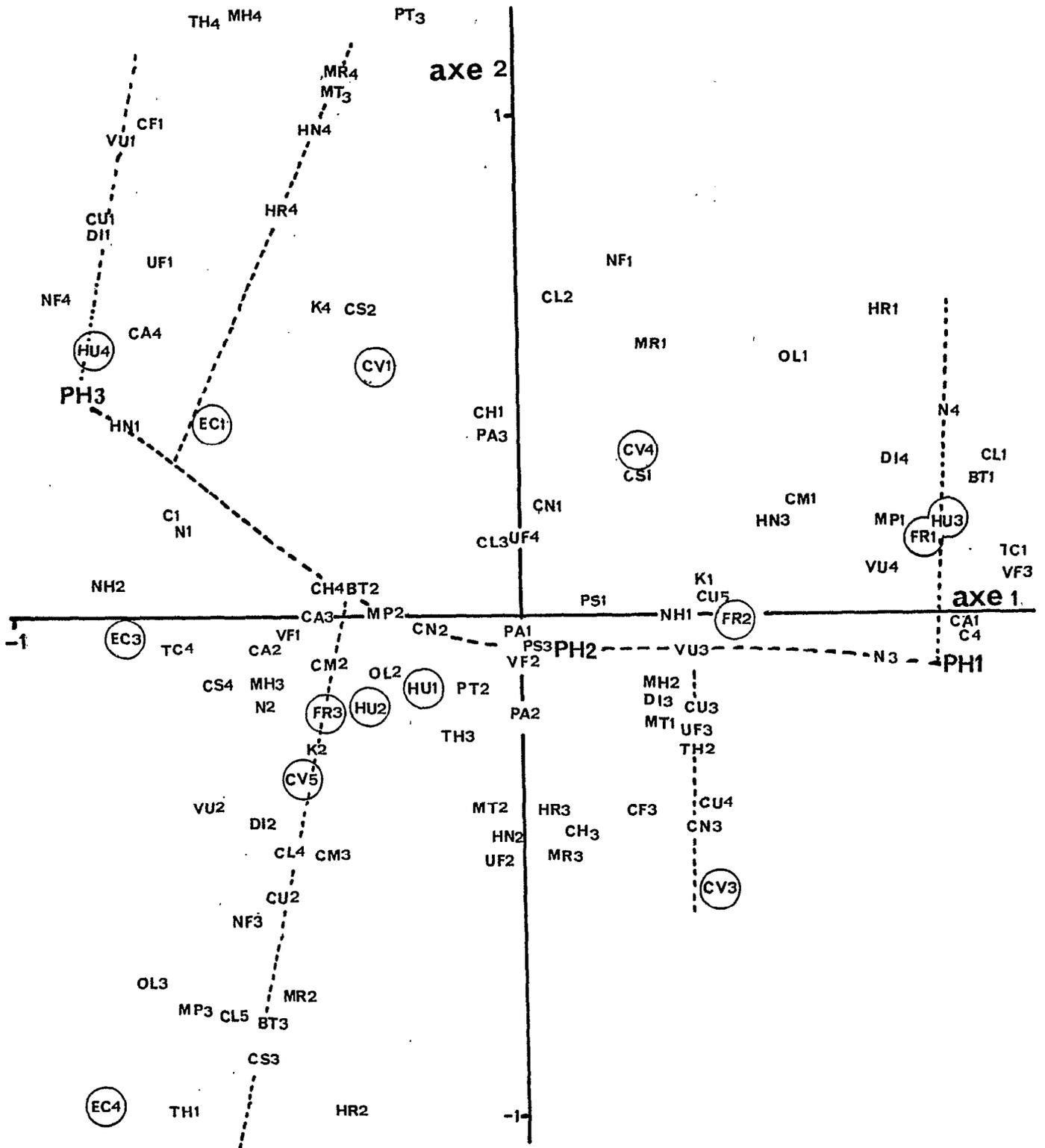


Figure 1-7: Ecologie des cyanobactéries en zone soudano-sahélienne; analyse des correspondances. Représentation dans le système des axes 1 et 2 de l'ensemble des modalités quantitatives et qualitatives (encerclées). La ligne pointillée matérialise le thème "augmentation du pH" de la droite vers la gauche. Les demi-droites pointillées correspondent aux définitions des classes pour les stations.

Les demi-droites pointillées perpendiculaires à l'axe 1 situent les associations que nous avons décrites en paragraphe 3.2.2. soit, de la droite vers la gauche successivement:

- Dans les biotopes submergés, riches en carbone et en azote, pauvres en calcium, au pH entre 4 et 5, nous retrouvons les compositions floristiques caractéristiques de la classe "b": importantes proportions d'eucaryotes, diatomées et chlorophycées unicellulaires ou filamenteuses ne formant toutefois que des biomasses totales inférieures à $10^8 \mu^3 \text{ cm}^{-2}$;
- la composition décrite pour la classe "c" où les cyanobactéries unicellulaires sont prédominantes;
- sur la partie négative de l'axe 2, la classe "e" à prédominance de *Pseudanabaena* spp. pour des pH compris entre 5 et 6,5;
- la classe "a" à forte dominance d'homocystées sur des sols fertilisés;
- la classe "d" composée de croûtes algales à cyanobactéries fixatrices est significative de certains sols secs, à pH supérieur à 6,5;
- enfin une classe de sols très pauvres, sans algues eucaryotes observées, avec de nombreuses souches fixatrices. En fait les deux dernières demi-droites renferment des informations complémentaires qui doivent être rassemblées.

Considérons les groupes algaux définis au paragraphe 3.2.1.1.2. pour l'analyse de la figure 1-7:

Groupe 1, algues eucaryotes: Elles sont disposées inversement aux classes du pH: on note leur absence au dessus de pH 6,5 et leurs très fortes concentrations entre pH 4 et 5. Les relations positives avec carbone et azote sont confirmées, de même que l'absence de relations entre leurs biomasses relatives et les concentrations en potassium et en phosphore. Par contre aux faibles concentrations en calcium (au dessous d'un milliéquivalent pour 100 g de sol sec), les biomasses relatives d'eucaryotes sont les plus fortes, alors qu'au dessus de 18 me% les eucaryotes sont absentes des numérations.

Groupe 2, cyanobactéries hétérocystées: Dans cette analyse on assiste à une dissociation entre ramifiées et non ramifiées: les premiers sont absents aux pH entre 4 et 5 alors que les seconds peuvent être présents en quantités importantes. Les populations d'hétérocystées ramifiées peuvent représenter jusqu'à 10% de la biomasse totale aux pH entre 5 et 6,5 parmi des florules composées principalement d'homocystées. Dans le cas de la classe "d", elles forment jusqu'à 60% de la biomasse totale. La relation avec le potassium est confirmée.

Les classes de cyanobactéries hétérocystées non ramifiées forment une ligne brisée (TH, MH, HN) où les valeurs les plus fortes et les plus faibles, perpendiculaires à la diagonale des homocystées, sont les plus proches. Cette double relation avec les fortes biomasses d'homocystées apparaît pour les stations des classes "a" et "d".

Groupe 3: cyanobactéries homocystées et biomasse totale:

La biomasse totale composée, entre pH 4 et 5, en majorité de formes eucaryotes, est faible; elle augmente parallèlement au pH jusqu'à 6,5 puis elle est corrélée à l'augmentation de la biomasse d'homocystées

Les homocystées sont relativement rares aux pH bas, sur sol submergé. De même en fin de cycle cultural du riz, lorsque le couvert végétal est important, les homocystées de taille moyenne et grande ne représentent alors pas plus de 25% et le total des homocystées 50% de la biomasse totale. Lorsque la concentration en potassium devient supérieure à 0,5me%g et celle en calcium supérieure à 18 me%g, il y a diminution des homocystées. Au dessus de 20 mg de carbone par g de sol sec, les homocystées de grande taille sont absentes.

Groupe 4, cyanobactéries unicellulaires: absentes au dessus de pH 6,5, leur biomasse relative varie entre 0,1 et 29% de la biomasse totale pour les pH compris entre 5 et 6,5. On ne les retrouve que très rarement entre pH 4 et 5. La présence de cyanobactéries unicellulaires fixatrices est liée à des concentrations en P_2O_5 assimilable inférieures à 0,7 me%g.

Les variables qualitatives illustrant cette figure permettent quelques rapprochements:

aux pH entre 4 et 5 les sols sont submergés, la fertilisation est nulle; aux pH entre 5 et 6,5 les sols sont humides ou engorgés, ils ont reçu une fumure; au dessus de 6,5 les sols sont en général des jachères sèches. Pour ces trois associations de variables la composition de la flore algale est caractéristique (Tableau 1-7); elle rappelle respectivement celles des classes "a", "e", "d".

La figure 1-7 met en évidence une corrélation entre biomasse fixatrice absolue et relative (MT, TH) au-dessus de pH 5 et montre aussi l'importance des variables qualitatives sur les fluctuations de cette population. Nous confirmons ici les résultats obtenus lors d'une étude des successions algales dans les parcelles rizicoles (Roger et Reynaud, 1977). Il n'y avait pas de corrélation entre le pH du sol in situ et la biomasse fixatrice; mais en se limitant aux prélèvements en fin de cycle, les variables couvert végétal et stade de développement du riz étant alors homogènes, nous observons une corrélation hautement

pH	4-5	5-6,5	+ de 6,5
sols:	submergés	humides à engorgés	secs jachère
fertilisation:	-	+	-
Carbone	20-40 mg%		<5 mg%
Azote	1-2 mg%		<0,4 mg%
Calcium	18 <me%		<1 me%
Phosphore		<0,7 me%	
Potassium		<0,5 me%	
Grp 1	++	+	-
Grp 2	±	+	++
Grp 3	±	+	±
Grp 4	±	++	-
Classe a		±	
Classe b	+		
Classe c		±	
Classe d			++
Classe e		+	

Tableau 1-7: Analyse des correspondances, classes de pH et relations caractéristiques avec les variables physico-chimiques et les composantes de la flore algale; ++: présence importante, +: forte présence; ±: présence faible; - : absence.

significative entre biomasse fixatrice relative et pH du sol. Toutefois, il n'y avait pas de corrélation avec la biomasse absolue. Une corrélation significative au seuil de 5% était obtenue entre biomasse fixatrice absolue et pH, seulement en éliminant ensuite de l'analyse la variable fertilisation.

3.3.3. Analyse des correspondances sur les variables qualitatives

Afin de disposer d'un maximum de modalités, nous avons réduit à 59 le nombre d'observations pour 44 questions sauf dans le cas de l'humidification où les 86 stations sont conservées. Chacune des 4 variables qualitatives est comparée séparément à l'ensemble des variables quantitatives et fait l'objet d'un graphique particulier établi sur les deux premiers facteurs. Avec ces données le pourcentage cumulé

des valeurs propres sur les six premiers facteurs est de : 9,4 - 17,3 - 23,9 - 28,9 - 33,6 - 37,8%; valeurs semblables à celles de l'analyse précédente. Compte tenu de la grande inertie observée, les contributions relatives de chaque modalité quantitative sont présentées sur les six premiers facteurs (Tableau 1-8); les commentaires sont établis à partir des liaisons avec les modalités des variables quantitatives sur les deux premiers facteurs et sur les autres facteurs ayant de fortes contributions relatives; par exemple pour CV1 sur les facteurs 1 - 2 - 3; pour EC3 sur les facteurs 1 - 2 et 5.

Contributions relatives

	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	Facteur 4	Facteur 5	Facteur 6
CV1	0,02	0,17	0,20	0,12	0,03	0,02
CV2	0,07	0,00	0,00	0,13	0,01	0,01
CV3	0,02	0,28	0,01	0,02	0,00	0,00
CV4	0,08	0,06	0,03	0,00	0,11	0,02
CV5	0,09	0,01	0,12	0,03	0,00	0,01
FR2	0,11	0,07	0,14	0,23	0,02	0,02
FR3	0,16	0,00	0,00	0,22	0,01	0,00
HU1	0,07	0,04	0,58	0,04	0,00	0,04
HU2	0,24	0,08	0,25	0,21	0,00	0,00
HU3	0,37	0,02	0,01	0,00	0,00	0,03
HU4	0,26	0,10	0,03	0,04	0,06	0,11
EC1	0,33	0,20	0,14	0,00	0,02	0,06
EC3	0,02	0,25	0,04	0,02	0,00	0,22
EC4	0,14	0,01	0,05	0,00	0,11	0,03
EC5	0,11	0,00	0,11	0,03	0,00	0,00
EC6	0,02	0,06	0,02	0,00	0,03	0,00

Tableau 1-8: Contributions relatives (\cos^2) des variables quantitatives sur les 6 premiers facteurs (la somme des \cos^2 sur les 44 facteurs est égale à 1).

3.3.3.1. Influence du couvert végétal sur la composition de la flore algale.

Quel que soit l'habitat, la lumière est le facteur principal du développement des cyanobactéries; suivant le couvert végétal, l'intensité lumineuse incidente peut être trop faible ou trop forte (Reynaud et Roger, 1979). La tolérance aux hautes intensités lumineuses est corrélée grossièrement aux groupes taxonomiques. De nombreuses algues vertes sont adaptées aux hautes intensités lumineuses, les diatomées et les chrysophycées sont indifférentes et les cyanobactéries sont en général sensibles aux fortes intensités lumineuses (Whitford, 1960); cette sensibilité pouvant aller jusqu'au "bleaching" des cellules (Roger et Reynaud, 1977c). L'effet des hautes intensités lumineuses est mis en évidence dans les rizières du Sénégal (Roger et Reynaud, 1977a): diatomées et algues vertes unicellulaires se développent au début du cycle cultural, ensuite, les cyanobactéries se développent lorsque le couvert végétal est suffisamment dense pour les protéger des hautes intensités lumineuses atteignant 80 klux à 13 h. L'ombrage peut être de 95% sur du riz repiqué depuis deux mois (Kurasawa, 1956). La lumière a un effet sélectif sur l'évolution de la composition de la flore algale d'un biotope.

Nous avons choisi cinq modalités de réponses pour le couvert végétal en ayant noté pour chaque station un indice prenant comme référence les stades de développement du riz. Quelques rizières peu productives sont classées comme correspondant à la modalité "couvert végétal faible (CV2)" alors qu'elles sont au stade montaison.

- CV1 : couvert végétal absent sur sol non cultivé (dunes); 10 observations.
- CV2 : couvert végétal faible stade riz deux feuilles; 18 observations.
- CV3 : couvert végétal moyen, filtrant environ 50% de l'intensité lumineuse, type tallage-montaison-épiaison; 11 observations.
- CV4 : couvert végétal dense, filtrant 95% de l'intensité lumineuse, type épiaison-maturation; 10 observations.
- CV5 : couvert végétal absent, après la récolte du riz; 10 observations.

Les contributions relatives sur les 6 premiers facteurs sont très faibles; nous analysons seulement la position des modalités par rapport aux axes 1 et 2 (Fig. 1-8).

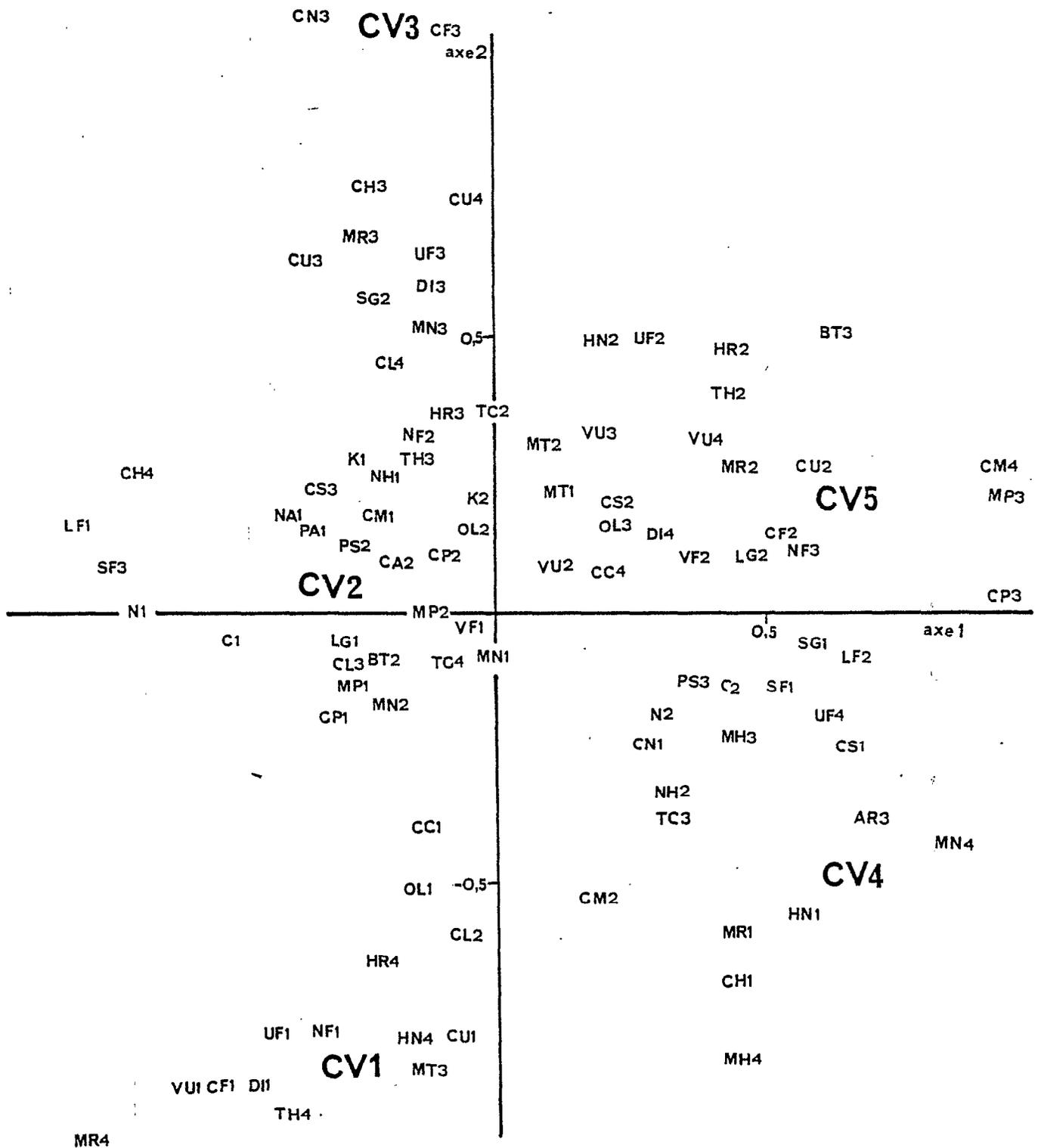


Figure 1-8: Analyse des correspondances: représentation dans le système des axes 1 et 2 des modalités du couvert végétal (caractères gras) et des variables quantitatives définissant les stations.

Il n'y a pas une solution de continuité dans l'évolution de la flore algale lors du cycle du riz mais une opposition entre le milieu (CV3) et la fin du cycle (CV4). L'opposition est aussi bien marquée entre couvert végétal absent sur sol non cultivé (CV1) et sur rizière après la récolte (CV5).

- CV1 : la composition de la flore algale est très caractéristique (Tableau 1-9); c'est celle de la classe "d" où les cyanobactéries hétérocystées, ramifiées ou non, sont prépondérantes et les eucaryotes absentes.
- CV2 : en début de cycle du riz, le couvert végétal rare correspond à une population dont la biomasse est peu élevée, composée en partie de diatomées (DI4), d'algues vertes unicellulaires (VU2, VU3), d'homocystées (OL2, OL3) semblable à celle des stations des classes "b" et "c".
- CV3 : avec un ombrage moyen apparaît une population algale caractérisée par l'importance relative des cyanobactéries unicellulaires fixatrices et non fixatrices (CU3, CU4, UF3, CF3), des cyanobactéries hétérocystées ramifiées (CH3, MR3), des diatomées (DI3). Les cyanobactéries homocystées représentent entre 75 et 95% de la biomasse totale (CL4). Cette population est semblable à celle définie pour la classe "c".
- CV4 : en fin de cycle cultural la configuration de la population algale change totalement par rapport à l'étape précédente. Plus de 1% de la biomasse est constitué de cyanobactéries unicellulaires fixatrices (UF4); les biomasses de cyanobactéries hétérocystées (MH3, MH4) et particulièrement de Nostoc sp. (MN4) sont les plus importantes sous cet ombrage maximum. Par contre il n'y a plus de cyanobactéries hétérocystées ramifiées (MR1), CH1) ni d'Oscillatoria sp. (CS1). Toutefois la biomasse relative des cyanobactéries est comprise entre 95 et 98% de la biomasse totale (TC3). La biomasse relative de cyanobactéries hétérocystées (HN1) est très variable sur un sol à dominance argileuse (AR3) riche en éléments minéraux (PA3, MG3, CA3, NA3, K3, K4) et à C/N faible (CN1) pour des concentrations moyennes en carbone et en azote (C2, N2). Cette formation rappelle celle définie pour la classe "a".

CV5 : les numérations algales effectuées sur un sol cultivé, après la récolte, permettent de mettre en évidence les espèces qui seront à la base d'une nouvelle population lors d'une future culture; nous retrouvons ici quelques caractéristiques de CV2: population importante de diatomées (DI4), d'algues vertes unicellulaires (VU4) et d'homocystées (CM4); la biomasse relative de cyanobactéries hétérocystées (TH2, HR2, HN2) n'est pas supérieure à 5% mais les espèces sont très variées (NF3).

	CV1	CV2	CV3	CV4	CV5
Groupe 1	-	±	±	-	+
Groupe 2	++	+	±	+	+
Groupe 3	-	±	±	++	+
Groupe 4	-	±	++	-	±
Classe a	±	±	±	++	+
Classe b	-	++	-	-	±
Classe c	-	+	++	-	±
Classe d	++	-	-	-	-
Classe e	-	+	-	-	-
Classe f	++	+	+	-	-

Tableau 1-9: Analyse des correspondances; classes de couvert végétal: CV1: absent, sol non cultivé, CV2: rare, CV3: 50% de l'intensité lumineuse, CV4: 95% de l'intensité lumineuse, CV5: absent, après culture, relations avec les groupes algaux et les classes de stations: ++ très étroite; +: évidente; ±: discutable; -: négative.

Le couvert végétal a une influence directe sur la composition de la biomasse algale (Tableau 1-9) puisque chaque type de couvert privilégie l'un ou l'autre des 4 groupes algaux, définis dans l'analyse en composantes principales. Une relation étroite existe entre couvert végétal et composition algale pour les quatre premières modalités. Dans le cas de la composition algale après la récolte (CV5), les variables physico-chimiques, (pH, matière organique, sels minéraux et texture), les étapes précédentes, le niveau d'humidification ont aussi une influence plus ou moins directe.

3.3.3.2. Influence de la fertilisation sur la composition de la flore algale.

L'influence de la fertilisation NPK sur la composition de la flore algale est très différente suivant les quantités employées et le mode d'application.

Nous avons observé au Sénégal sur 30 rizières un effet positif de la fertilisation à la fois sur les valeurs absolues de la biomasse algale totale et de la biomasse de cyanobactéries fixatrices. Elle a cependant un effet négatif sur la biomasse relative de ces dernières (Roger et Reynaud, 1977a) car l'application en surface favorise le développement des formes non fixatrices. Pour prévenir ce développement l'incorporation de super-granules d'urée est fréquemment pratiquée (Roger et al., 1980, Loyer et al., 1982), l'azote n'est alors plus directement assimilable par les cyanobactéries homocystées et les algues eucaryotes; les souches fixatrices ont une biomasse relative plus importante.

Nos informations permettent de classer les observations en trois groupes :

- FR1 : nous ignorons si ces 27 observations ont reçu ou non une fumure, il s'agit principalement de rizières traditionnelles.
- FR2 : aucune fertilisation n'a été apportée; il s'agit de jachères, de mares temporaires, de zones incultes; ce groupe comprend 24 observations.
- FR3 : une fertilisation NPK a été apportée de façon certaine, sans que l'on puisse préciser ni son mode ni son importance: ce groupe rassemble 8 observations obtenues dans les stations agronomiques.

La disposition des trois groupes sur l'axe 1 (Fig. 1-9) montre que le classement des observations correspond à une réalité. Les faibles concentrations en N, P et K sont situées autour de FR2 (N1, PA1, K1) alors que les fortes concentrations sont réparties entre FR1 (N3) et surtout FR3 (N4, PA3, K3, K4).

Comme FR1 correspond à un ensemble d'observations non définies par rapport à la fertilisation, nous étudierons seulement l'effet négatif (FR2) ou positif (FR3) de celle-ci (Tableau 1-10).
FR2 : En l'absence de fertilisation les pH sont en général supérieurs à 6,5. La flore est composée à plus de 95% de cyanobactéries (TC4), comprenant plus de 10% de cyanobactéries hétérocystées ramifiées (HR4) et 0,1 à 5% d'hétérocystées non ramifiées (TH2); 50 à 75% d'homocystées (CL3) et plus de 5% de cyanobactéries unicellulaires (CU5). L'ensemble représente une biomasse totale assez faible, comprise entre 10^8 et $10^9 \mu^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ (BT2).

FR3 : Dans les cas d'une fertilisation NPK, l'analyse des correspondances met en évidence la présence dans la composition algale des plus fortes biomasses relatives et absolues de Pseudanabaena spp. (CP3, MP3, PS3); le développement optimum de ce taxon de cyanobactéries homocystées est étroitement lié à la fertilisation du sol.

Les trois fertiliseurs minéraux: azote, phosphore, potassium, sont considérés ensemble dans cette analyse; elle ne permet pas d'apprécier l'action séparée de chacun d'eux. Les résultats mettent donc en évidence les cas limites.

3.3.3.3. Influence de l'humidification du sol sur la composition de la flore algale.

La croissance des algues est soumise à des périodes intermittentes de dessiccation et de submersion. Au Sénégal la saison sèche est d'au moins huit mois, les spores des cyanobactéries hétérocystées constituent plus de 95% de la flore algale à la fin de la période sèche. Sur les sols arides les cyanobactéries sont considérées comme les espèces dominantes (Marathe et Anantani, 1972) et quelquefois comme les seules espèces présentes (Barbey et Couté, 1976, Chapman et Chapman, 1973). Dans les sols submergés comme les rizières, la distribution hétérogène et quelquefois limitée des formes fixatrices n'est pas encore bien expliquée car aucune analyse systématique n'a corrélé la présence ou l'absence de cyanobactéries avec les facteurs environnementaux (Lowendorf, 1980).

Entre les sols secs et les sols submergés on a situé les étapes d'humidification intermédiaires: les sols humides (l'eau apportée est entièrement absorbée), les sols engorgés (la saturation en eau est atteinte). Ces quatre classes sont donc retenues pour l'analyse des correspondances:

HU1 : sols humides, 22 observations;
 HU2 : sols engorgés, 22 observations;
 HU3 : sols submergés, 21 observations;
 HU4 : sols secs, 21 observations.

Les 86 observations sont utilisées pour cette analyse car avec 59 observations la classe HU3, n'ayant plus que 2 éléments, est éliminée.

La disposition des quatre classes sur les axes 1 et 2 (Fig. 1-10) montre tout d'abord que la distinction que nous avons faite entre sols humides (HU1) et sols engorgés (HU2) n'est pas justifiée dans les limites de l'analyse. Les sols secs et les sols submergés (HU3) sont, eux, symétriquement opposés.

HU1 et HU2 : sols humides et engorgés analysés sur les axes 1, 2, 3. Ils sont caractérisés par une grande variété de leur composition algale: - plus de 0,1% de chlorophycées unicellulaires (VU3, VU4)
 - jusqu'à 10% de diatomées (DI2, DI3)
 - 50 à 95% d'homocystées (CL3, CL4) dont 25 à 75% de taille moyenne ou grande (OL2) et 5 à 25% de Pseudanabaena spp. (PS2)
 - 5 à 25% d'hétérocystées (TH3) dont plus de 10% de ramifiées (HR4) pour 6 à 9 taxons différents (NF3).

Cette composition peut être qualifiée de transitoire si on la compare aux informations obtenues pour les deux autres classes; *HU3 : sur les sols submergés* la population de diatomées peut atteindre plus de 10% (DI4), les chlorophycées filamenteuses apparaissent: 1 à 10% (VF3), alors que les cyanobactéries homocystées représentent moins de 10% (CL1), que la biomasse des cyanobactéries correspond à moins de 50% (TC1) et la biomasse totale est à son minimum (BT1); *HU4 : sur les sols secs* l'analyse indique la disparition totale des algues eucaryotes (DI1, VU1); ce résultat négatif implique une très forte représentation de cyanobactéries homocystées (3 à 6 taxons, NH2) et hétérocystées: plus de 10% (HR4).

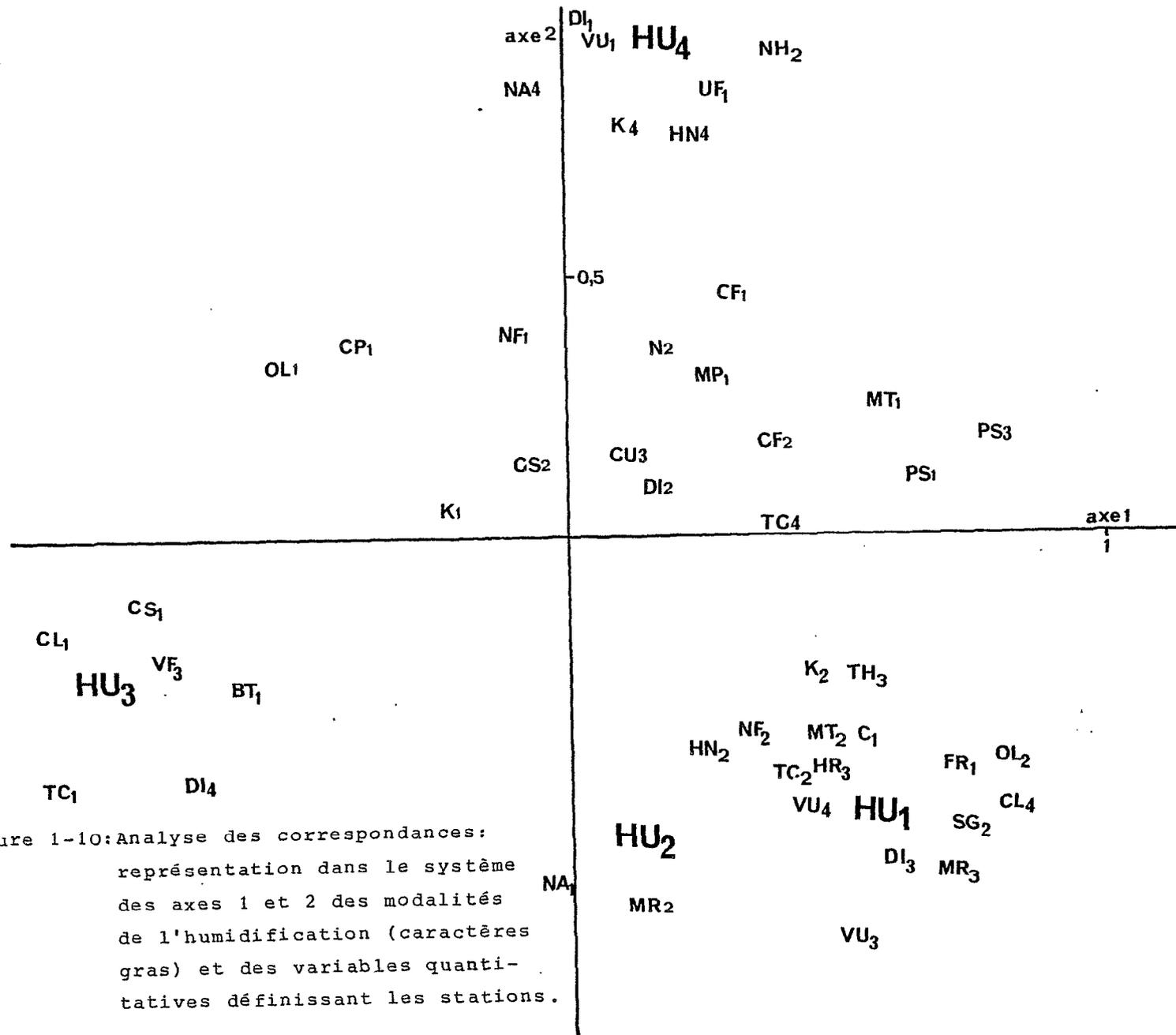


Figure 1-10: Analyse des correspondances: représentation dans le système des axes 1 et 2 des modalités de l'humidification (caractères gras) et des variables quantitatives définissant les stations.

Il y a évolution vers une population composée en majorité d'algues eucaryotes dans le cas d'un sol submergé ou inversement vers une population composée principalement de cyanobactéries pour un sol sec; ceci est mis en évidence dans le Tableau 1-10.

Tableau 1-10. Analyse des correspondances. Influence de la fertilisation ou de l'humidification des sols sur les groupes algaux définis dans l'analyse en composantes principales
 ++ : très positive; +: positive; O: non déterminé;
 -: négative.

	+ NPK	-NPK	sols sec	humide à engorgé	sol submergé
Groupe 1	O	O	-	+	++
Groupe 2	O	+	++	+	-
Groupe 3	++	+	++	+	-
Groupe 4	O	+	-	+	O

3.3.3.4. Influence du biotope sur la composition de la flore algale.

Les paragraphes précédents définissaient les compositions algales en fonction d'un facteur particulier; pH, couvert végétal, fertilisation, humidification. Nous allons déterminer les caractéristiques pour quelques biotopes bien circonscrits: les croûtes algales dunaires, les mares temporaires, les rizières: entre les stades "2 feuilles" et "montaison" et à la maturité avec un couvert végétal faible ou dense.

Cinq classes sont définies à partir de 57 observations :

EC1 : croûtes algales: 16 observations;
 EC6 : mares temporaires: 8 observations;
 EC3 : riz stade 2 feuilles et montaison: 10 observations;
 EC4 : riz à maturité faible couvert végétal: 11 observations;
 EC5 : riz à maturité couvert végétal dense: 6 observations.

L'analyse n'a pu prendre en compte les jachères (EC2) et les plantations d'arachide (EC7) qui n'ont que 3 observations chacune.

Les contributions relatives sur les six premiers facteurs sont très variables (Tableau 1-8), la représentation graphique sur les axes 1 et 2 n'illustre correctement que EC1 (contribution relative de 0,53 sur ces 2 axes); les autres modalités sont commentées en tenant compte:

pour EC3, du facteur 6 : contribution relative de 0,49 pour les trois facteurs;

pour EC4, du facteur 5 : contribution relative de 0,26 pour les trois facteurs;

pour EC5, du facteur 3 : contribution relative de 0,22 pour les trois facteurs;

pour EC6, du facteur 5 : contribution relative de 0,11 pour les trois facteurs.

Sur la figure 1-11, l'axe 1 sépare les biotopes submergés; mares (EC6), riz milieu de cycle (EC3) des biotopes secs (EC1) ou humides (EC4, EC5). L'axe 2 sépare les sols cultivés (rizières) des sols incultes (mares et dunes).

Croûtes algales dunaires (EC1): sur un horizon de surface composé à plus de 30% de sable grossier et de moins de 10% d'argile, le pH est supérieur à 6,5. La méthode des suspensions-dilutions n'a pas mis en évidence de diatomées ni d'algues vertes filamenteuses. Les cyanobactéries hétérocystées représentent plus de 25% de la biomasse total (TH4), soit entre 10^9 et $10^{10} \mu^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ (MT4): plus de 10% de formes hétérocystées ramifiées (HR4) et plus de 1% d'hétérocystées non ramifiées (HN3, HN4). Les homocystées représentent 50 à 75% de la biomasse totale.

Mares temporaires (EC6): les pH sont compris entre 5 et 6,5, les sols de surface contiennent 10 à 30% de sable grossier, peu de calcium (CA1). Le fer libre peut atteindre plus de 3% (FL1, FL3).

Dans ce type de biotope les limites de la composition algale sont les suivantes :

- + de 25 % de Pseudanabaena spp. (PS3);
- de 1 à 10% de diatomées (DI3);
- + de 0,1% d'algues vertes unicellulaires (VU3, VU4);
- 1 à 5 % de cyanobactéries unicellulaires;
- très peu de formes hétérocystées non ramifiées (HN2) représentant entre 10^6 et $10^7 \mu^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ (MH3);
- $5 \cdot 10^5$ à $1,7 \cdot 10^7 \mu^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ de formes hétérocystées ramifiées (MR3).

Rizières au début et au milieu du cycle (EC3) : l'analyse précise les limites suivantes :

- plus de 10% de diatomées (DI4);
- plus de 1% d'algues vertes unicellulaires (VU4);
- de 0,1 à 5% de cyanobactéries unicellulaires (CV2, CV3).

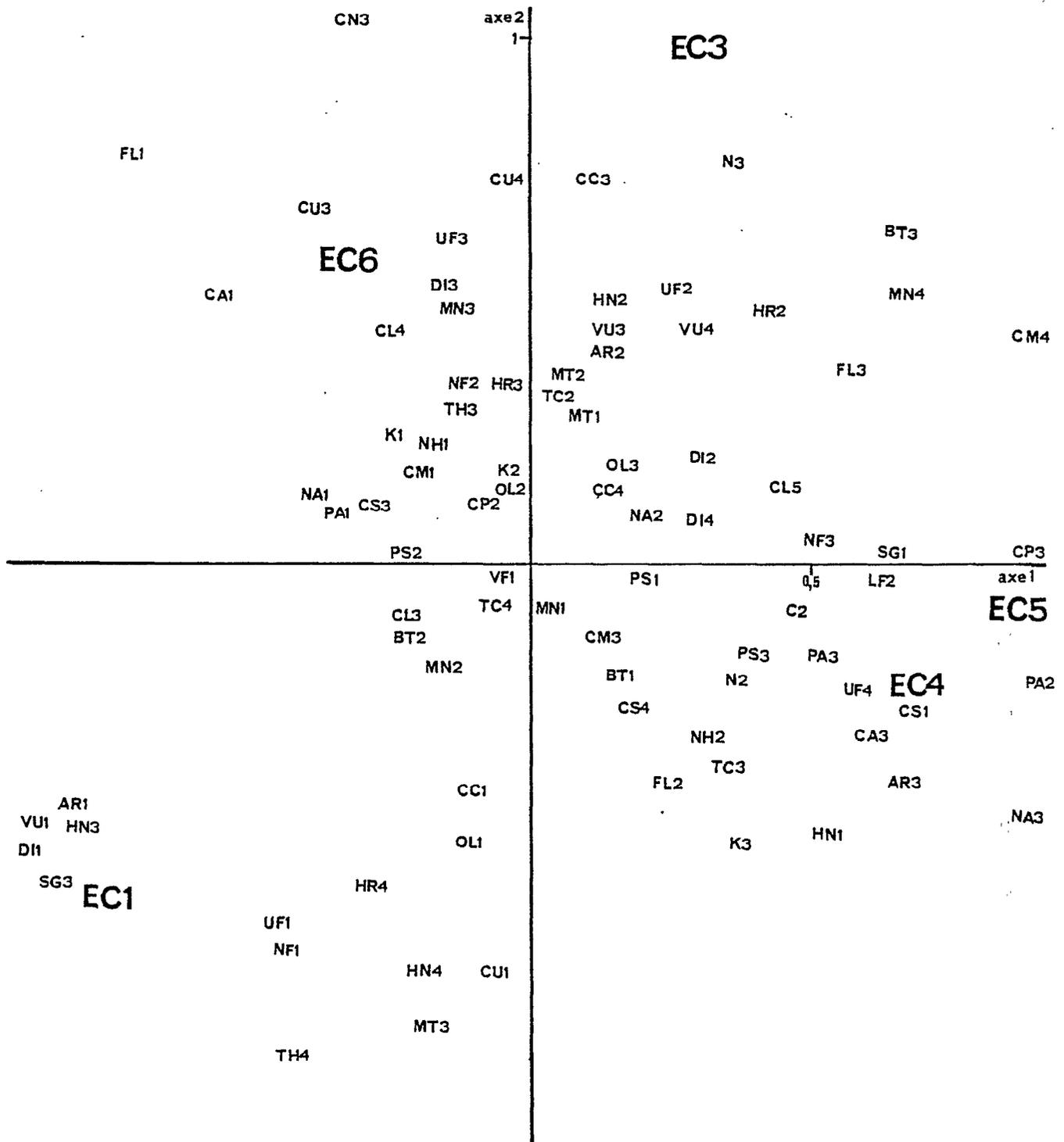


Figure 1-11: Analyse des correspondances: représentation dans le système des axes 1 et 2 des modalités du type de biotope (caractère gras) et des variables quantitatives définissant les stations.

Rizières en fin de cycle, faible couvert végétal (EC4) et rizières avec couvert végétal dense (EC5) sont associées par leurs caractéristiques physico-chimiques: 10 à 30% de limon grossier (LG2), 30 à 60% d'argile (AR3), phosphore assimilable (PA2, PA3), calcium (CA3) et sodium (NA3). Par contre la composition floristique diffère sur les 2 points suivants :

- avec un faible couvert végétal les cyanobactéries unicellulaires représentent moins de 0,1% de la biomasse totale, alors qu'elles représentent plus de 1% lorsque le couvert végétal est dense.
- la biomasse de cyanobactéries hétérocystées non ramifiées ne dépasse pas $10^7 \mu^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ dans le premier cas, alors qu'elle peut être supérieure avec un couvert végétal dense.

3.3.4. Conclusions

A partir de l'analyse des correspondances sur les variables qualitatives et les trois classes de pH, il est possible de reconstituer neuf compositions algales théoriques pour des biotopes types de la zone tropicale sèche (Fig. 1-12). Sept de ces compositions appartiennent au biotope rizière et constituent des instantanés des stades de son évolution.

Les deux autres sont très spécifiques de la zone d'étude puisqu'il s'agit des croûtes algales dunaires, humectées seulement par les rares précipitations, et des mares temporaires rassemblant dans les bas-fonds argileux les eaux de ruissellement pour une durée très limitée, deux à quatre mois.

La représentation de ces compositions est basée sur la séparation des quatre groupes algaux définis en 3.2.1.1.; pour mettre en exergue les cyanobactéries fixatrices hétérocystées, les formes non ramifiées sont séparées des formes ramifiées.

La disposition des schémas de la figure 1-12 correspond à l'évolution de la composition algale de la submersion vers l'assèchement. Les schémas 1, 2, 3: mare temporaire et rizières en début de cycle, sont semblables. On considèrera qu'il s'agit de la *composition algale de base* trouvée sur les sols humidifiés en permanence depuis quatre à sept semaines. Ce délai correspond au temps entre le semis et le tallage du riz. Cette composition présente les quatre groupes algaux avec une dominance marquée des formes non fixatrices eucaryotes (Diatomées et Chlorophycées unicellulaires) et procaryotes (cyanobactéries homocystées et unicellulaires). La population d'hétérocystées est plus importante dans les sols exondés que dans les sols submergés.

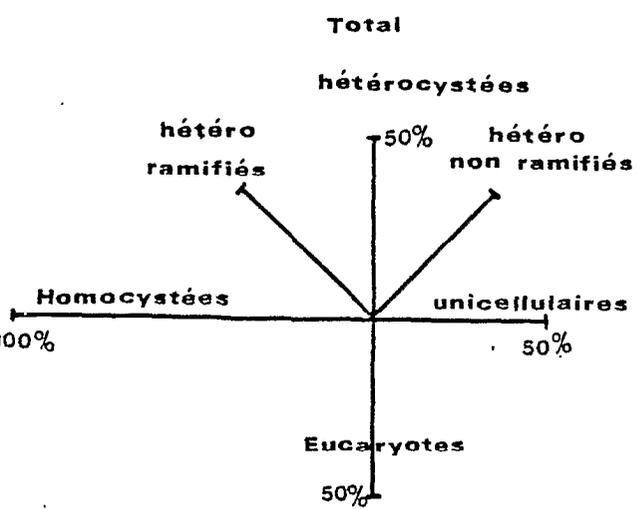
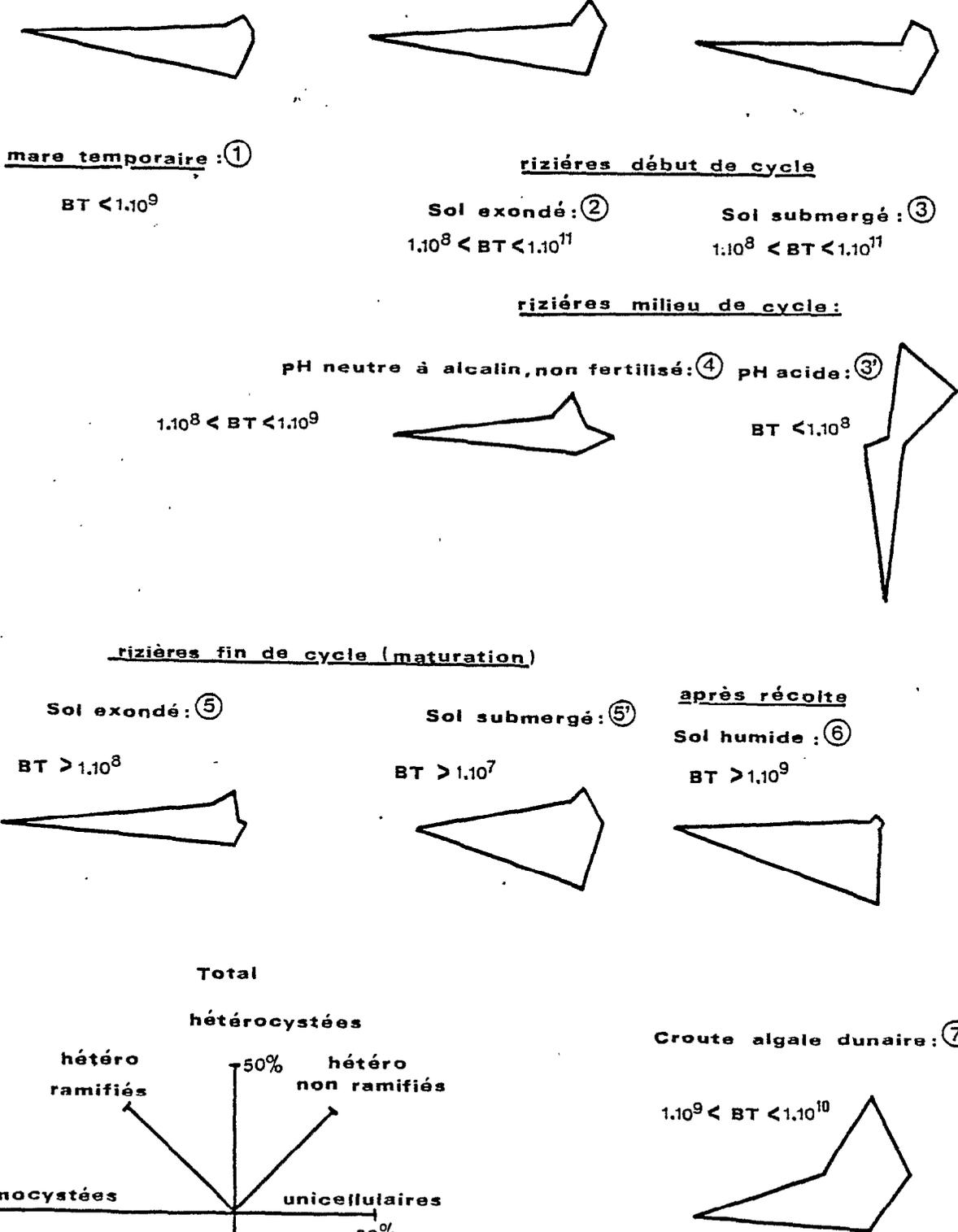


Figure 1-12: Compositions algales théoriques, qualitatives et quantitatives déterminées à partir de l'analyse des correspondances, pour quelques biotopes de la zone tropicale sèche. BT: biomasse algale totale en $\mu^3.cm^{-2}$.

Cette composition de base, au cours du cycle du riz va évoluer. Si le pH de la rizière reste égal ou inférieur à 5, la biomasse algale totale diminue (3'), les formes homocystées disparaissent, favorisant le développement des eucaryotes. Avec la diminution de la biomasse totale, la population de cyanobactéries hétérocystées non ramifiées, quoique stable, a alors une biomasse relative considérable (35%).

Si l'évolution des conditions édaphiques dans la rizière est normale: augmentation du pH sur sol argileux, (quelle que soit la fertilisation) la représentation de la composition algale est virtuellement identique (4). Les chlorophycées filamenteuses et les cyanobactéries homocystées sont dominantes; une population de cyanobactéries unicellulaires fixatrices se développe.

En fin de cycle deux cas sont envisagés dans cette étude: les populations sur sol exondés (5) et sur sol submergé (5'). Les schémas sont semblables à ceux que nous avons distingués en fin de cycle pour deux densités de couvert végétal (Roger et Reynaud, 1977). Avec un couvert végétal dense et sur un sol exondé, les cyanobactéries homocystées et hétérocystées deviennent dominantes.

Avec un couvert végétal faible et/ou sur un sol submergé, le spectre algal évolue vers une augmentation des chlorophycées filamenteuses, des diatomées et des cyanobactéries non fixatrices aux dépens des formes hétérocystées. Cette évolution se poursuit après la récolte du riz, il n'y a plus de couvert végétal et le sol est encore humide (6).

Par contre lorsque le sol s'assèche en surface, la population algale est alors très semblable à celle d'une croûte dunaire (7). Les eucaryotes disparaissent, les cyanobactéries homocystées et hétérocystées représentent toute la biomasse. Cette composition reste stable jusqu'à la prochaine humectation.

L'étude des populations algales permet donc de distinguer 3 états en rapport avec les potentialités de fixation d'azote photosynthétique :

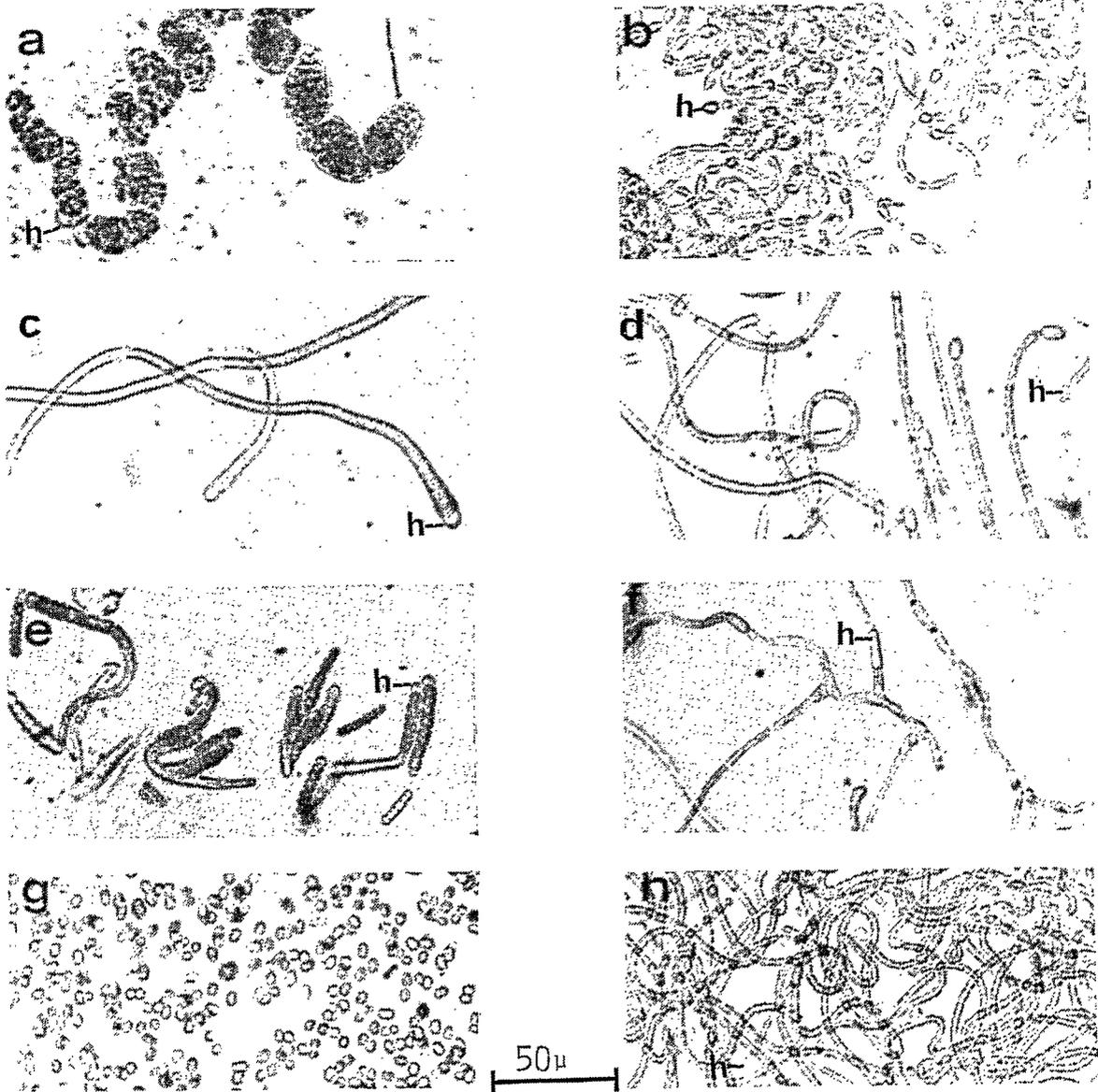
- *un état accumulatif*: sur sol submergé, le nombre d'espèces et la biomasse totale sont élevés; le matériel est disponible en vue d'une sollicitation ultérieure (1, 2, 3) qui pourra être la dessiccation brutale (7) ou une gamme de traitements agricoles (fertilisation, submersion prolongée, enfouissement de pailles) amenant des évolutions différentes. Dans cet état, la fixation d'azote est très faible: les formes fixatrices représentent une part peu importante de la

biomasse totale, car i) le pH en général bas est favorable aux chlorophycées et défavorable aux cyanobactéries (Shapiro, 1973), ii) une intensité lumineuse élevée au niveau du sol (par suite de l'absence de couvert végétal) est aussi favorable aux eucaryotes (Whitford, 1960), iii) la teneur en azote minéral est élevée; elle correspond d'une part au pic de minéralisation de l'azote consécutif à la réhumectation du sol, et d'autre part, dans le cas des sols fertilisés, à un apport d'engrais, iv) la teneur en CO₂ disponible est élevée, elle correspond au pic de minéralisation du carbone consécutif à la réhumectation et favorise les chlorophycées (King, 1970);

- *un état évolutif*: avec une humidification suffisante, les conditions du milieu vont évoluer pour aboutir dans le cas optimum d'une rizière en fin de cycle, à fort couvert végétal, à une dominance des cyanobactéries homocystées et hétérocystées. Cet état permet le développement préférentiel d'une flore fixatrice si l'on tient compte des conditions suivantes; i) le placement en profondeur des engrais azotés (Roger et coll., 1980, Loyer et coll., 1982) qui évite le développement d'une flore non fixatrice, ii) l'effet bénéfique de l'épandage des pailles à la surface du sol (Roger et coll., 1982), iii) le contrôle des prédateurs des cyanobactéries (Dommergues et coll., 1980), iv) une intensité lumineuse incidente non limitante par excès ou par défaut;

- *un état sélectif*: dans la zone tropicale sèche, la dessiccation reste un paramètre constant. Sauf exception des cours d'eau et des lacs, les populations algales, dans les biotopes que nous avons étudiés, y sont soumises chaque année pendant une période plus ou moins longue. Les croûtes formées d'algues résistantes (7) sont principalement composées de cyanobactéries homocystées et hétérocystées. la résistance à la dessiccation, même à l'état quiescent, peut être considérée comme un test sélectif pour l'isolement de souches fixatrices en vue d'une algalisation.

CHAPITRE 2 : FACTEURS BIOTIQUES ET ABIOTIQUES AFFECTANT LE DEVELOP-
 PEMENT ET L'ACTIVITE FIXATRICE D'AZOTE DES CYANOBACTERIES



Cyanobactéries fixatrices d'azote isolées à partir de sols du Sénégal sur du milieu BG11 sans azote minéral. Pour chaque souche filamenteuse un hétérocyste est signalé par "h"; a: *Nostoc punctiforme*; b: *Anabaena* sp.1; c: *Calothrix* sp.; d: *Anabaenopsis* sp.; e: *Calothrix brevissima*; f: *Hapalosiphon* sp.; g: *Gloeocapsa* sp.; h: *Anabaena* sp.2.

1. INTRODUCTION

Les études écologiques entreprises au chapitre 1 permettent de préciser en fonction des variations de certains facteurs, la contribution relative de chaque groupe algal à la composition floristique d'un biotope. Ces résultats corrélés avec les données de la littérature (ROGER et REYNAUD, 1979b, 1982) permettent de classifier et de hiérarchiser les principaux facteurs biotiques et abiotiques affectant la population des cyanobactéries fixatrices dans les rizières (fig. 2-1).

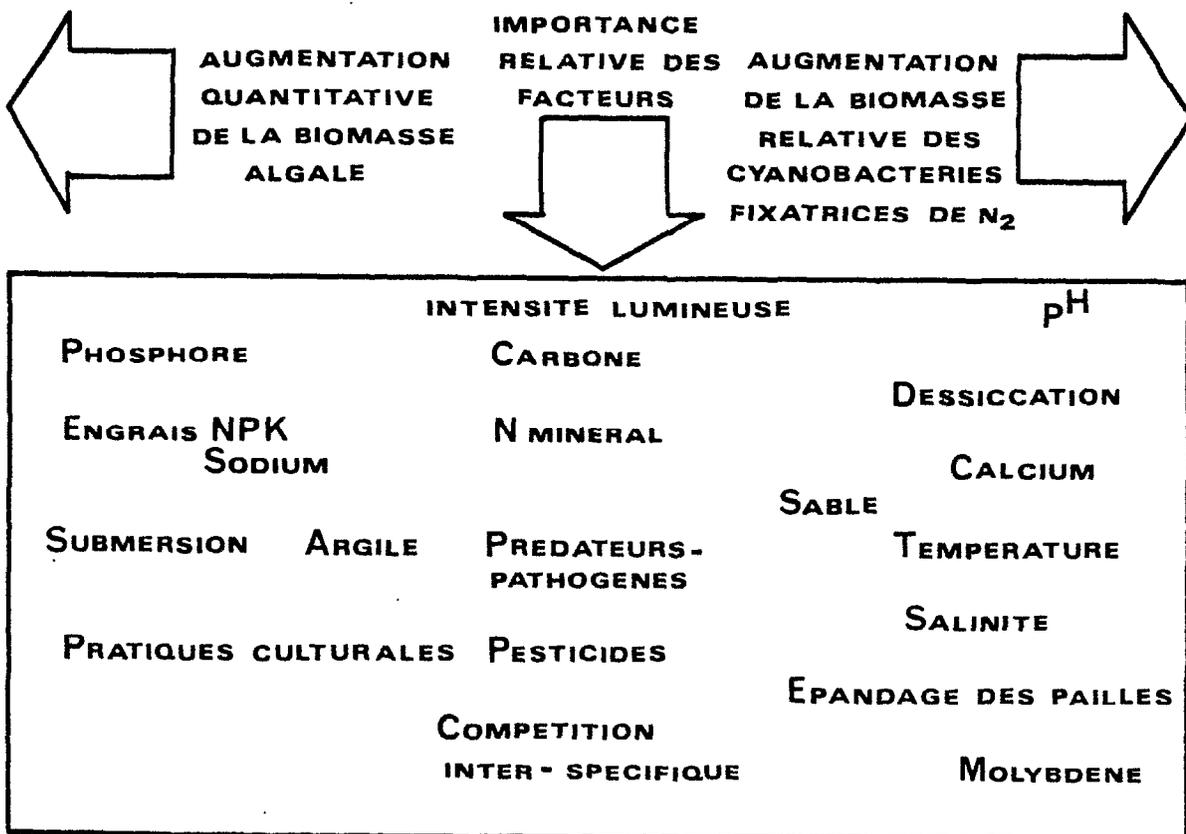


Figure 2-1 : Essai de classification et de hiérarchisation des facteurs principaux affectant les populations de cyanobactéries fixatrices.

Il faut replacer cette population par rapport à la population algale totale ; on distinguera alors i) les facteurs augmentant globalement cette population comme l'apport de phosphore, d'engrais complet, de sodium ou la submersion ;

ii) les facteurs augmentant spécifiquement, la prolifération des formes fixatrices d'azote comme l'augmentation du pH, la dessiccation, la structure sableuse du sol.

iii) les facteurs qui par leurs variations influenceront positivement ou négativement l'évolution qualitative et quantitative de la biomasse fixatrice comme l'intensité lumineuse, l'apport d'azote minéral ou l'activité des prédateurs.

Afin de préciser les limites de ces facteurs sur les populations de cyanobactéries fixatrices de la zone tropicale sèche, l'étude portera sur trois facteurs climatiques caractéristiques : l'intensité lumineuse, la température et la dessiccation, quatre facteurs trophiques : le pH et la concentration en azote, en phosphore et en NaCl, et un facteur biotique particulièrement important dans la région, l'activité prédatrice des ostracodes.

Après une revue bibliographique nous considérerons en règle générale la contribution de ces facteurs sur la composition des populations de cyanobactéries fixatrices in situ puis nous l'étudierons plus spécifiquement sur l'activité fixatrice d'azote, traduite par le dosage de l'activité réductrice d'acétylène (ARA) sur les cyanobactéries isolées.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Souches de cyanobactéries étudiées

2.1.1. Provenance, isolement

Les souches de cyanobactéries tropicales proviennent d'échantillons de sols prélevés sur les stations cf. figure 1.1. . Les souches tempérées sont isolées de sols d'Ecosse (4) ou de Gran Canaria et Teneriffe (Espagne) entre 500 et 2 000 m d'altitude (12 souches).

Toutes les souches sont isolées à partir de colonies prélevées après une série de suspensions-dilutions sur les boîtes de Pétri contenant du milieu BG 11 sans azote -GO- (Allen et Stanier, 1968). Les isolements sont effectués seulement par micromanipulation, suivant la technique préconisée par RIPPKA et coll. (198). Sur cent douze souches fixatrices d'azote isolées, trente et une sont axéniques, leur pureté est vérifiée sur les milieux favorisant le développement des contaminants (ROGER et REYNAUD, 1977b).

2.1.2. Maintenance en collection

Les cyanobactéries fixatrices d'azote sont maintenues en croissance dans des erlenmeyers contenant 100 ml de milieu GO, à la température du laboratoire.

Elles sont exposées à une intensité lumineuse de 500 à 4000 lux et repiquées tous les deux mois.

Compte tenu de l'isolement de nouvelles souches et de la perte de souches axénisées (principalement par contamination bactérienne ou fongique), nous disposons pour les essais physiologiques d'une collection constituée par :

4 Unicellulaires	1 <i>Microchaete</i> sp.
40 <i>Anabaena</i> spp.	3 <i>Nodularia</i> spp.
2 <i>Aulosira</i> spp.	29 <i>Nostoc</i> spp.
18 <i>Calothrix</i> spp.	6 <i>Scytonema</i> spp.
1 <i>Cylindrospermum</i> sp.	3 <i>Tolypothrix</i> spp.
2 <i>Gloeotrichia</i> spp.	2 <i>Westiellopsis</i> spp.
1 <i>Hapalosiphon</i> sp.	

2.2. Mesure de la fixation d'azote in vitro par la méthode de la réduction de l'acétylène (ARA)

2.2.1. Dispositif de mesure

Les cultures de cyanobactéries sont centrifugées en milieu stérile puis le culot, mis en suspension dans du milieu neuf, est homogénéisé au broyeur de Potter. La turbidité, pour une activité fixatrice optimale, doit être comprise entre 80 et 160 unités Klett à 650 nm (Colorimètre Klett-Summerson : Arthur Thomas Company, Philadelphia, U.S.A.). La suspension est répartie à raison de un ml dans les fioles Gravis de 10 ml.

Lors des mesures d'activité à différentes valeurs de pH ou à différentes salinités, les fioles Gravis contiennent un ml du milieu à tester ; quelques gouttes de culture de cyanobactéries très concentrées sont ajoutées pour obtenir une turbidité équivalente.

L'injection d'un ml d'acétylène N₂₅ (soit 1/10 du volume gazeux), dans les fioles Gravis fermées hermétiquement, marque le début de l'incubation. Les fioles sont agitées par un mouvement rectiligne alternatif (75 mvts.mm⁻¹, model 62, New Brunsmick Scientific Co.Inc.) sous un éclairage de 2 000 lux (OSRAM L 40 W). Après 15 et 30 mn, un échantillon gazeux de 0,5 ml est prélevé et dosé à l'aide d'un chromatographe à ionisation de flamme (Varian A 1200 avec colonne de 150x0,3 cm de Porapak F 100-200 mesh). La température du four est 60°C, celle de l'injecteur 105°C, celle du détecteur 180°C. Les débits des gaz sont : 30 ml mn⁻¹ pour N₂ et pour H₂, 300 ml mn⁻¹ pour l'air comprimé.

2.2.2. Calculs

Les hauteurs des pics d'éthylène "e" formé et d'acétylène "a" sont mesurés à 15' et 30'. Le temps de latence est négligeable pour les essais sur culture in vitro (REYNAUD, 1978), la vitesse initiale est constante entre 15' et 30' ; nous considérons la différence entre les deux temps d'incubation $e_{30}-e_{15} = e_1$ la hauteur du pic d'éthylène. L'acétylène sert non seulement de substrat mais aussi d'étalon interne : compte tenu de sa forte concentration et de l'activité réductrice faible des cyanobactéries en 30', la hauteur des pics d'acétylène varie peu. Cependant les erreurs de manipulation : seringues contaminées, injections défectueuses, peuvent faire varier considérablement la concentration d'acétylène sur une mesure. Aussi pour éliminer ces causes d'erreurs ponctuelles la hauteur du pic d'éthylène prise en compte dans les calculs sera déterminée par le rapport $\frac{e_1 \cdot a_m}{a_1} = E_1$ où a_m représente la hauteur moyenne des pics d'acétylène après 30'.

La transformation des hauteurs de pics d'éthylène en nanomoles de $C_2 H_4$ se fait par référence à un étalon de concentration $\frac{10^6}{22400}$ nmoles $C_2 H_4$ ml^{-1} dont on injecte aussi 0,5 ml : h_1

Si l'on considère que l'injection de 0,5 ml d'un mélange gazeux de volume 10 ml renfermant x nmoles de $C_2 H_4$ donne un pic E_1

$$\frac{x}{10} \cdot \frac{10^6}{22400} = \frac{E_1}{h_1} \quad \text{donc} \quad x = \frac{446,4}{h_1} \cdot E_1$$

nos résultats sont donnés en nmole $C_2 H_4$ \cdot mg de protéine $^{-1}$ \cdot mn $^{-1}$ ou par heures.

$$x = \frac{446,4 E_1}{h_1 \cdot t. (\text{protéines})}$$

Chaque mesure est la moyenne des résultats obtenus pour trois fioles Gravis. Pour chaque souche, dans chaque expérience, trois fioles Gravis sont mises à incuber à l'obscurité, après 48 h d'obscurité ; une ARA importante dénonce alors la présence contaminante de bactéries hétérotrophes fixatrices , dans ce cas les essais sur la cyanobactérie sont abandonnés. Lorsque l'ARA est très faible on considère qu'il s'agit d'une activité résiduelle de la cyanobactérie ; cette ARA est retranchée à l'ARA moyenne observée à la lumière.

Le dosage des protéines est effectué pour chaque fiole Gravis à la fin des mesures par la méthode de Folin-Ciocalteu (LOWRY et coll. 1951).

2.3. Principe des courbes enveloppes et des droites limites

Si l'on admet qu'une activité biologique n'est limitée que par un seul facteur à la fois (MONOD, 1942), la courbe d'action d'un facteur donné est constituée par la limite supérieure du nuage de points obtenus en portant sur un graphique toutes les valeurs mesurées de l'activité étudiée, en fonction des valeurs de ce facteur. Les points situés à la partie supérieure du nuage correspondent à une action limitante du facteur étudié, les points situés au-dessous, à celle d'un autre paramètre (BALANDREAU et coll., 1977). La droite limite est une représentation simplifiée de la courbe enveloppe lorsque le facteur considéré a une action positive, ou négative. Les points sont alors répartis dans un secteur du plan limité par l'axe des abscisses et cette droite. L'équation de cette droite permettra de préciser les valeurs limites qui pourront être atteintes par l'activité biologique en fonction des variations du facteur.

Dans ce travail les activités biologiques sont de deux ordres : l'activité réductrice d'acétylène et le développement des cyanobactéries. Ce développement peut être considéré en tant que biomasse absolue ou en tant que biomasse relative pour une espèce ou un groupe algal.

2.4. Méthodes de dosage particulières aux croûtes algales

Dosage de la chlorophylle a

Chaque croûte est disposée à plat dans trois flacons sérum de 500 ml, humectée au début de l'expérience avec du milieu -GO-, maintenue à saturation et exposée à 1,5 klux à 30°C. Sept prélèvements d'un cm² sont effectués en 21 jours. Le sol est dilué dans 10 ml d'eau déminéralisée, 1 ml de cette suspension homogène est déposé dans 9 ml de méthanol. Après 24 h à 4°C, le mélange est centrifugé et la chlorophylle a dosée dans le surnageant par la méthode de TALLING et DRIVER (1963). Les résultats présentés sont la moyenne de trois répétitions.

Mesure de l'ARA : elles sont effectuées directement dans les flacons sérum bouchés où l'on injecte 50 ml d'acétylène. Les prélèvements pour le dosage de l'éthylène formé ont lieu après 30 et 60 minutes d'incubation.

Les ARA présentées sont les différences entre les moyennes des mesures dans les flacons exposés à la lumière et dans trois autres flacons conservés humides à l'obscurité. En fait après 9 jours il n'y a plus d'ARA à l'obscurité.

Estimation de l'humidité relative des sols : environ 5 g de croûtes sont pesés (P_1) puis séchés trois jours à 80° et pesés à nouveau (P_2), l'humidité relative est calculée par la formule : $hr \% = \frac{P_1 - P_2}{P_1} \cdot 100$

La méthode colorimétrique de Kjeldahl a permis le dosage de l'azote total.

2.5. Evaluation des biomasses d'ostracodes

Sur chaque parcelle lysimétrique de 1 m², dix prélèvements comprenant le premier centimètre de sol et l'eau de submersion sont effectués au hasard. L'ensemble, représentant 53 cm², est mis en suspension dans 400 ml d'eau déminéralisée, puis filtré sur un tamis métallique aux mailles de 0,1 mm de côté. Le contenu du tamis est déposé dans une boîte de Pétri et séché à 50° pour tuer les ostracodes et faciliter leur comptage au microscope stéréoscopique WILD x 6. Les ostracodes sont classés en quatre catégories correspondant à des volumes moyens de 0,075 mm³, 0,6 mm³, 0,83 mm³ et 3,4 mm³. La somme des volumes des quatre catégories est rapportée en g. m⁻² en considérant leur densité égale à 1.

3. RESULTATS

3.1. Action de l'intensité lumineuse

3.1.1. Sur les populations algales

L'intensité lumineuse maximale mesurée dans la région est de l'ordre de 80 klux. En fin de cycle cultural du riz, sous un ombrage dense, elle n'atteint plus que 4 klux, intensité semblable à celle utilisée pour le développement et les mesures d'ARA au laboratoire (environ 70 micro-Einstein par m² par seconde). Lors d'une étude sur la biomasse algale des rizières du Sénégal (ROGER et REYNAUD, 1977 a), nous recherchions les corrélations pouvant exister entre l'indice du couvert végétal et les différents composants de la flore algale. Cet indice (chap. 1. : 2.1.2.) est une approximation sommaire de l'intensité lumineuse atteignant les cyanobactéries.

Les seuls résultats significatifs concernent la biomasse fixatrice absolue et relative : r_s critique = 0,30, r_s calculés respectifs : 0,78 et 0,62. Cette corrélation significative est expliquée pro-parte en considérant

que les cyanobactéries fixatrices ne peuvent devenir concurrentielles par rapport au reste de la flore que dans un milieu appauvri en azote minéral et que cet appauvrissement est consécutif à l'augmentation du couvert végétal.

Toutefois le facteur "azote minéral" n'est pas seul en cause. En remplaçant le couvert végétal naturel par une série d'écrans laissant passer 100 %, 60 %, 22 % et 7 % de l'intensité lumineuse, nous observons après 30 jours, sur des sols non cultivés et submergés, les plus fortes croissances de cyanobactéries et les plus fortes ARA sous le plus fort ombrage (REYNAUD et ROGER, 1978).

Cette influence des fortes intensités lumineuses sur la biomasse absolue et relative des cyanobactéries fixatrices n'est mise en évidence que sur les sols en état accumulatif ou en état évolutif. Lors de l'état sélectif le couvert végétal est absent, mais les cyanobactéries développent des systèmes de protection contre les hautes intensités lumineuses en se stratifiant (REYNAUD et ROGER 1981 b).

3.1.2. Sur l'activité réductrice d'acétylène

Nous avons entrepris l'étude des variations journalières de l'ARA par une culture axénique d'*Anabaena* sp. exposée à l'évolution de l'intensité lumineuse d'une journée dans un bain thermostaté à 28°C (figure 2.2) pour ne pas retenir d'effet inhibiteur du à la température.

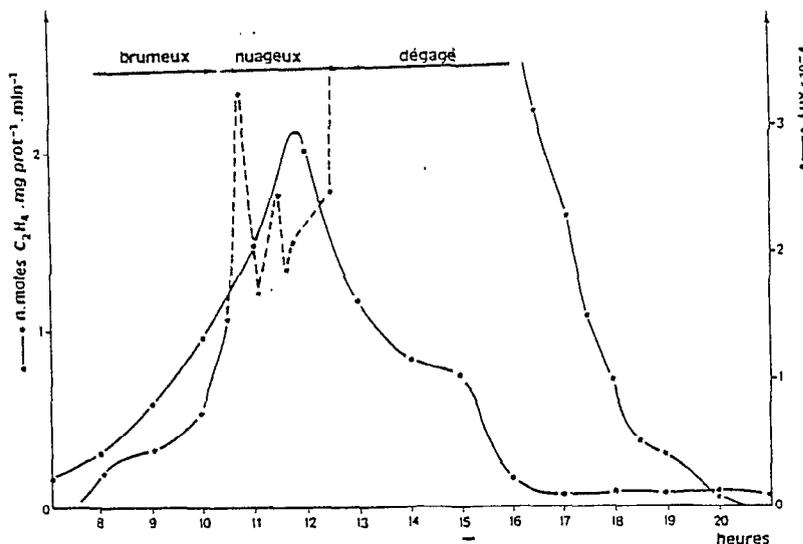


Figure 2. : Cycle journalier de l'activité réductrice d'acétylène (nmoles de C_2H_4 $mg\ prot^{-1} . mn^{-1}$) dans une culture axénique d'*Anabaena* sp. en fonction de l'intensité lumineuse (lux) : $\star \rightarrow \star$, les résultats sont la moyenne de 3 mesures (REYNAUD et ROGER, 1979).

L'ARA diminue à partir d'une intensité lumineuse d'environ 20 klux et s'annule après 3 h 30 d'exposition à des intensités supérieures à 50 klux. On observe alors une décoloration de la culture consécutive à une photooxydation des pigments (ABELIOVICH et SHILO, 1972).

A partir de mesures d'ARA effectuées sur un biotope submergé de bas de dune (REYNAUD et ROGER, 1981), nous avons pu établir une courbe enveloppe (fig. 2-3).

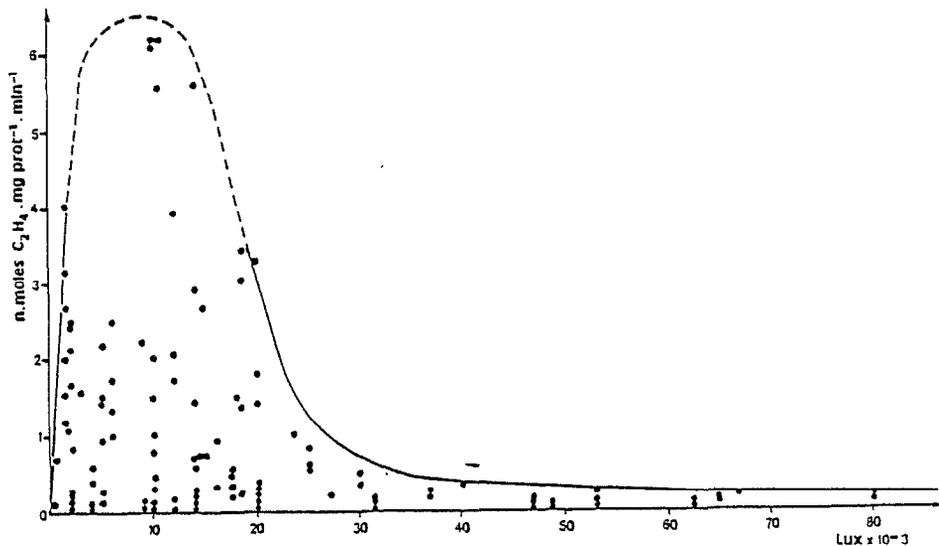


Figure 2-3 : Valeurs de l'activité réductrice d'acétylène en fonction de l'intensité lumineuse incidente, établies lors de l'étude d'un biotope submergé. Chaque point est la moyenne de 4 mesures (REYNAUD et ROGER, 1979).

La configuration du nuage de points fait nettement ressortir une action inhibitrice des intensités lumineuses supérieures à 25 klux.

Ces résultats confirment l'effet inhibiteur des hautes intensités lumineuses sur les cyanobactéries fixatrices de N_2 . Ils établissent qu'en l'absence de mécanismes protecteurs, l'intensité lumineuse optimale *in situ* est de l'ordre de quelques milliers de lux. Nous sommes conduits à classer les cyanobactéries fixatrices parmi les organismes sciaphiles.

3.2. Influence des variations de températures sur l'ARA des cyanobactéries

La température optimale pour la croissance des cyanobactéries se situe autour de 30-35°C, nettement plus élevée que pour les algues eucaryotes (Sorokin, 1959). Dans les sols submergés les variations journalières de températures sont modérées par l'effet tampon de la masse d'eau. Ainsi, ce n'est que rarement un facteur limitant dans les rizières. Cependant, SUBRAMMANYAN

et coll. (1965) observent en pots et en rizières, un ralentissement marqué de la croissance des cyanobactéries pendant la saison froide indienne, favorisant alors la croissance des algues eucaryotes. Dans la zone sahélienne nous avons aussi noté (ROGER et REYNAUD, 1976) que de basses températures (17-22°C) peuvent provoquer un effet similaire.

Les températures élevées rencontrées à la surface des sols tropicaux secs ont une action sélective sur la flore algale. Des cyanobactéries comme *Mastigocladus laminosus* poussent abondamment à 60°C (CASTENHOLTZ, 1969) ; rappelons que les spores de *Nostoc* sp. sont encore viables après 2 mn à 100°C et les spores humides après 20 mn à 70°C (CHAPMAN et CHAPMAN, 1973). La résistance aux hautes températures augmente avec la dessiccation (GLADE, 1914).

Une adaptation des cyanobactéries aux variations de température est mise en évidence dans l'Antarctique (GRANHALL, 1975) et plus généralement par STEWART (1978), pour qui les variations de l'ARA en fonction de la température sont en corrélation avec la température moyenne du milieu où les souches sont prélevées.

Lorsque l'humidité n'est pas un facteur limitant, l'ARA des cyanobactéries est indépendante de la température (RENAUT et coll., 1975, ISICHEI, 1980). JONES (1977) signale un effet inhibiteur des hautes températures sur l'ARA.

En zone tropicale les variations journalières de température sont relativement faibles (20°C) et les moyennes annuelles ont une variation bien moins importante que dans les régions tempérées. Nous étudierons les variations de l'ARA en fonction de la température sur 45 souches "tropicales" et la comparaison de leurs caractéristiques avec celles de 16 souches "tempérées".

3.2.1. Caractéristiques de l'ARA pour les souches tropicales

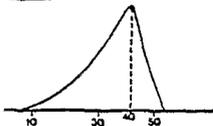
Les températures augmentent de 5° en 5°C toutes les trois heures, soit de 5 à 70°C pour une intensité lumineuse constante de 2 klux.

Les courbes d'ARA sont caractérisées par deux paramètres :

- le Q_{10} optimum : rapport entre l'ARA mesurée à l'optimum thermique et l'ARA mesurée 10° au dessous : plus le Q_{10} optimum est faible plus la gamme de températures où la souche considérée présente une ARA optimale est étendue.

- le Q_{10} maximum : rapport maximum obtenu entre deux mesures d'ARA séparées de 10°C ; un Q_{10} maximum élevé (8-13) signifie une réponse rapide à une faible variation de température.

Type 3

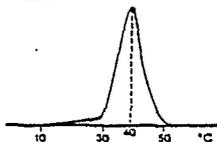


Type 3 : représenté pour 6 *Anabaena*, 4 *Calothrix*, une *Scytonema*

Q_{10} optimum : 2,9

Q_{10} maximum : 3,5, température optima 40°C, dissymétrie de l'ARA

Type 4



Type 4 : représenté pour 6 *Nostoc*

Q_{10} optimum : 13

Q_{10} maximum : 13

Température optima : 40°C.

Une activité correspondant à la moitié de l'ARA maxima est rencontrée jusqu'à 16°C (3 souches) et jusqu'à 53°C (5 souches). Une souche de *Nostoc* manifeste encore une activité à 60°C et 7 souches diverses à 8°C.

Dans les rizières les températures sont assez stables et rarement supérieures à 35°C (type 1 et 2). Sur les sols nus la température est plus élevée mais l'activité fixatrice ne peut avoir lieu qu'en présence d'eau, les sols humides ayant rarement des températures supérieures à 40°C (type 1,3,4). Les quatre types de réponses recouvrent toutes les variations de température en zone tropicale sèche.

3.2.2. ARA des cyanobactéries tropicales ou tempérées en fonction de la température

Les courbes théoriques de l'ARA en fonction de la température, obtenues en intégrant les observations de 45 souches tropicales et 16 souches tempérées (figure 2-5), mettent en évidence les points suivants :

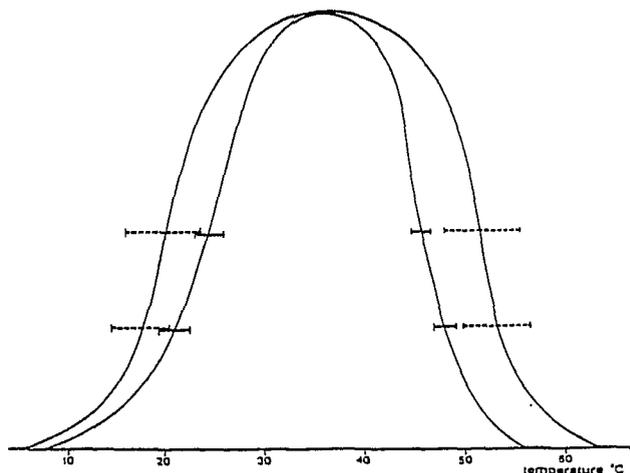


Figure 2-5 : Courbes théoriques de l'ARA en fonction de la température, définies à partir de 16 cyanobactéries isolées de biotopes tempérés (tracé extérieur) et de 45 cyanobactéries isolées de biotopes tropicaux (tracé intérieur).

- Toutes les souches présentent une activité optima entre 35 et 44°C mais le Q_{10} optimum est de 2,66 pour les souches tropicales et de 1,95 pour les souches tempérées.

- Le Q_{10} maximum moyen est de 4,9, alors que FOGG et STEWART (1968) atteignent 6 pour des souches provenant de l'Antarctique.

- Les températures correspondant à la moitié de l'activité optima sont de $21 \pm 4,6^\circ\text{C}$ et $50,3 \pm 4,7^\circ\text{C}$ pour les souches tempérées et de $27,1 \pm 1,6^\circ\text{C}$ et $44,9 \pm 0,97^\circ\text{C}$ pour les souches tropicales.

Les souches de cyanobactéries fixatrices d'azote provenant de la zone tempérée sont adaptées à de plus larges variations de température que les souches provenant de biotopes tropicaux.

3.3. Action de la réhumectation sur la composition et l'ARA des croûtes algales

Comme l'ont signalé BARBEY et COUTE (1976), DAVEAU (1965), ISICHEI (1980), de nombreux sols de la zone tropicale sèche sont recouverts d'une croûte algale. Sur le sol sec (moins de 8 % d'humidité) cette croûte est composée presque uniquement de cyanobactéries et, pour plus de 10 %, de souches fixatrices d'azote (chap. 1 : 3.3.3.3.). Les filaments exposés directement à la lumière sont totalement décolorés et desséchés. Ils forment un film protecteur pour les filaments disposés au dessous. Ces derniers, grâce à l'épaisse gaine mucilagineuse qu'ils produisent dans ces conditions, amalgament des particules de sable. Leur survie peut être très longue, TRAINOR (1970) a noté après dix ans de dessiccation la survie de la moitié des espèces dans ses échantillons. La présence de cet encroûtement joue un rôle important pour le bilan hydrique en diminuant la perméabilité du sol, de 17,5 fois pour des croûtes à *Scytonema* sp. dans la région de Fête Olé, stations 60-64 (CORNET, 1981) mais en conservant une humidité relative inférieure : 8 à 9 % h.r. sous les croûtes et 1,3 % sans croûtes pour le même sol (BOOTH, 1941). D'autre part l'encroûtement limite le développement de la végétation herbacée (DULIEU et coll. 1977), mais en brisant cette croûte à la houe CORNET (1981) recueille 290 kg de matière sèche herbacée par hectare alors qu'elle n'est que de 80 kg m.s. ha⁻¹ pour le sol non encroûté après une saison humide. Les potentialités agronomiques ne sont donc pas négligeables dans les zones semi-désertiques où le pâturage itinérant est presque la seule forme d'utilisation du sol.

Le développement des croûtes après réhumectation dépend du laps de temps de dessiccation et du degré de saturation en eau (RODGERS, 1977). On observe tout d'abord un développement bactérien qui décompose une partie de la croûte algale et permet en retour, grâce aux éléments minéraux libérés, la germination des akinètes puis la restauration de la fixation d'azote (STEWART et coll., 1977). Après environ 10 jours de réhumectation la croissance des algues est visible (DUTTA et VENKATARAMAN, 1960) ; les petites taches vertes sur le sol s'élargissent ensuite rapidement (SHTINA, 1960).

Sur six croûtes algales nous avons observé l'évolution de la composition qualitative et quantitative de la flore et mesuré la fixation d'azote après engorgement (tableau 2-1).

3.3.1. Composition floristique des croûtes algales

Sur les six croûtes algales le pourcentage de la biomasse des formes fixatrices varie entre 0,2 et 8 % de la biomasse algale totale. Après trois semaines d'engorgement le % de la biomasse fixatrice varie entre 0,3 et 98 %. Le nombre d'espèces le plus important est enregistré pour le prélèvement D où la concentration en azote est très forte. Deux souches se retrouvent sur toutes les stations ; il s'agit de *Pseudanabaena* sp. (biomasse relative 0,016-70 %) et de *Nostoc punctiforme* (biomasse relative : 0,3-21 %).

Après 21 jours certaines souches comme *Calothrix brevissima* (E) ou *Hapalosiphon* sp. (F) ont une croissance exceptionnelle.

A partir de l'état sélectif des croûtes algales, le développement de la biomasse algale après réhumectation prend des aspects très différents. La biomasse totale (exprimée ici en μg . chlorophylle a. cm^{-2}) peut diminuer (F) ou augmenter (D), favorisant la croissance de quelques souches non dominantes dans les croûtes (*L. martensiana* -A-, *Phormidium ambiguum* -C-, *Dermocarpa* sp. -D-) ou une augmentation proportionnelle de chaque élément de la biomasse (B,E).

3.3.2. Evolution de la fixation d'azote (ARA)

Les mesures journalières d'ARA sur les six échantillons montrent (fig. 2-6 A) une absence d'activité pendant les cinq premiers jours, puis un niveau assez faible jusqu'au dixième jour ($3-20 \text{ nM C}_2\text{H}_4 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$). Après 10 jours, sauf pour la station D où l'azote minéral inhibe l'ARA, la progression devient géométrique pour atteindre un maximum après 21 jours ($10-110 \text{ nM C}_2\text{H}_4 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$).

Cultures	Humidité du sol %	N ‰	Nombre total de cyanobactéries	Nbre de souches fixatrices d'N ²	Biomasse relative des souches fixatrices %		[Chl _a] µg.cm ⁻²		ARA nMC ₂ H ₄ h ⁻¹ .cm ⁻²	Cyanobactéries dominantes	
					0j	21j	0	21j		à t : 0	à 21 j
(A) Poids ailé (psophocarpus tetragonolobus)	0,65	0,36	7	2	2,0	8,0	190	160	110	Lyngbya sp	L. martensiana
(B) Niébé (vigna unguiculata)	0,64	0,56	10	4	7,3	30	95	160	60	Nostoc punctiforme Pseudanabaena sp.	N. punctiforme Pseudanabaena sp
(C) Maïs (zea)	0,66	0,91	8	3	0,2	12	68	112	20	N. punctiforme Lyngbya sp.	Calothrix brevis. sima Phormidium ambiguum
(D) Bananier (Musa)	11,00	3,05	14	8	0,9	0,3	224	500	0	L. limnetica Calothrix sp.	L. limnetica Dermocarpa sp.
(E) Canne à sucre	8,10	0,50	9	4	2,8	8,1	40	128	10	P. ambiguum	Lyngbya sp.
(F) Patate douce (Ipomea patatas)	11,00	0,43	11	5	1,0	98	240	80	22	Microcoleus brasiensis Calothrix sp.	P. ambiguum Hapalosiphon sp.

Tableau 2-1 : Constitution de six croûtes algales prélevées sous cultures et évolution après 21 jours de réhumectation continu.

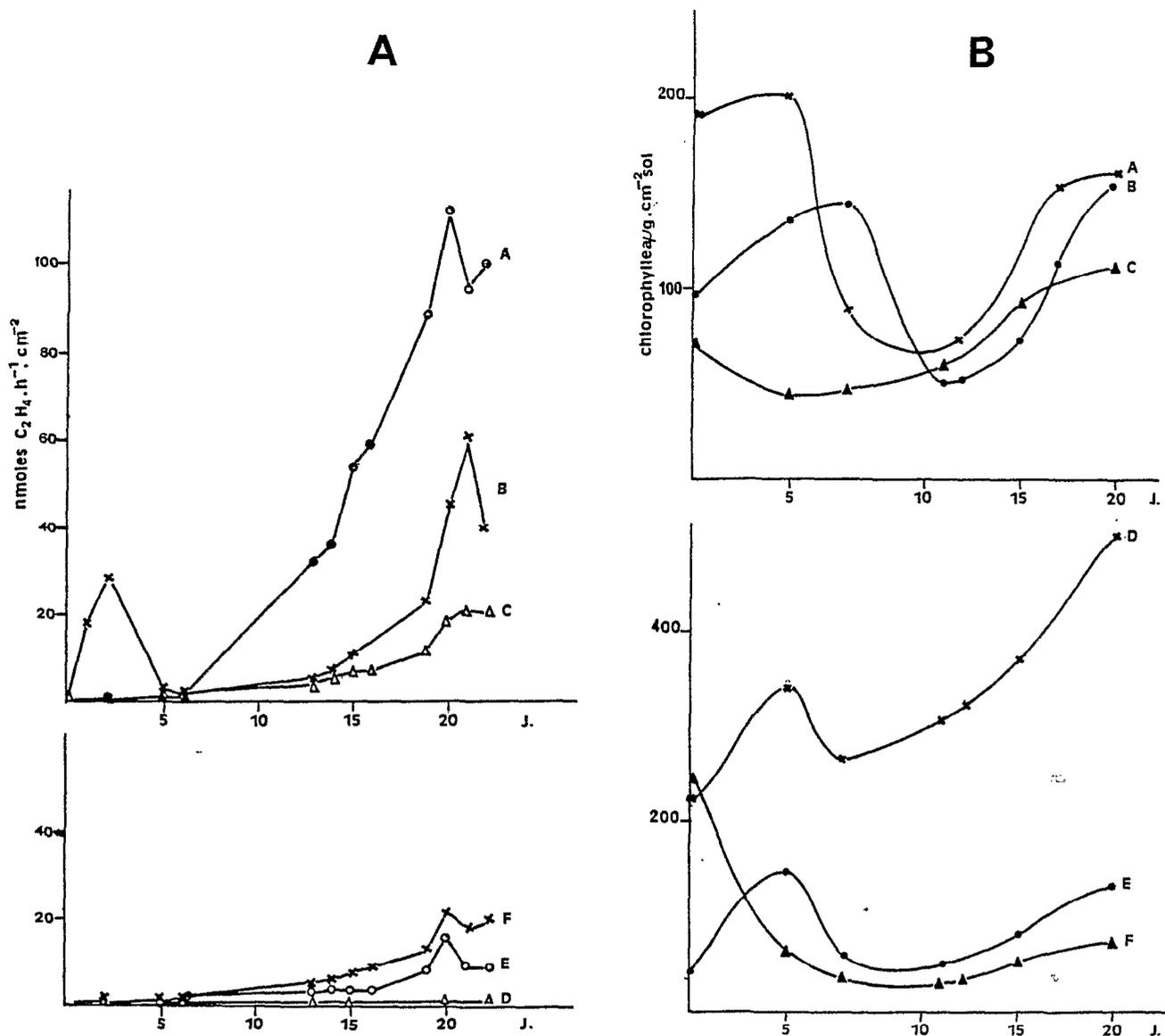


Figure 2-6 : Evolution de l'ARA (A) et de la concentration en chlorophylle a (B) après la réhumectation des six croûtes algales décrites dans le tableau 2-1.

La faible fixation observée dans les 10 premiers jours correspond à une période où la concentration en chlorophylle a (fig. 2-6B) est très variable avant de croître de façon régulière, en étroite corrélation avec l'ARA. La population algale passe de l'état sélectif (croûtes sèches) à l'état actif (activité fixatrice effective) après une dizaine de jours de réhumectation.

Bien que nous ne possédions pas d'informations précises sur l'évolution de la flore pendant ces dix jours, on peut supposer que la réhumectation, libérant l'azote minéral disponible, favorise tout d'abord le développement des formes homocystées. Après épuisement de celui-ci, les formes homocystées dépéri-

résistance des souches hétérocystées ont alors eu le temps de se développer suffisamment pour prendre la relève, cette hypothèse peut être confirmée en considérant l'échantillon D, où il n'y a pas de limitation en azote minéral et donc où le contenu chlorophyllien se développe sans chute aussi significative que pour les autres échantillons.

Pratiquement une ARA de $110 \text{ nm C}_2 \text{ H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ après 21 jours de réhumectation correspond à une fixation de 0,9 kg d'azote par jour et par hectare. Sur un sol humecté pendant tout le cycle cultural, soit 120 jours, l'apport d'azote biologique pourrait atteindre une centaine de kg d'azote par hectare.

3.4. Un exemple de prédation sur les cyanobactéries fixatrices : l'activité des ostracodes

Les cyanobactéries sont soumises à l'attaque de nombreux parasites comme les virus cyanophages, les bactéries et les actinomycètes (STEWART et DAFT, 1977) ainsi qu'à différents prédateurs comme les protozoaires (GHABBOUR et coll. 1980), principalement les amibes du sol (WRIGHT et coll., 1981) et les invertébrés : nématodes algophages (HOLLIS 1957), larves de diptères (FOCTE 1981), daphnies (WATANABE et coll., 1955) ou ostracodes (RAGHU et MACRAE, 1967). Certains gastéropodes dont la biomasse atteint $1,6 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$ dans les rizières des Philippines (ROGER et KULASOORIYA, 1980) expliquent les faibles populations algales. L'activité de ces prédateurs entraîne dans certains cas l'élimination des inoculums algaux en une ou deux semaines (VENKATARAMAN, 1961).

3.4.1. Mise en évidence de l'activité prédatrice des ostracodes sur les cyanobactéries fixatrices

Dans nos parcelles expérimentales un ostracode benthique *Stenocypris* sp. (NEALE, 1977) et plusieurs variétés de *Cypris* spp. sont présentes. L'évolution de leur biomasse suivie sur trois cycles de culture du riz met en évidence quatre phases : une croissance lente de la mise sous eau au 30^e jour, une phase exponentielle du 30^e au 50^e jour, une phase décroissante du 50^e au 70^e jour, puis une deuxième phase exponentielle de croissance jusqu'à la mise à sec.

En associant aux stades successifs du développement du riz la biomasse d'ostracodes à celle de cyanobactéries fixatrices, la courbe enveloppe (fig. 2-7) montre qu'au dessous d'une biomasse de $1 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ de cyanobactéries la population d'ostracodes est très faible et qu'elle devient maxima entre 1 et $5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ de cyanobactéries fixatrices. Une biomasse minima de $1 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ de cyanobactéries est

indispensable pour le développement des ostracodes ; au delà, la population d'ostracodes augmente aux dépens de la biomasse des cyanobactéries fixatrices.

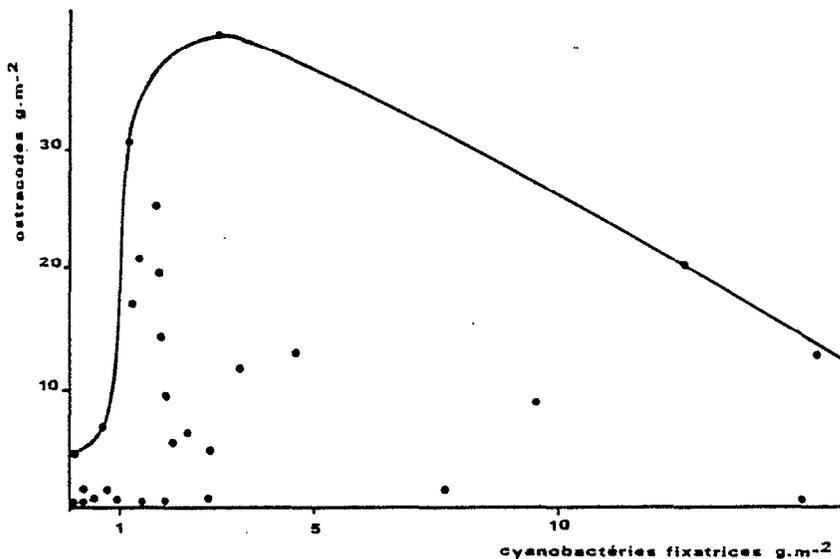


Figure 2-7 : Variations de la population d'ostracodes en fonction de la biomasse de cyanobactéries fixatrices.

Sur 18 cyanobactéries fixatrices unialgales, nous avons mesuré l'ARA en présence et en l'absence d'ostracodes isolés des parcelles expérimentales. Pour une concentration d'ostracodes d'environ 35 mg/ml de suspension algale, nous observons 100 % de perte d'ARA en 72 h sur 15 souches, ce qui reflète la destruction des cyanobactéries. *Scytonema schmidlei* a perdu 60 % de son ARA, *S. schmidtii* : 30 % ; seule une *Anabaena sp.* a une ARA identique à celles des témoins ; on note de plus qu'avec cette souche tous les ostracodes sont morts. *Anabaena sp.* identifiée comme une variété d'*Anabaena flos-aquae* est isolée d'un point d'eau du département de Fissel (Sine Saloum, Sénégal). *Anabaena flos-aquae* exsude une anatoxine A, létale pour les souris à la dose de 0,3 mg. kg (CARMICHAEL et GORHAM, 1977).

3.4.2. Limitations biologiques des populations d'ostracodes in vitro

- Par *Anabaena flos-aquae* : les ostracodes sont tous tués en 48 h pour des dilutions de culture axénique d'*Anabaena flos-aquae* correspondant à 0,07.mg de protéines.ml.⁻¹

<i>Anabaena flos aquae</i> en mg.protéine.ml ⁻¹ :	0	0,07	0,16	0,31	0,48
% d'ostracodes vivants après 24 h :	100	42	38	18	3
après 48 h :	100	0	0	0	0

Comme nous avons montré que l'ARA n'est pas affectée par les ostracodes chez *A. flos-aquae*, on peut en déduire qu'il n'y a pas eu de prédation de la cyanobactérie et donc que l'effet létal de celle-ci est dû à ses exsudats. Sur le surnageant de culture axénique après centrifugation (1000xg.20'), la concentration en protéine est de 1,16 mg.l⁻¹ pour la suspension à 0,07 mg.ml⁻¹ d'*A. flos-aquae*. Des exsudats d'*Anabaena flos-aquae* à des concentrations de protéines de 1,16 mg.l⁻¹ sont létaux pour les ostracodes.

Cette souche a un double intérêt car elle fixe l'azote et possède des propriétés insecticides.

Par *Azadirachta indica* A. Juss (*neem*) : La pulpe du fruit de cet arbre importé d'Inde, maintenant très connu dans le paysage sénégalais, stimule la croissance des cyanobactéries dans les rizières asiatiques en diminuant l'activité des prédateurs par l'action de substances terpénoïdes (WATANABE et coll., 1981).

En vue d'applications nous avons observé l'effet de concentrations croissantes de pulpe broyée et d'extrait hydrosoluble sur les populations d'ostracodes in vitro.

% d'ostracodes des survivants	Témoin	Broyat de pulpe mg.ml ⁻¹				Extraits hydrosolubles mg.ml ⁻¹			
		0,05	0,35	2,4	10	0,05	0,35	0,5	2,5
après 2 h	100	90	41	62	58	100	72	80	50
après 24 h	100	90	30	0	0	90	56	10	0
après 48 h	100	90	6	0	0	70	15	0	0

En considérant une hauteur d'eau de 2,5 cm dans les parcelles il faudra introduire 60 g de broyat par m⁻² pour éliminer la totalité des ostracodes en 24 h ou 12 g d'extraits.m⁻² en 48 h.

Ces estimations seront utilisées pour les essais en parcelles (chapitre 3).

3.5. Action du pH

Lorsque l'intensité lumineuse et l'humidité ne sont pas les facteurs limitants, le pH du milieu est le facteur principal affectant les variations de la population algale (BRANNON, 1945). En milieu de culture le pH optimum pour la croissance des cyanobactéries est compris entre 6,5 et 10 (HOLM-HANSEN, 1968). En général il n'y a aucune croissance au dessous de pH 5,7 (ALLISON et coll. 1937). Dans les sols indien PRASAD et coll. (1978) observent la présence de souches fixatrices entre les pH 5,5 et 10.

La fixation d'azote est optima aux pH légèrement alcalins et diminue au dessus et au dessous des pH 7 à 8 (SHARMA et KUMAR, 1975).

Cette activité préférentielle aux pH neutres ou alcalins explique les corrélations trouvées dans les rizières entre i) le pH de l'eau et le nombre de cyanobactéries (OKUDA et YAMAGUCHI, 1956) ;

ii) le pH du sol et le nombre de spores de souches fixatrices dans le sol durant la saison sèche tropicale (GARCIA et coll., 1973) ;

iii) le pH du sol et la croissance des cyanobactéries (OKUDA et YAMAGUCHI, 1952) ;

iiii) le pH du sol et la biomasse de souches fixatrices (ROGER ET REYNAUD, 1977 a).

Cette dernière corrélation n'étant mise en évidence que lorsque les échantillons sont prélevés dans des rizières au même stade de développement, avec une fertilisation et un couvert végétal identique.

La présence de cyanobactéries a été mise en évidence à des pH inférieurs à 6 ; DURREL (1964) démontre la présence de *Nostoc muscorum* et d'*Anabaena torulosa* dans les sols aux pH entre 5 et 7. Dans les rizières du Kerala, aux pH compris entre 3,5 et 6,5, *Aulosira fertilissima* et *Calothrix brevissima* sont ubiquistes (AYER, 1965). STEWART et coll. (1978) montrent que les souches de *Scytonema* et de *Stigonema* développent une ARA à pH 4.

Sur les sols étudiés au chapitre 1, le pH moyen est de 6 (annexe 2). Mesuré sur 29 sols, le pH augmente en moyenne d'une unité après quatre semaines de submersion puis se stabilise (GARCIA et coll. 1973). Les variations nyctémérales sont aussi de l'ordre d'une unité (LOYER et coll. 1981). Dans le cas général, les rizières de la zone étudiée ont un pH acide. Avec un pH au-dessous de 6, une variation journalière d'une unité peut avoir un effet important sur l'activité nitrogénase des cyanobactéries.

3.5.1. pH acides et biomasse algale *in situ*

Il n'a pas été possible en considérant l'ensemble des sols étudiés, lors de nos échantillonnages d'établir de corrélations entre les biomasses algales absolues ou relatives et le pH des sols. Toutefois en faisant des représentations graphiques de ces relations, nous avons été amenés à l'établissement de droite limites (fig. 2-8 et 2-9).

La biomasse relative des cyanobactéries hétérocystées augmente entre pH 4 et pH 8 (fig. 2-8 A) suivant une figuration limite représentée par l'équation

$y = 13,1 \text{ pH}-25$ où y est compris entre 27 et 100 %. La biomasse totale des formes hétérocystées dans les mêmes limites de pH peut augmenter 100 fois :

$y = 0,63 \text{ pH}+5,7$; les valeurs de la biomasse y sont exprimées en $\log_{10} \mu^3 \cdot \text{cm}^{-2}$ soit de 10 kg poids frais $\cdot \text{ha}^{-1}$ à pH4 à plus d'une tonne à pH 8.

Précisons ces variations de biomasse dues au pH sur des souches ubiquistes comme *Nostoc punctiforme*, souche fixatrice (fig. 2-9 A) et *Pseudanabaena sp.*, souche homocystée (fig. 2-9 B).

Si pour l'ensemble des souches hétérocystées la biomasse peut être 100 fois plus forte, pour la souche de *N. punctiforme* cette variation est de 10 000 fois entre pH4 et pH8 : $y = 1,28 \text{ pH}-1,5$. Pour *Pseudanabaena sp.* par contre la droite limite est justifiable entre pH 4 et pH 6 mais il semble qu'aux pH plus élevés les variations de la biomasse sont très atténuées ; la courbe enveloppe aurait son optimum à pH 7 et décroîtrait au dessus de $y = 0,94 \text{ pH}+4,6$ entre pH 4 et pH 6.

Le développement des cyanobactéries sur les sols acides est ralenti. Cependant ce ralentissement n'est pas le même chez toutes les souches ; les souches homocystées comme *Pseudanabaena sp.* atteignent plus rapidement leur optimum de croissance. Par contre certaines souches fixatrices comme *N. punctiforme* sont particulièrement affectées, ces variations sont 100 fois supérieures à celles de la biomasse fixatrice totale ; au sein de cette dernière, les réponses aux variables de pH vont être très variables.

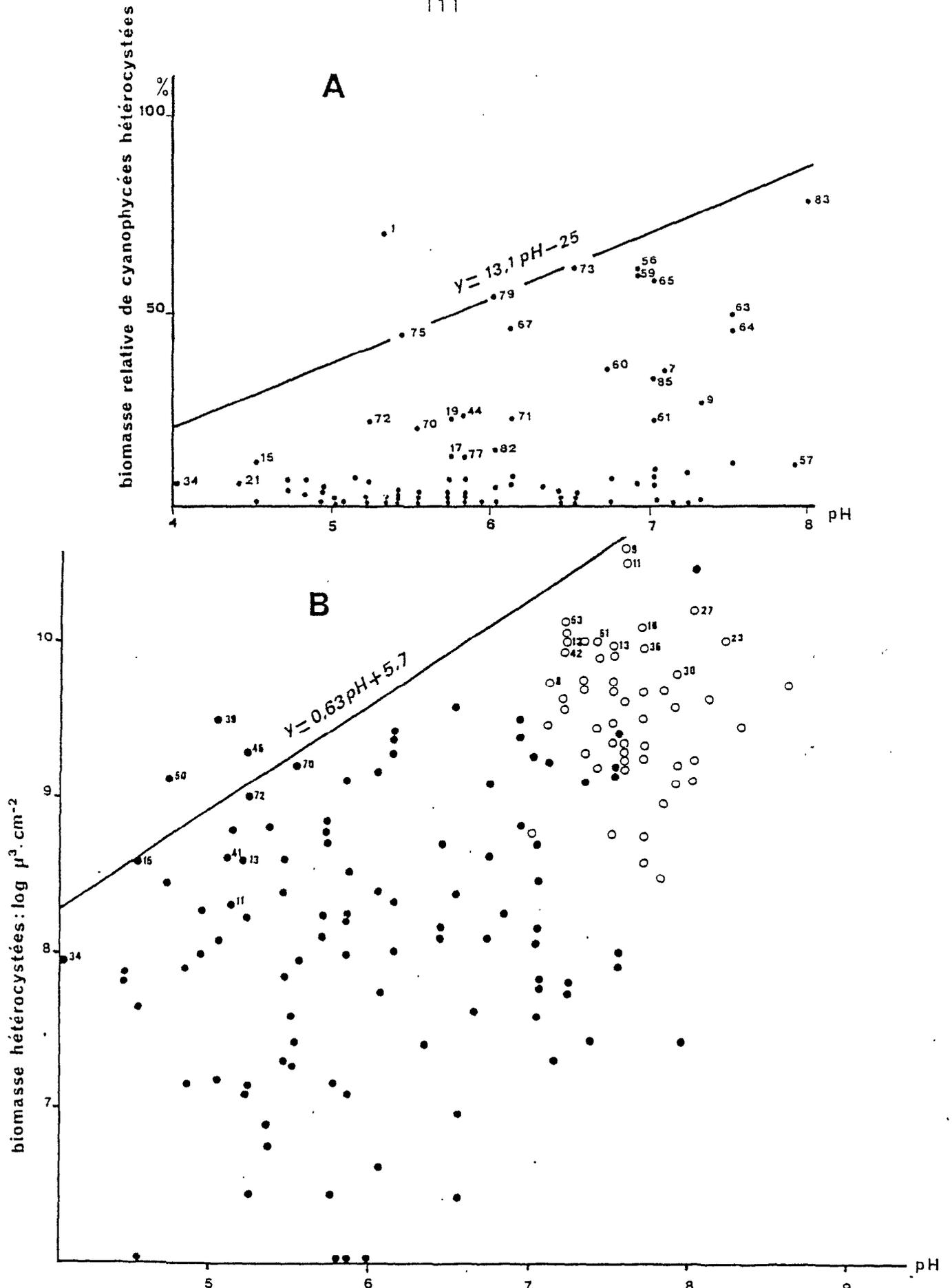


Figure 2-8 : Variations de la biomasse relative (A) et de la biomasse absolue (B) des cyanobactéries hétérocystées en fonction du pH, Stations décrites en annexe 2 (○) et sur une étude en rizière (●). Les nombres sont les références des stations.

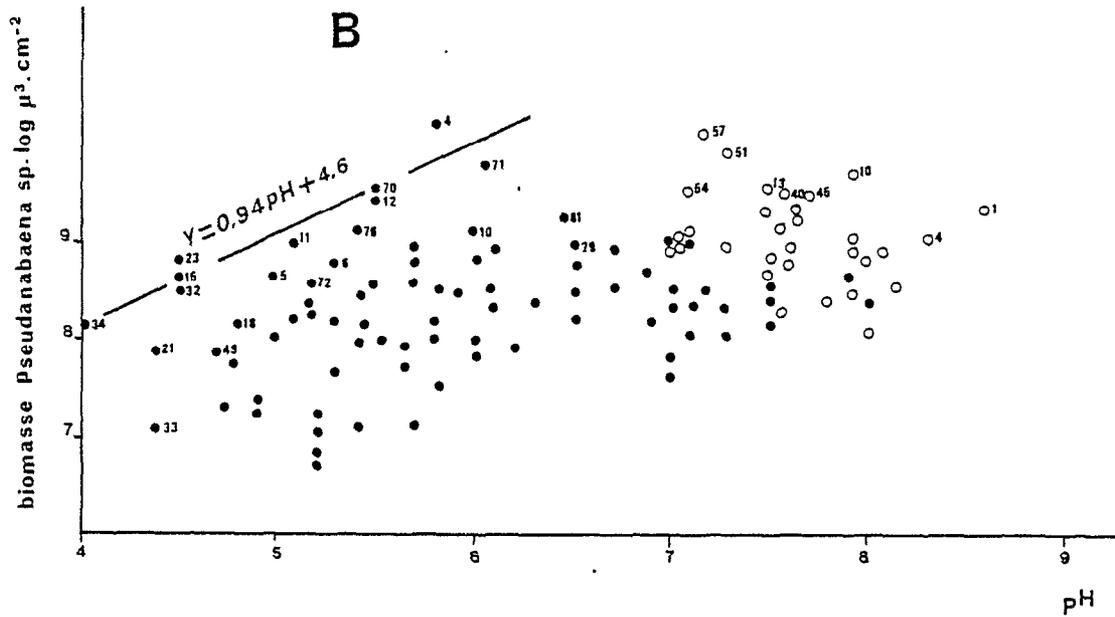
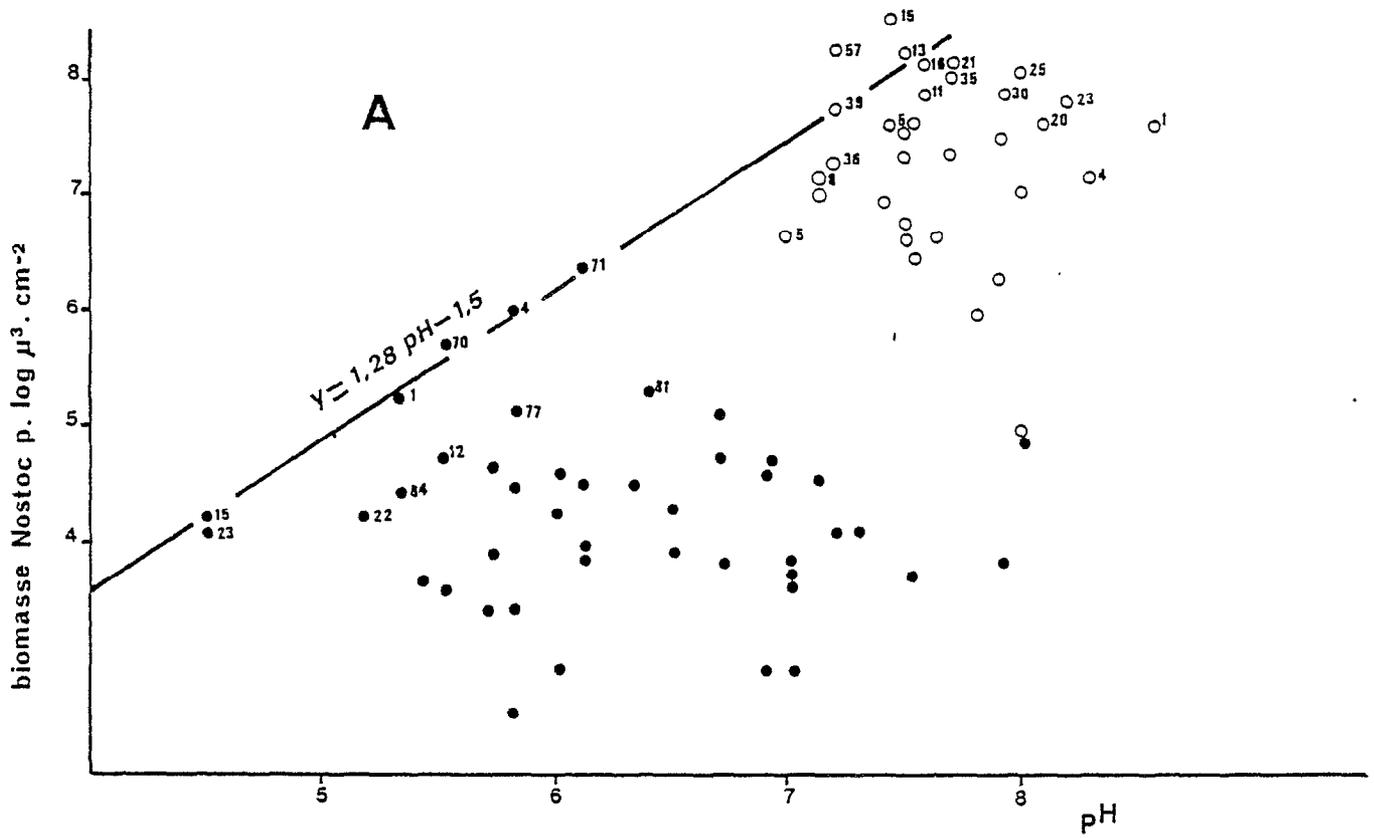


Figure 2-9 : Variations de la biomasse absolue pour *Nostoc punctiforme* (A) et pour *Pseudanabaena sp* (B) en fonction du pH.

3.5.2. Activité Réductrice d'Acétylène en fonction du pH

Pour 41 souches de cyanobactéries fixatrices isolés nous avons étudié les variations de l'ARA entre les pH 4 et 8. Les courbes d'activité obtenues peuvent se résumer à six comportements (figure 2-10).

Courbe 1 : l'ARA optima est comprise entre pH 6 et 7, au-dessus de pH 7 l'activité diminue très rapidement. Ce comportement *acidiphile* est observé pour une *Nostoc*, une *Anabaena*, une *Hapalosiphon*, une *Microcaete*, une *Calothrix*, une *Tolypothrix*.

Courbe 2 : l'ARA est optima à pH 5 puis diminue très lentement jusqu'à pH 9. Ce comportement *acidotolérant* est observé pour une *Nostoc*, une *Anabaena*, une *Calothrix*, une *Gloeotrichia*.

Courbe 3 : L'ARA apparait à pH 7 et est optima à pH 9: les souches ont un comportement *basiphile* (2 *Nostoc*, 2 *Calothrix*, 1 *Anabaena*).

Courbe 4 : L'augmentation de l'ARA est continu entre pH 4 et pH 8; l'optimum est atteint entre 8 et 9. Cette variation du comportement *basiphile* est observé pour trois *Nostoc*, deux *Scytonema*, une *Aulosira* et une *Nodularia*.

Courbe 5 : Forme en cloche de l'ARA avec un maximum à pH7; ce comportement *neutre* est observé pour trois *Nostoc*, trois *Anabaena*, une *Calothrix*, une *Tolypothrix*.

Courbe 6 : L'ARA est optima entre pH 6 et pH 9, signifiant un comportement *neutro-basiphile* pour cinq *Anabaena*, une *Nostoc*, une *Scytonema*, une *Westiellopsis*, une *Cylindrospermum*, une *Gloeotheca*.

Dix souches (courbes 1+2) sur 41 présentent un optimum à des pH acides. Les souches de *Nostoc* paraissent favorisées dans ces conditions par rapport aux souches d'*Anabaena* sans que cela puisse être une conclusion définitive, vu le peu d'espèces testées.

Ces souches sont prélevées dans différents biotopes, leur comportement par rapport au pH pourrait sembler une forme d'adaptation, mais nous n'avons pas suffisamment de données pour établir une relation entre leur comportement *in vitro* et le pH de leur biotope d'origine.

Toutefois, nous avons isolé sur un sol de rizière (Reynaud et Lalöe, 1985) sept souches de cyanobactéries fixatrices, puis nous avons testé leur ARA entre les pH 4 et 10. Leur activité est semblable à celle présentée dans les cinq premières courbes (fig. 2-11).

- Courbe 1 : Une *Scytonema*, Une *Anabaena* ;
 Courbe 2 : Une *Calothrix*, Une *Nostoc* ;
 Courbe 3 : Une *Nostoc* ;
 Courbe 4 : Une *Calothrix* ;
 Courbe 5 : Une *Calothrix*

Sur ce sol le pH de 7,6 ne favorise pas à priori le développement de souches acidiphiles, les ARA les plus fortes sont notées par les *Calothrix* 4 et 5.

Le mélange des sept souches à partir de concentrations en protéines identiques montre une ARA continue entre pH5 et pH9 (fig. 2-7M)

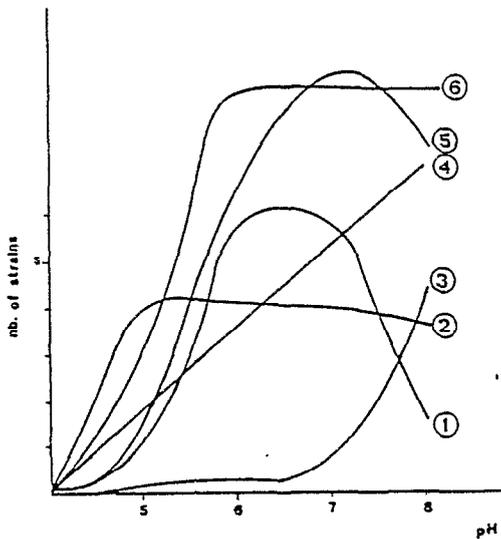


Figure 2-10 : Courbes standard de l'ARA en fonction du pH pour 41 cyanobactéries isolées. En ordonnée est reporté le nombre de souches correspondant à chaque courbe : par exemple, pour 1 : 6 souches

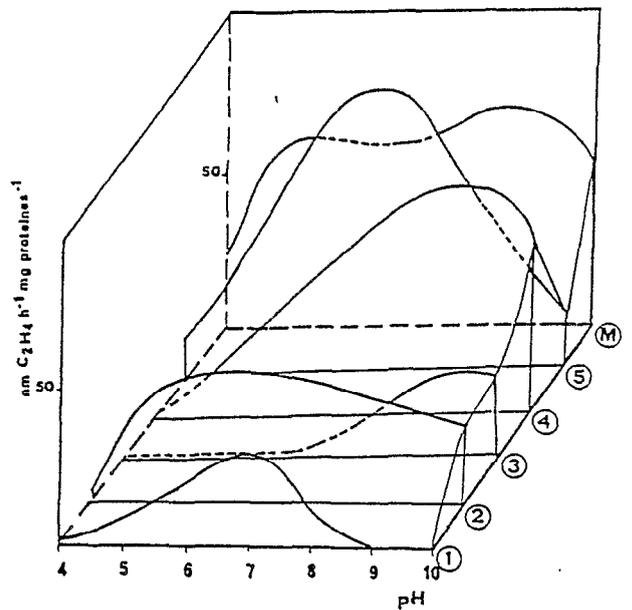


Figure 2-11 : Variations de l'ARA en fonction du pH sur sept cyanobactéries isolées d'un même biotope (détails dans le texte) et sur le mélange M de ces souches.

Dans ce biotope les cyanobactéries fixatrices testées forment 62 % de la biomasse des souches fixatrices, les mesures d'ARA sur ces souches peuvent être interprétées comme une représentation incomplète mais réelle de l'adaptation de la florule fixatrice aux variations de pH. Au sein d'une population algale il coexiste des souches fixatrices qui ont un comportement différent vis à vis du pH ; chacune ou chaque groupe atteignant son optimum d'ARA pour des valeurs différentes allant de pH5 à pH9.

La population algale sur ce sol est à son état sélectif ; avec les souches de cyanobactéries fixatrices dont elle est composée, elle possède des potentialités de fixation d'azote équivalentes entre pH5 et pH9. On peut supposer qu'après la mise sous eau de la rizière, suivant le pH, l'un ou l'autre des six groupes de formes fixatrices va proliférer préférentiellement.

3.5.3. Conclusions

In situ, comme in vitro, la biomasse fixatrice absolue et relative augmente avec le pH.

L'inhibition de la croissance et de l'ARA est différente sur une souche et sur une population composite. Nous avons mis en évidence six comportements différents de l'ARA en fonction du pH sans corrélations avec les groupes taxonomiques. Le système de transfert actif à travers la membrane pourra être altéré plus ou moins vite (KALLAS et CASTENHOLZ, 1982), ralentissant l'activité photosynthétique (COLEMAN et COLMAN, 1981) et donc l'ARA.

Les biomasses seront plus importantes aux pH alcalins lorsque le pH sera le facteur prépondérant. Cependant, pour une même biomasse fixatrice, l'ARA pourra être identique entre pH5 et pH9.

On observe des corrélations positives significatives entre ARA et biomasse fixatrice uniquement sur des lots d'échantillons où le pH est identique.

3.6. Influence de la concentration en azote minéral sur la composition de la flore algale

Dans les études du chapitre 1 l'azote était étroitement associé au carbone et devrait donc correspondre plus à une représentation de la matière organique qu'à de l'azote minéral (chap. 1 : 3.2.1.2.). Son influence sur la composition algale a été aussi appréhendée au niveau de la fertilisation NPK (chap. 1 : 3.3.3.2.). Cependant nous n'avons pas pu dégager son action spécifique.

Nous avons vu, dans le paragraphe 3.3.2. qu'une concentration de 3% N. g⁻¹ de sol inhibe totalement la fixation d'azote (D) alors qu'avec une concentration de 0,9 ‰, après un temps de latence de 5 jours, une ARA se développe (C). Pour 0,36 ‰ d' N total, le temps de latence disparaît (A). Il semble donc que dans la nature la fixation d'azote par les cyanobactéries soit limitée pour des concentrations d'environ 1 ‰ et inhibée au dessus. Nous avons procédé à l'analyse de l'azote total dans le premier millimètre de sol et de la composition floristique sur 57 prélèvements de sols de rizières.

La comparaison des biomasses relatives des formes homocytées et celles des formes fixatrices d'azote par rapport à la concentration en azote total permet d'établir deux droites limites (fig. 2-12). Elles ont pour limites inférieure et supérieure les concentrations de 3 et 8 ‰ d'azote.

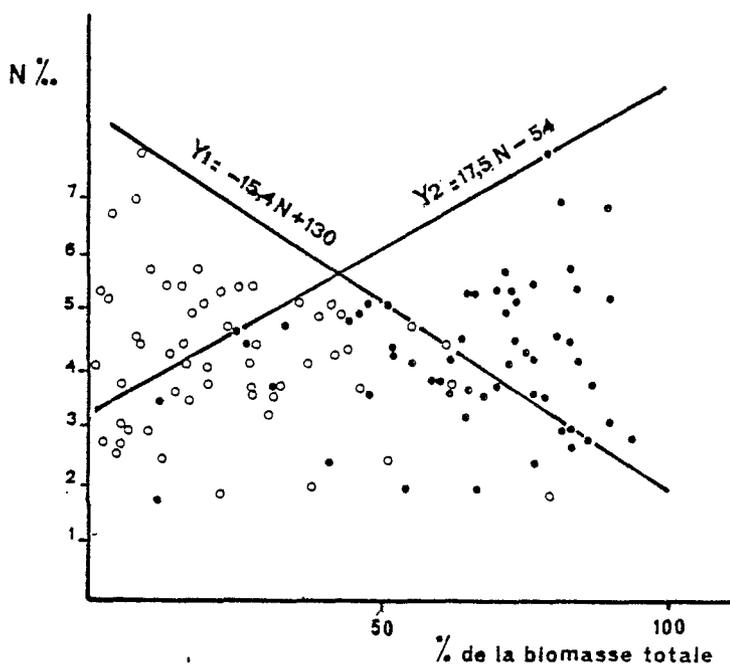


Figure 2-12 : Concentration en azote total (N ‰) dans le premier millimètre de sol en fonction de la biomasse relative des cyanobactéries homocystées (●) et de la biomasse relative des cyanobactéries fixatrices d'azote (○) dans 57 prélèvements d'un sol de rizière.

L'équation limite pour les cyanobactéries fixatrices: $y_1 = 130 - 15,4 N ‰$.
Même si d'autres facteurs (éclairage, pH..) favorisaient le développement préférentiel de la flore fixatrice, d'après la définition des droites limites, celle-ci ne dépasserait pas 10 % de la flore totale pour $N ‰ > 8$.

Inversement, d'après $y_2 = 17,5 N ‰ - 54$ entre $3 ‰ < N < 8 ‰$ de la biomasse relative des cyanobactéries homocystées pourra varier entre 0 et 100 %.
L'augmentation des concentrations en azote minéral in situ, favorise le développement compétitif des formes homocytées. L'apport d'engrais azoté directement assimilable par les formes homocystées apparaît comme incompatible avec la fixation biologique de N_2 par les cyanobactéries. Une meilleure technique d'application des engrais azotés (par exemple en profondeur) pourrait préserver l'activité fixatrice.

3.7. Phosphore et ARA chez les cyanobactéries fixatrices

Parmi les facteurs trophiques, le phosphore est considéré comme le premier élément limitant les masses algales (WOLDENDORP, 1972). Les concentrations intracellulaires varient considérablement; les cyanobactéries stockent le phosphore en excès sous forme de granules de polyphosphate pour l'utiliser lorsque les conditions sont déficientes (BATTERTON et VAN BAALLEN, 1969, REEDY, 1983). La croissance et la fixation d'azote sont très ralenties dans les milieux carencés (STEWART et ALEXANDER, 1971). Une concentration de 0,1 ppm de phosphate suffit cependant à la croissance d'*Anabaena oscillarioides* (LAM, 1979); une croissance rapide de nombreuses souches est observée au dessus de 6 ppm (OKUDA et YAMAGUCHI, 1952). Les besoins en phosphate pour une croissance optimale diffèrent d'une souche à l'autre (KUHL, 1974) lorsqu'aucun autre facteur n'est limitant, mais aucune conclusion n'a pu être établie sur une relation entre besoins en phosphore et groupes taxonomiques.

Nous avons mesuré l'ARA pour huit souches dans des milieux contenant des concentrations croissantes de phosphore (0 à 8 ppm), après 24 heures et 196 heures de culture (fig. 2-13).

Deux souches : *Nodularia* sp. et *Anabaena flos-aquae* perdent, après 24 h plus de la moitié de leur ARA dans le milieu sans phosphore, et deux autres souches: *Nostoc muscorum* et *Nostoc punctiforme* ont la même perte après 196 h. Ceci suggère qu'elles ne forment pas ou peu de réserves phosphatées utilisables.

Pour toutes les souches testées, une concentration de 0,5 ppm de phosphate dans le milieu suffit pour observer une ARA très élevée après 196 heures de culture.

3.8. Chlorure de sodium et ARA chez les cyanobactéries fixatrices

Les besoins en sodium sont satisfaits pour des concentrations de 1 mg de NaCl par litre chez les souches dulcaquicoles, et de 100 mg/l chez les cyanobactéries marines (BATTERTON et VAN BAALLEN, 1971). Au dessus de 2 g NaCl/l, RENAULT et SASSON (1970), ILTIS (1973) mettent en évidence un développement des formes homocystées plus important que celui des formes hétérocystées. En fait, le mécanisme de la fixation d'azote est beaucoup plus sensible que la photosynthèse à l'augmentation de la salinité (TEL OR, 1980). Toutefois, JONES et STEWART (1969) chez *Calothrix scopulorum* et GOTTO et coll. (1979) pour certaines *Anabaena* ont mentionné des croissances et des ARA très élevées avec des concentrations de 15 g NaCl/l.

Il existe certaines souches de cyanobactéries qui ont la propriété d'accumuler le sodium (THOMAS, 1978); cela permet d'envisager une dessalinisation biologique des sols salins.

Les cyanobactéries fixatrices d'azote combinant cette propriété à une certaine halotolérance - qui serait constitutive plutôt

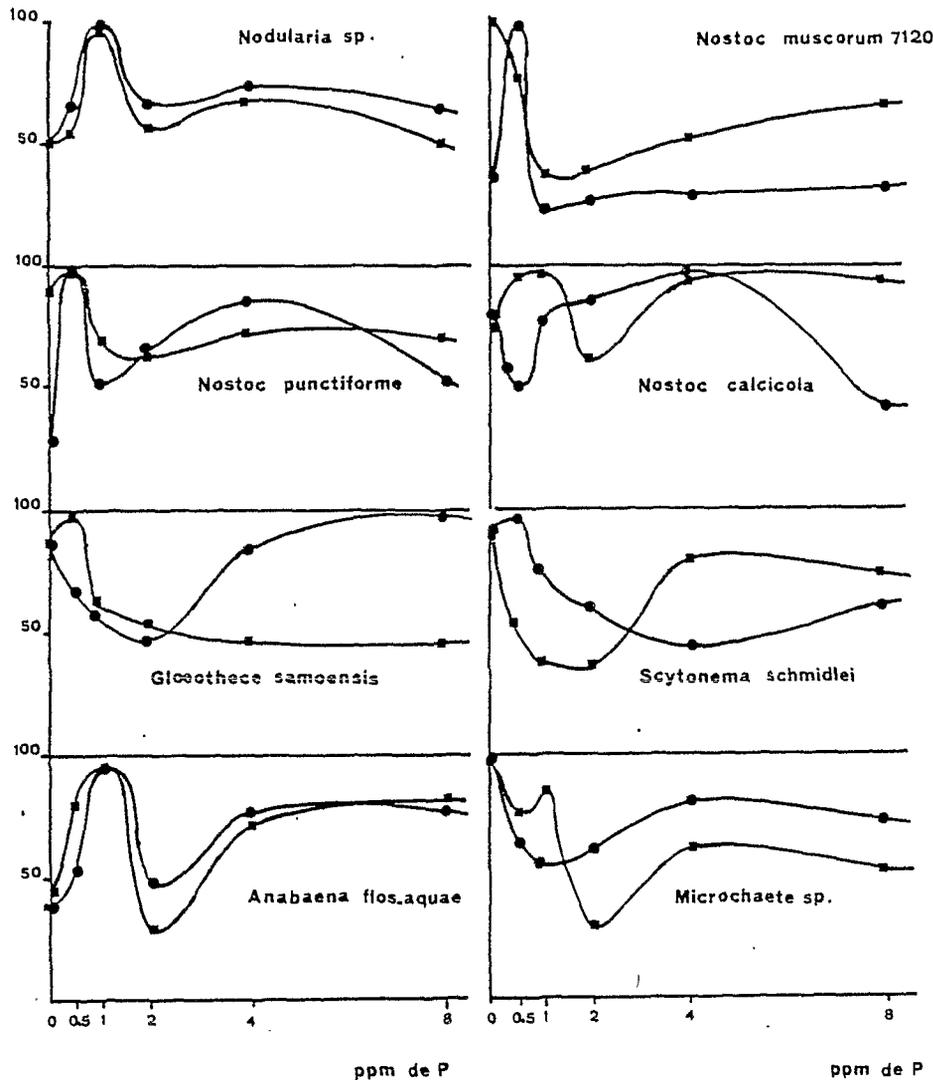


Figure 2-13 : Evolution de l'ARA après 24 h : ■—■, et après 196 h : ●—● pour des concentrations croissantes de K_2PO_4 exprimées en ppm de P., pour huit cyanobactéries axéniques. En abscisse est exprimé le % d'ARA par rapport à la plus forte valeur obtenue après 24h ou après 48h - moyennes de trois répétitions.

qu'adaptative (ANTARIKANONDA, 1982) sont particulièrement intéressantes au niveau agronomique.

Sur les sols de la région nous n'avons pas mis en évidence de relations entre cyanobactéries fixatrices et conductivité (cf. chap. 1 : 3.2.1.2.) aussi nous avons testé seulement l'ARA en fonction de concentrations croissantes en NaCl sur des souches isolées (fig. 2-14)

Parmi elles, seule *Scytonema schmidtii*, a une ARA stimulée pour une concentration de 0,5 % NaCl. Les six autres souches n'ont pas de besoins particuliers en sodium et toute fixation est arrêtée avec 1 % de NaCl. Aussi, bien que le petit nombre de souches testées, ne nous permette qu'une hypothèse, il semble, puisque la biomasse algale absolue et la biomasse relative de cyanobactéries fixatrices ne sont pas corrélées avec la conductivité entre 500 et 3 000 micromhos (chap. 1, § 3.3.2., que l'augmentation de la conductivité conditionne la sélection spécifique mais n'a pas d'action sur la valeur de la biomasse algale dans ces limites.

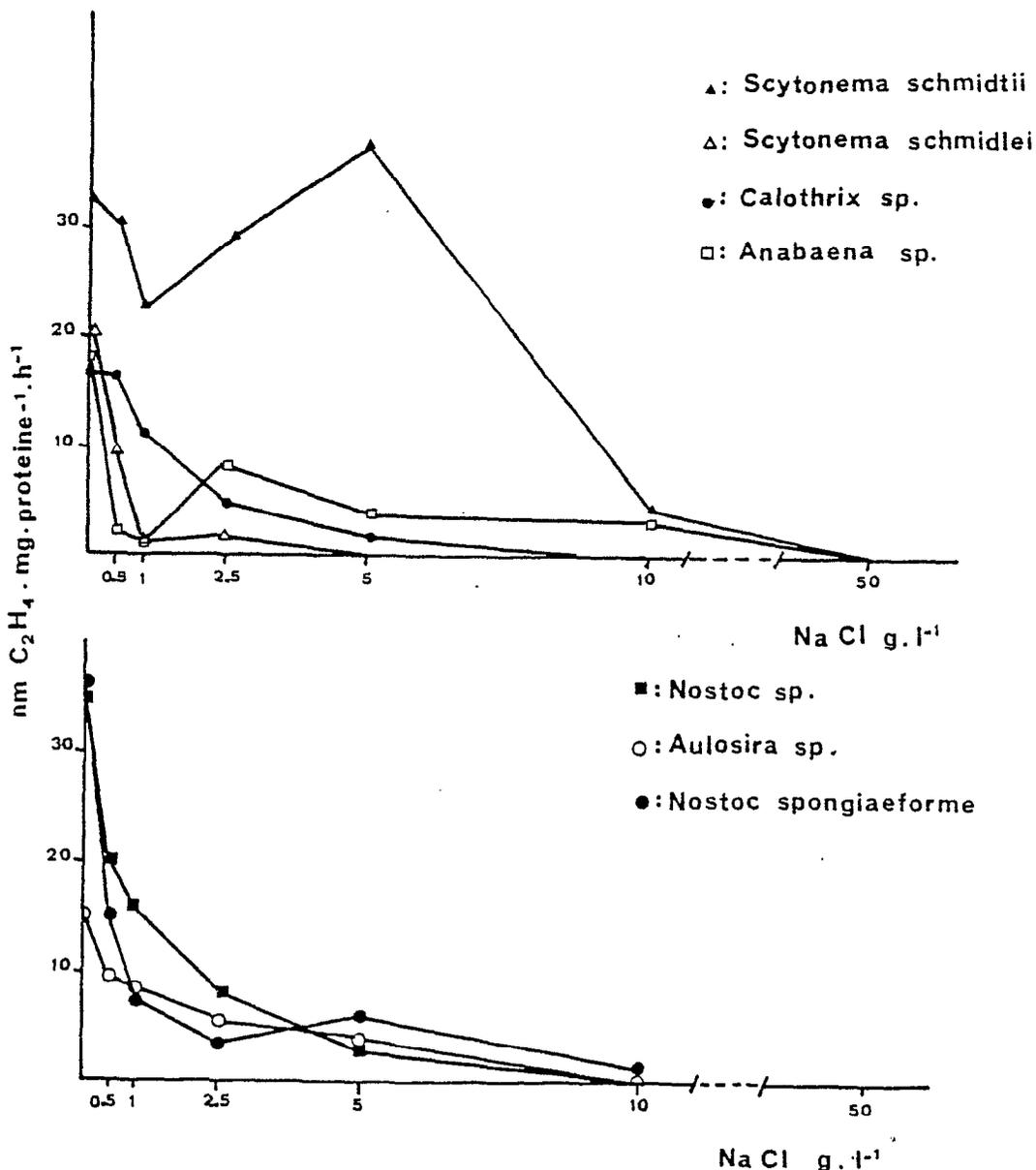


Figure 2-14 : Evolution de l'activité réductrice d'acétylène en fonction de la concentration en NaCl sur sept cyanobactéries hétérocystées isolées dans la zone tropicale sèche.

4. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Dans ce chapitre, huit paramètres influant sur la fixation d'azote et sur la biomasse relative et absolue des cyanobactéries fixatrices, sont testés dans les limites de leurs variations en zone tropicale sèche:

- Intensité lumineuse jusqu'à 80 klux
- Température entre 15 et 60°C
- Réhumectation de courte durée
- Population variable d'ostracodes
- pH entre 4 et 10
- Concentration en azote entre 0 et 8% dans les sols
- Concentration en phosphore limitante
- Salinité correspondant à des conductivités atteignant 3 micromhos.

Parmi ces paramètres, le passage de l'état accumulatif à l'état actif, c'est-à-dire l'augmentation de la biomasse absolue et de l'ARA, est principalement soumis à la diminution de l'intensité lumineuse, de la concentration en azote et de la population d'ostracodes. La transition entre l'état actif et l'état sélectif, c'est-à-dire l'augmentation de la biomasse relative des formes fixatrices, est due surtout à la dessiccation, à l'augmentation de pH et de température. L'ensemble de ces résultats met en évidence l'adaptation des populations algales aux variations écologiques. Cette adaptation peut être considérée sous deux aspects: l'adaptation de l'ensemble de la biomasse, ou celle, plus spécifique, des souches fixatrices.

Cette dernière prend la forme d'une adaptation *morphologique* par la formation de réserves de polyphosphates ou par l'épaississement des gaines mucilagineuses qui permettent la résistance à la dessiccation ou à la prédation par les ostracodes.

L'adaptation est *physiologique* dans le cas des souches:

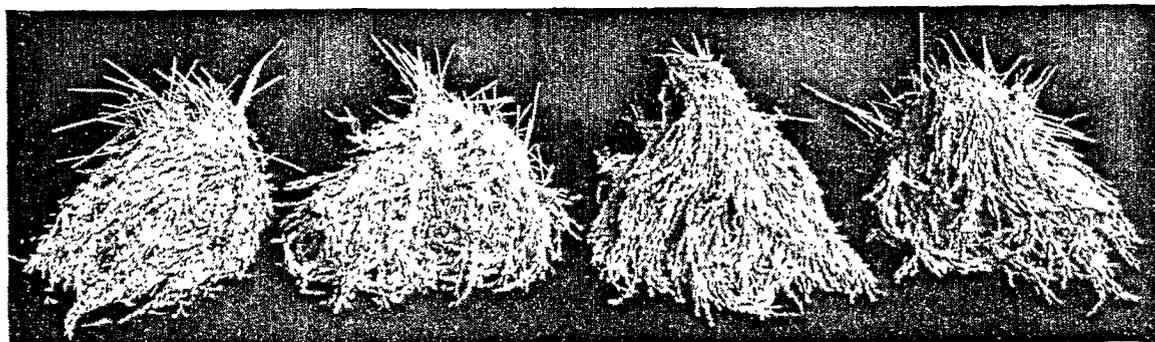
- qui peuvent croître avec une large gamme de salinité, de pH ou de température;
- qui peuvent développer un système de protection aux hautes intensités lumineuses par phototactisme ou photocinèse agrégative (REYNAUD et ROGER, 1978);

- qui peuvent exsuder des substances toxiques pour éliminer les prédateurs.

L'adaptation de l'ensemble de la biomasse d'un biotope est issue des adaptations spécifiques lorsque, comme on l'a mis en évidence dans le cas précis du pH, le tapis algal a une composition algale bien définie. Chaque souche a des possibilités optima de croissance et d'ARA pour une gamme plus ou moins étendue de la variable considérée.

Les possibilités d'adaptation de l'ensemble des souches assurent une production continue pour toutes les variations de ce paramètre dans le biotope.

CHAPITRE 3: APPROCHE ECOPHYSIOLOGIQUE DE L'ALGALISATION EN ZONE TROPICALE SECHE



A

B

C

D

Récolte des épis de riz sur quatre traitements en micro-parcelles de 1m^2 :

A: pas d'engrais azoté, pas d'algalisation: 462 g.m^{-2}

B: pas d'engrais azoté, algalisation: 490 g.m^{-2}

C: 60 kg d'N. urée, algalisation: 742 g.m^{-2}

D: 60 kg d'N. urée, pas d'algalisation: 685 g.m^{-2}

Ces résultats obtenus par la moyenne de quatre microparcelles ne sont pas significativement différents entre A et B et entre C et D.

1. INTRODUCTION

L'écosystème rizière est considéré très justement par STEWART et coll. (1979) comme une "microbial babylone" comprenant des formes fixatrices d'azote qui, à côté des cyanobactéries fixatrices en aérobiose ou en microaérophilie, peuvent être des bactéries photosynthétiques anaérobies, libres ou associées, des bactéries aérobies, anaérobies facultatives ou strictes. Il est donc impossible d'attribuer à chaque forme la part qu'elle prend à la fixation biologique de l'azote. Aussi la méthode la plus simple et la plus employée pour déterminer l'importance et l'effectivité des cyanobactéries fixatrices dans ce processus, consiste à mesurer les récoltes de riz sur des cultures avec ou sans inoculum algal en présence ou non d'engrais azoté. Cette méthode dite de "la boîte noire" a le mérite de renseigner immédiatement l'agronome, mais elle ne permet pas de connaître les causes de la réussite ou de l'échec du traitement, ainsi que les variations de biomasse de l'inoculum. WATANABE (1962), EL NAWAWY (1972) notent que l'introduction de *Tolypothrix tenuis* a un effet positif sur la récolte alors que les souches fixatrices autochtones n'en ont pas. Toutefois ils ne précisent pas le devenir de cette cyanobactérie pendant le cycle de culture, et donc ils ne déterminent pas si l'effet positif est dû directement à la fixation d'azote par cette souche, ou si son introduction a eu, par le fait même qu'elle perturbe l'équilibre du biotope, un effet positif sur la fixation d'azote d'autres microorganismes.

En effet, à côté des facteurs étudiés dans les deux premiers chapitres, de nombreux facteurs biologiques, plus spécifiques, sont susceptibles de limiter le développement et l'activité des cyanobactéries fixatrices d'azote en rizières :

- Le rôle des pathogènes : bactéries (DAFT et STEWART, 1971), champignons (CANTER, 1972), virus-cyanophages (HU et coll., 1981), est mal défini *in situ*. Seuls SINGH (1973) pour les cyanophages et SUZUKI (1967) pour Azotobacter, rapportent un effet négatif sur la population algale en rizière.

- Les antagonismes avec les autres organismes aquatiques pourraient aussi influencer les successions algales sans que l'on sache rien des mécanismes concernés. Par contre de nombreuses cyanobactéries exsudent des substances qui inhibent leur propre croissance ou celle d'autres espèces (SRIVASTAVA, 1972, HELLEBUST, 1974). *Nostoc muscorum* produit des substances autotoxiques (HARDER, 1977) ; *Microcystis* sp. inhibe la croissance de chromophycées (VANCE, 1965). Nous avons observé une inhibition de la croissance chez plusieurs souches axéniques en présence d'*Anabaena flos-aquae*.

Aussi le choix de l'inoculum, compte tenu des facteurs biologiques incontrôlables, devra-t-il se faire à partir de souches déjà établies dans le biotope considéré. Ces souches seront a priori capables de résister à l'action de ces facteurs et seront adaptées aux facteurs édaphiques principaux : pH et salinité. Ce principe est utilisé par VENKATARAMAN (1979) qui ajoute comme critères de sélection des souches à inoculer une croissance rapide et une fixation d'azote élevée. STEWART et coll. (1979) proposent sept critères basés sur la fixation, l'assimilation et l'exsudation de l'azote pour obtenir des souches optimisant le processus, avant de considérer les problèmes d'adaptation au milieu.

Une expérience menée en sélectionnant des cyanobactéries seulement suivant les critères de VENKATARAMAN montre que la biomasse de l'inoculum, très importante au début du cycle du riz, diminue de moitié en deux mois (REYNAUD, 1981). La flore algale devient identique dans les traitements inoculés et non inoculés; elle a atteint une forme d'équilibre.

Aussi nous avons sélectionné des souches sur les critères de VENKATARAMAN mais aussi en tenant compte des caractéristiques particulières mises en évidence par nos études écophysiological :

- Les souches sont résistantes aux hautes intensités lumineuses et aux successions de dessiccations-réhumectations;

- Dans le cas où *Anabaena flos-aquae* sera utilisée comme agent anti-ostracodes, elles doivent pouvoir se développer en présence de cette souche.

- L'action positive sur le taux de germination et sur les premiers stades de croissance du riz est aussi considérée.

Par la méthode des suspensions-dilutions, nous avons suivi lors de la saison d'hivernage 1979 les variations des populations algales sur plusieurs traitements faisant varier le mode d'application des engrais azotés (LOYER et coll. 1982). Les cyanobactéries fixatrices et, comme nous avons mis en évidence (cf. chap. 1) leur importance, les souches non fixatrices isolées de ces sols, sont soumises à la sélection. Les souches sélectionnées, sont cultivées puis inoculées en microparcelles. L'étude des variations de leur biomasse absolue et relative pendant un premier cycle cultural (hivernage 1980) permet une deuxième sélection.

L'objectif de notre étude est, avant d'obtenir des rendements significatifs, de contrôler et d'optimiser le processus d'inoculation de cyanobactéries, l'algalisation. Pour cela, sur quatre cycles culturaux successifs, nous observerons les variations des populations algales en fonction de l'apport ou non d'engrais azoté, de l'importance de l'inoculum, de la méthode d'inoculation, de l'influence du zooplancton.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Dispositif expérimental

Un sol alluvial hydromorphe prélevé dans la zone rizicole de la vallée du fleuve Sénégal, dont la composition est donnée dans LOYER et coll. (1982) des microparcelles cubiques d'un mètre de côté, sur une hauteur de 75 cm. Les différents traitements : sans azote minéral et sans algalisation (N°A°), sans N minéral avec algalisation (N°A+), avec N minéral et sans algalisation (N+A°), avec N minéral et algalisation (N+A+), sont répétés sur quatre microparcelles choisies au hasard lors du premier cycle cultural. Les mêmes traitements sont reproduits sur les mêmes parcelles pour les cycles suivants.

2.2. Echantillonnage et analyses

A partir de la mise sous eau des parcelles, une série de prélèvements est effectuée tous les quinze jours ou toutes les trois semaines jusqu'à la récolte (tableau 3.1.). Par traitement, chaque prélèvement correspond à dix carottes de 1,33 cm² comprenant l'eau de submersion et le premier centimètre de sol pour une microparcelle. Cette densité d'échantillonnage autorise une précision supérieure à 50 % entre deux estimations de la biomasse algale par la méthode des suspensions-dilutions. Sur chaque prélèvement les opérations successives suivantes sont effectuées.

- répartition en trois flacons sérum de 500 ml pour la mesure de l'ARA (cf. chap. 2, 2-2) ;
- suspension avec une quantité suffisante d'eau déminéralisée pour un volume total de 400 ml représentant la dilution 10⁻¹ ;
- homogénéisation, filtration sur tamis 0,1 mm pour le dénombrement des ostracodes ;
- dénombrement des algues par la méthode des suspensions-dilutions ;
- dosage de l'azote minéral.

2.3. Isolement et sélection des cyanobactéries

Sur un premier cycle cultural la méthode des suspensions-dilutions permet l'isolement par micromanipulation en boîtes de Pétri gélosées à 1 % de 20 souches de cyanobactéries fixatrices et de 17 souches de non fixatrices.

A côté des mesures d'ARA réservées aux souches fixatrices (cf. chap. 2,2-2) toutes les souches subissent les tests suivants :

Résistance aux hautes intensités lumineuses : Les cultures isolées sont homogénéisées au vortex puis amenées à la même concentration (46 % d'extinction à 650 nm sur spectrophotomètre Bauch et Lomb, Spectronic 20). Elles sont exposées sur un cm d'épaisseur en erlenmeyer ouvert à la lumière du jour, trois jours de suite, dans un bain thermostaté à 30°C. Chaque soir le coefficient d'extinction est mesuré ; un pourcentage d'extinction nul correspond à la destruction totale des pigments. Après trois jours, les cultures sont centrifugées, les culots resuspendus dans du milieu BG11. Si la croissance de la souche est effective en une semaine, nous la considérons comme résistante aux hautes intensités lumineuses.

Résistance à la dessiccation: Les cultures sont mises à sécher à 40°C à l'obscurité puis les croûtes obtenues sont réhumectées ; ARA et chlorophylle a sont mesurées après 10 jours et comparées à celles d'une culture non séchée. Nous considérons les souches comme résistantes à la dessiccation lorsque des minima de 50 % de l'ARA et de 75 % de chlorophylle a sont retrouvés.

Antagonisme avec Anabaena flos-aquae : Sur une boîte de Pétri contenant 30 ml de milieu BG 11 en gélose à 1 %, les cultures des cyanobactéries et celle d'*A. flos-aquae* sont disposées stérilement dans des puits creusés. Après trois semaines on note si les deux souches se développent normalement ou si l'une inhibe la croissance de l'autre.

Effet spermosphérique : Quarante graines de riz stérilisées sont trempées dans une culture algale puis disposés dans une boîte de Pétri tapissée de papier filtre humidifié avec 5 ml d'eau déminéralisée. Après six jours de culture en serre, le nombre de graines germées, la longueur des tiges et des racines sont mesurées et comparées à une série témoin sans cyanobactéries. Les cyanobactéries ayant obtenu des valeurs significativement supérieures au témoin sont considérées comme ayant un effet spermosphérique positif. Utilisant les variétés de riz Maubérécane et I Kong Pao, nous obtenons des résultats semblables pour chaque cyanobactérie.

2.4. Préparation des inoculums

Les souches sélectionnées sont axénisées et inoculées en milieu BG 11 liquide pour obtenir 10 litres de culture en fin de phase exponentielle de croissance (REYNAUD, 1977). On effectue sur un aliquote du culot de centrifugation de cette culture un dosage des protéines, de l'azote total, une mesure d'ARA et un étalement sur boîte de Pétri gélosée afin de vérifier la

pureté de la souche. Le culot est étalé sur du papier d'aluminium, séché stérilement à 40°C et conservé en poudre jusqu'à l'inoculation. Pour l'inoculation la poudre pesée est mise en suspension dans de l'eau déminéralisée et versée à la pipette dans les microparcelles ; on connaît donc avec précision la quantité d'inoculum employée dans chaque essai. Pour permettre des comparaisons avec l'azote minéral, cette quantité est exprimée en grammes d'azote par hectare (g.N.ha^{-1}).

2.5. Protocole expérimental

Le déroulement des essais est résumé sur le tableau 3.1.

L'algalisation s'effectue une semaine après le semis du riz prégermé (densité 25 par m^2) sur un sol exondé mais non submergé ; 50 mg de molybdate de sodium m^{-2} sont ajoutés dans tous les traitements.

L'azote minéral sous forme d'urée est enfoui à raison de 13 g.N.m^{-2} la veille du semis dans les traitements N^+ .

L'insecticide carbofuran 10G est réparti à raison d'un kg de matière active à l'hectare en deux applications : une semaine et cinq semaines après le semis.

Le tourteau de neem est déposé à raison de 60 g poids sec par m^2 , ce qui correspond à un apport supplémentaire de 2 g.N.m^{-2} .

Saison de culture	Hivernage 79	Hivernage 80	Contre-saison 81	Hivernage 81	Hivernage 82
Variété de riz	I Kong Pao	I Kong Pao	KN1H300	I Kong Pao	I Kong Pao
Semis prégermé	10-7	17-7	20-2	21-8	28-6
Récolte	1-11	4-11	22-6	9-12	6-10
Précipitations mm.	170	334	0	227	350
Nb. de prélèvements	8	9	7	8	7
Inoculum algal:					
Nombre de souches	0	9	3	4	2
Concentration en g.N.ha ⁻¹		29,6	754	2513	607 puis 1311
Traitements	N°A° N+A°	N°A° N°A+ N+A° N+A+	N°A° N°A+ N+A° N+A+ N+A°C+	N°A°C+ N°A+C+ N+A°C+ N+A+C+ N+A+	N°A°I+ N°A+I+ N+A°I+ N+A+I+ N+A+I-

Tableau 3-1. Essais d'algalisation sur plusieurs cycles culturaux du riz en microparcelles de 1m². Deux grains de riz prégermés sont semés tous les 25cm. Quatre microparcelles sont affectées à chaque traitement: N° pas d'azote, phosphate et potassium dans le rapport 18-46 pour 150 kg.ha⁻¹; N+: urée enfouie à raison de 66 kg N.ha⁻¹ + P et K; A°: pas d'algalisation; A+: algalisation suivant le mode précisé dans le texte; C+: application de carbofuran 10 G: 1 kg matière active.ha⁻¹; I+: application de tourteau de neem.

3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Développement des protocoles d'algalisation sur quatre cycles culturels du riz

En respectant les protocoles d'algalisation présentés dans la littérature (VENKATARAMAN, 1972) et en les adaptant aux conditions particulières de notre zone d'étude, nous espérons obtenir un effet significativement positif sur les rendements.

A partir des tests décrits au paragraphe 2-3, nous avons sélectionné sept cyanobactéries fixatrices et deux cyanobactéries homocystées provenant des isollements obtenus lors des essais de 1979 (fig. 3-1a). L'algalisation au semis (hivernage 1980), a été effectuée avec cet inoculum composite. Le poids sec d'inoculum par hectare ($400 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$ tableau 3-1) était de l'ordre de ceux utilisés par SUBRAMANYAN et coll. (1965) et VENKATARAMAN et GOYAL (1969) soit 200 et $1\ 000 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$. Les résultats tant sur la récolte (tableau 3-2) que sur les variations de la population algale (fig. 3-1b) ont été négatifs ou nuls. Nous avons cependant mis en évidence l'importance des prédateurs et la fréquence sur l'ensemble des traitements et des prélèvements de deux souches fixatrices : *Nostoc punctiforme* et *Gloeotheca samoensis* var. *major*.

Aussi pour les essais de contre-saison 1981 (février à juin) nous avons préparé un inoculum composé des deux souches ci-dessus et d'*Anabaena flos-aquae* dont nous venions de montrer in-vitro (chap. 2, 3-4) les possibilités insecticides. L'inoculum correspondait alors à $10 \text{ kg p.s.} \cdot \text{ha}^{-1}$. Parallèlement nous avons fait un essai sans algalisation mais avec l'insecticide carbofuran.

La disparition rapide (fig. 3-1c) de l'inoculum ainsi que l'effet positif (tableau 3-2) obtenu sur la récolte de riz avec l'insecticide nous ont incités à utiliser systématiquement ce dernier pour l'essai suivant.

Saison de culture	N°A° g.m ⁻²	Variation de la récolte en grain due à :				
		L'algalisation A ⁺			L'apport d'N minéral :	
		Relative % sur N ⁺	sur N°	Absolue g.m ⁻²	N ⁺ A°/N°A° relative % absolue	
Hivernage 79 : N°A°	1008	-	-	-	-	-
N ⁺ A°		-	-	-	27	272
Hivernage 80 : N°A°	614	34	-12	-73		
N ⁺ A°		5	-39	43	45	280
Contre saison: N°A°	809	36	- 2	-16	-	-
N ⁺ A°		1	-37	14	55	442
N ⁺ A°C ⁺		- 4	-40	-57	63	513
Hivernage 81 : N°A°C ⁺	421	40	7	31		
N ⁺ A°C ⁺		2	-34	11	63	267
N ⁺ A°		9	-29	58	52	220
Hivernage 82 : N°A°1 ⁺	462	37	6	28		
N ⁺ A°1 ⁺		8	-28	57	48	223
N ⁺ A°1 ⁻		19	-21	118	35	162
Pour les 4 cycles						
d'algalisation :						
N°A° : moyenne		37	0	- 7,5		
écart-type		25	-	-		
N ⁺ A° : moyenne		4	34	31	53	303
écart-type		3	5	22	8	96

Tableau 3-2. Effet de l'algalisation (A⁺), de l'apport d'azote minéral (N⁺), du carbofuran (C⁺), du broyat de neem (I⁺) sur la récolte en riz (g.m⁻²). Les résultats sont les moyennes de 4 parcelles de 1 m².

Comme une cyanobactérie étrangère au biotope avait été introduite avec succès en Egypte (EL NAWAWY, 1972) nous avons testé les souches de notre collection et ainsi sélectionné une *Scytonema* sp. L'inoculum préparé était constitué en proportions semblables des quatre cyanobactéries fixatrices : *N. punctiforme*, *G. samoensis* var. *major*, *A. flos-aquae* et *Scytonema* sp. pour un total correspondant à 33 kg poids sec.ha⁻¹.

Il n'a pas été possible de suivre les variations des populations algales pendant l'hivernage 1981, mais un dénombrement effectué en fin de cycle de culture a montré que l'algalisation n'avait de nouveau pas été

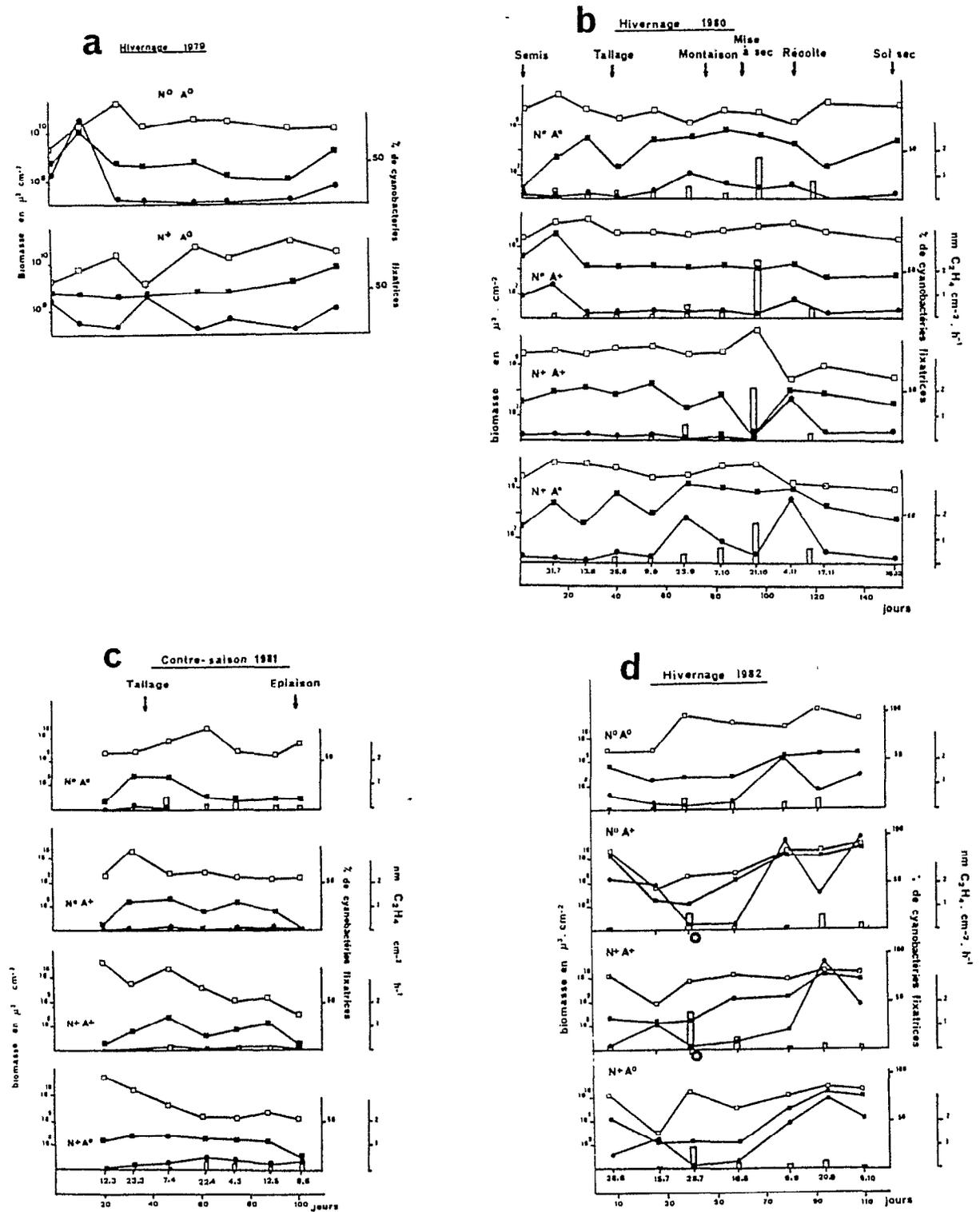


Figure 3-1: Variations de la biomasse algale totale (\square); de la biomasse de cyanobactéries fixatrices (\blacksquare) exprimées en $\mu^3 \cdot \text{cm}^{-2}$; de la biomasse relative de cyanobactéries fixatrices (\bullet); de l'activité réductrice d'acétylène (\square : $\text{nm C}_2\text{H}_4 \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$); en fonction des traitements sur quatre cycles cultureux du riz. \star : deuxième algalisation.

effective ; les souches d'*A. flos-aquae* et *Scytonema* sp. avaient totalement disparu . Le rendement en riz était légèrement supérieur avec que sans algalisation, sans toutefois que les résultats soient significativement différents (tableau 3-2).

Ainsi nous disposions pour orienter nos essais des éléments suivants :

- Les cyanobactéries sélectionnées pour leur influence positive sur la germination du riz, pour leur croissance et leur fixation d'azote élevée, même en l'absence de couvert végétal, n'avaient aucune influence positive sur le rendement du riz.

- De plus, même avec une inoculation très importante, elles disparaissaient ou devenaient des composantes accessoires de la flore algale totale, en moins de deux mois, tout comme dans les essais en vase de végétation (REYNAUD, 1981).

- Les études écologiques du chapitre 1 montraient que les cyanobactéries fixatrices atteignaient leur développement maximal en fin de cycle de culture.

- L'utilisation d'un insecticide était indispensable pour une augmentation de rendement.

Les essais de l'hivernage 1982 comporteront donc une première inoculation au semis (8 kg poids sec.ha⁻¹) et une seconde au tallage (17 kg poids sec.ha⁻¹). des deux souches autochtones. Le carbofuran sera remplacé par le broyat de neem à la concentration déterminée par les essais *in vitro* (chap. 2, 3-4-2). Nous établissons que l'algalisation est inutile au semis et effective au tallage (fig. 3-1d), quoique le rendement en grain ne soit pas très supérieur. Les essais poursuivis sur les cycles suivants pourraient sans doute comme WATANABE (1962) l'a montré au Japon avoir un effet résiduel et cumulatif.

3.2. Effets de l'algalisation

3.2.1. Sur le rendement en riz

Pour permettre des comparaisons avec l'analyse bibliographique de ROGER et KULASOORIYA (1980) sur les effets de l'algalisation, nos résultats sont présentés sous la même forme (tableau 3-2) :

- les rendements moyens en grains sur les traitements témoins N°A° ;
- les variations relatives et absolues dues à l'algalisation sur les traitements avec et sans engrais azoté (N⁺A⁺, N°A⁺).
- les variations relatives et absolues dues à l'apport d'engrais azoté N⁺.

Les traitements N⁺ ont des rendements significativement supérieurs (56 %) aux traitements N°. Par contre il n'y a pas de différence entre les traitements N°A° et N°A⁺. Si les rendements de N+A⁺ sont supérieurs à ceux de N+A° (4 %), la différence n'est pas significative. Seule l'algalisation de 1982 a eu une influence positive sur le rendement (+6 % sans N et + 8 % avec N).

Les rendements moyens dans nos essais en microparcelle sont deux fois supérieurs à ceux obtenus pour les essais aux champs : 5,8 t.ha⁻¹ pour les témoins N°A° contre 3 t.ha⁻¹ (cf. : ROGER et KULASOORIYA, 1980). Ces forts rendements s'expliquent par une limitation des pertes d'azote par dénitrification (maîtrise complète de l'irrigation) et par percolation (parcelles étanches). Bien qu'en général l'effet positif de l'algalisation soit plus important en microparcelles que dans les essais en rizières, il est possible qu'il soit masqué dans nos expériences par les faibles pertes d'azote minéral.

3.2.2. Sur la biomasse algale

Les variations de la microflore algale sont rapportées sur la figure 3-1 pour quatre cycles du riz. La biomasse algale totale varie quel que soit le traitement:

entre 1.10^9 et $1.10^{10} \mu^3.cm^{-2}$, ce qui correspond à 1 tonne.ha⁻¹ ou à 7 à 8 kg d'N₂.ha⁻¹.

La biomasse des cyanobactéries fixatrices ne dépasse pas $1.10^9 \mu^3.cm^{-2}$ dans les premiers essais d'algalisation. Toutefois ces valeurs absolues et relatives augmentent régulièrement pendant le cycle du riz pour atteindre au moment de la récolte un maximum de 50 % de la biomasse totale (N+A⁺ : hivernage 1980).

Pour l'hivernage 1982, on note une nette augmentation de la population algale fixatrice, absolue ou relative, à partir de la 2^e algalisation ; cette augmentation est plus importante dans le milieu sans azote minéral : le pourcentage de cyanobactéries fixatrices atteint 95 % dès la montaison.

Pour estimer le devenir de l'inoculum utilisé, nous avons comparé les structures du peuplement pour les taxons autochtones et les espèces introduites sur les traitements sans azote avec et sans algalisation pour les hivernages 80 et 82 à l'aide d'un *indice d'abondance* (ai) de chaque biomasse de taxon (bt) par rapport à la biomasse algale totale (BT) calculée par la moyenne de la biomasse de chaque prélèvement :

$$ai = \frac{\sum bt.}{Ni} \cdot \frac{1}{BT} \times 100 \quad Ni : \text{nombre de prélèvements où le taxon est présent}$$

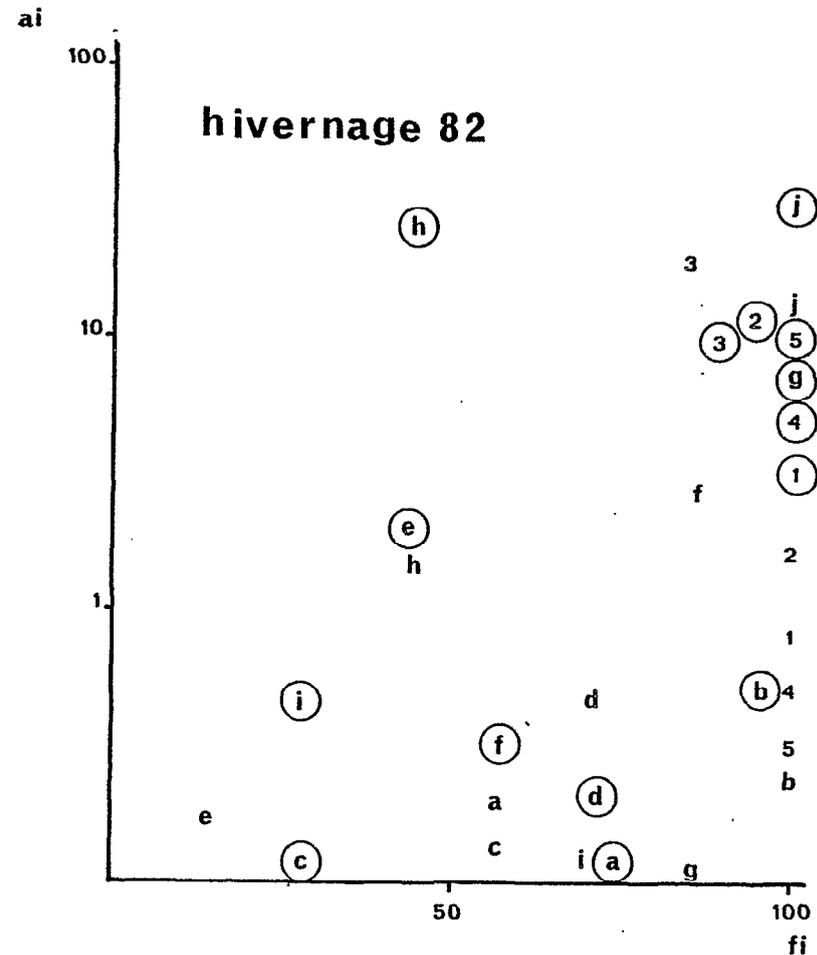
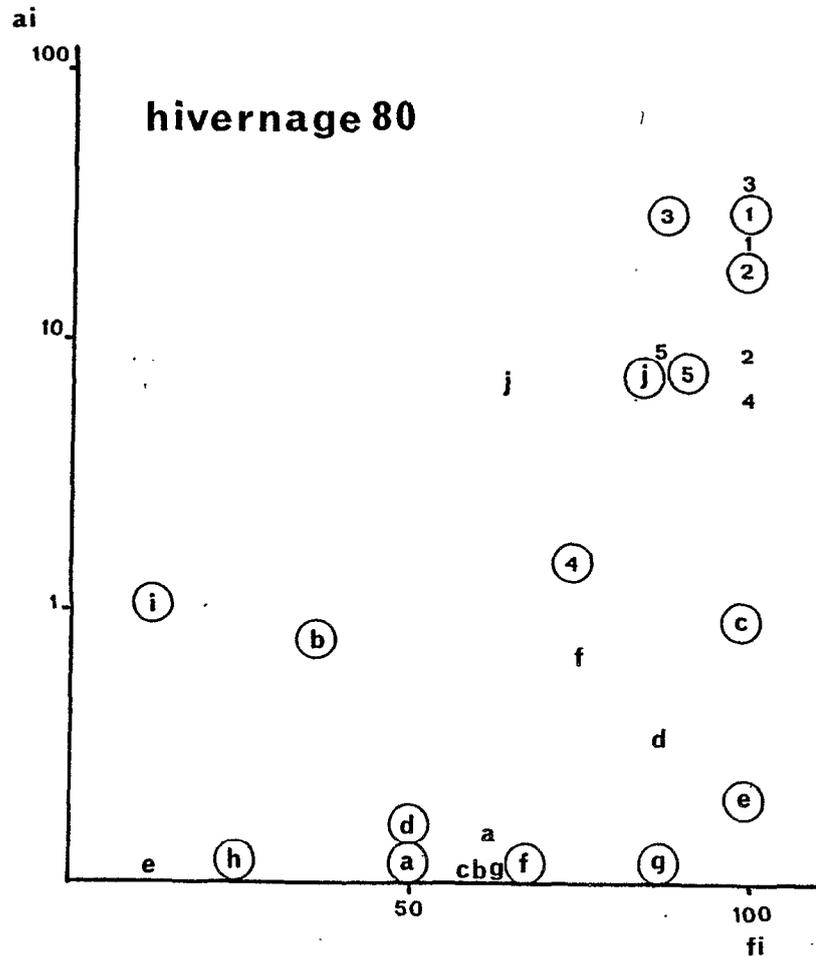


Figure 3-2. Structure des biomasses de cyanobactéries dans les essais d'algalisation en microparcelles pour les hivernages 1980 et 1982: combinaison graphique des valeurs des indices spécifiques d'abondance: ai, et de fréquence fi, sur les traitements sans azote minéral: N°A° et N°A⁺ (valeurs encerclées). Taxon: 1: *Pseudanabaena* sp., 2: LPP, 3: *Lyngbya* sp., 4: *Chlorophycées*, 5: *Navicula* spp.; a: *Nostoc* 1, b: *Scytonéma* sp.; c: *Nostoc* 2; d: *Anabaena* 1; e: *Anabaena* 2; f: *Anabaena* 3; g: *Nostoc punctiforme*; h: *Nostoc muscorum*; i: *Calothrix* spp.; j: *Gloeotheca samoensis* var. *major*-(description en annexe 2).

et d'un *indice de fréquence*: $fi = \frac{Ni}{Nt} \times 100$ Nt : nombre total de prélèvements.

La combinaison graphique de ces deux indices (fig. 3-2) met en évidence l'importance relative des taxons sur l'ensemble des prélèvements.

Ils pourront être classés en trois groupes :

- les taxons dominants : ai > 10 % ; fi > 75 %
- les taxons secondaires: ai > 1% ; fi > 50 %
- les taxons accessoires : ai < 1 %

Pour l'hivernage 1980, les taxons dominants et secondaires sont les formes non fixatrices d'azote, avec ou sans algalisation, à l'exception du taxon Gloeotheca. Toutes les espèces inoculées restent parmi les taxons accessoires sans que leur réintroduction dans les microparcelles amène des différences significatives.

A l'opposé, lors de l'hivernage 1982, les deux souches inoculées font partie des taxons dominants ; surtout dans le cas de *Nostoc punctiforme* (g), la différence est très significative entre les traitements N° A° et N° A⁺. Au niveau du devenir de l'inoculum, nous avons là l'exemple d'une algalisation réussie.

3.2.3. Sur la fixation d'azote

La fixation d'azote mesurée par l'ARA sur les prélèvements de sol dans des conditions constantes au laboratoire n'a qu'une valeur indicative. Elle devrait permettre de déterminer si la fixation se développe en présence d'un inoculum algal ou en l'absence d'azote minéral. Lorsque l'on considère les valeurs moyennes obtenues par les trois séries d'essais (fig. 3-1b, c, d), il n'y a aucune différence significative entre les traitements. De plus, et comme nous l'avons montré précédemment (TRAORE et coll. 1978), un pic d'ARA peut se développer à tout moment lors du cycle cultural. On peut toutefois observer que l'ARA est plus importante après, qu'avant le tallage. Le pic maximum est obtenu avec la mise à sec de la rizière pendant l'hivernage 1980 ; la masse d'eau pourrait avoir un effet négatif sur le processus.

Sur la moyenne des mesures de 1982, l'ARA augmente de 39 % entre N° A° et N° A⁺, de 28 % entre N⁺A° et N° A° ; il n'y a pas de différence entre N⁺A⁺ et N⁺A°.

Lors d'une algalisation réussie l'azote minéral limite l'ARA.

3.2.4. Sur l'azote total de l'horizon de surface

Le dosage de l'azote sur l'horizon de surface peut représenter une

autre forme d'estimation de l'algalisation si les résultats sont les valeurs moyennes considérées sur plusieurs cycles (fig. 3-3).

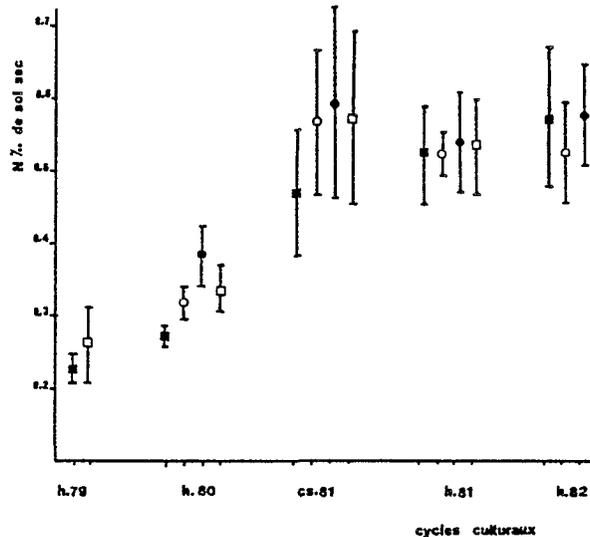


Figure 3-3 : Valeurs moyennes de l'azote total (N % g de sol sec) dans le premier centimètre de sol, représentées pour cinq cycles culturaux du riz : ■ N° A° ; □ : N+A° ; ○ : N° A+ ; ● : N+ A+

Les valeurs sont 16% plus fortes pour les traitements A+ lors de l'hivernage 1980 mais dès le cycle suivant (contre-saison 1981) l'azote total augmente et il n'y a plus de différences significatives entre les traitements. Comme cet azote est dû en grande partie à l'activité de la microflore, on peut considérer qu'après deux cycles culturaux elle a atteint une composition équilibrée entre les formes fixatrices, nitrifiantes, dénitrifiantes... Sur l'hivernage 1982, il n'y a pas de différences mais l'effet de l'algalisation sur l'augmentation de l'azote de surface devrait être mesuré sur un cycle suivant, car il est cumulatif tout au long du cycle.

3.3. Variations des populations algales

3.3.1. En fonction de l'apport d'engrais azoté

Nous avons déterminé en comparant les variations des populations algales en présence ou en l'absence d'engrais azoté (LOYER et coll. 1982, Fig. 10) que trois situations peuvent se produire.

En l'absence d'engrais azoté : la biomasse algale est constituée, avant le 40^e jour de culture (soit avant la fin du tallage), principalement de cyanobactéries homocystées, puis de chlorophycées et de diatomées. Après le 40^e jour cette biomasse décroît régulièrement jusqu'à la mise à sec, bien

que l'on note une augmentation significative des formes fixatrices d'azote en fin de cycle.

En présence d'engrais azoté disposé à la surface du sol : la biomasse des chlorophycées et des diatomées augmente régulièrement jusqu'au 80^e jour (épiaison), puis diminue en rapport inverse avec la densité du couvert végétal et l'augmentation du pH. Les cyanobactéries homocystées constituent dans ce cas en fin de cycle, l'élément principal de la biomasse algale, alors que la biomasse absolue et relative des formes fixatrices diminue.

En présence d'engrais azoté enfouí : les variations chez les eucaryotes sont semblables à celles du cas précédent mais par contre la biomasse des cyanobactéries fixatrices augmente régulièrement pendant toute la durée du cycle végétatif.

Ce traitement a été choisi comme témoin azoté (N^+A^0) pour nos essais d'algalisation.

3.3.2. En fonction des précipitations

Nous avons relié, quel que soit le traitement, une diminution ou, au moins une stagnation de l'ensemble des constituants de la microflore algale à la violence des précipitations survenues en début de cycle.

Sur l'ensemble de nos essais nous avons pu comparer 22 couples de valeurs correspondant à des biomasses algales totales de même qu'à des biomasses de cyanobactéries fixatrices, évaluées avant et après de fortes précipitations. Les variations de ces biomasses sont significativement inférieures au risque de 10 % (test de STUDENT) après les précipitations. Ces variations sont atténuées en fin de cycle par la protection du couvert végétal.

3.3.3. En fonction de l'application de broyat de neem

L'action du carbofuran, carbamate systémique, sur les insectes parasites du riz et sur le zooplancton cyanophage, c'est traduite par une augmentation des rendements pour les essais $N^+A^0C^+$ de la contre-saison et de l'hivernage 1981 (tableau 3-2). Comme NAYAK et coll. (1980) l'ont montré pour d'autres insecticides, il a une influence négative sur la fixation d'azote. En effet, en comparant les valeurs moyennes de l'ARA sur cinq séries de prélèvements correspondant aux mêmes stades de développement du riz, pour les traitements $N^0A^0C^+$, $N^+A^0C^+$ et N^0A^0 , N^+A^0 , on constate une activité dix fois plus forte dans les traitements sans carbofuran.

D'autre part l'introduction d'*A. flos-aquae* (contre-saison 1981) n'a pas eu d'influence sur le développement des ostracodes, car soit certains facteurs biotiques (CARMICHAEL et GORHAM, 1977), soit la température (OSAFIANA et ALEXANDER, 1981) ont inhibés la formation et l'exudation d'anatoxine a.

Aussi nous avons utilisé le broyat de graines de neem comme agent insecticide (I^+) ; mais son spectre d'action n'est pas limité aux ostracodes (MARIAPPAN et coll., 1982, HO et KUKUBA, 1983) ; nous avons considéré, pour l'hivernage 1982, son effet sur l'ARA (fig. 3-4B) et sur la biomasse des cyanobactéries (fig. 3-4C) tout au long du cycle.

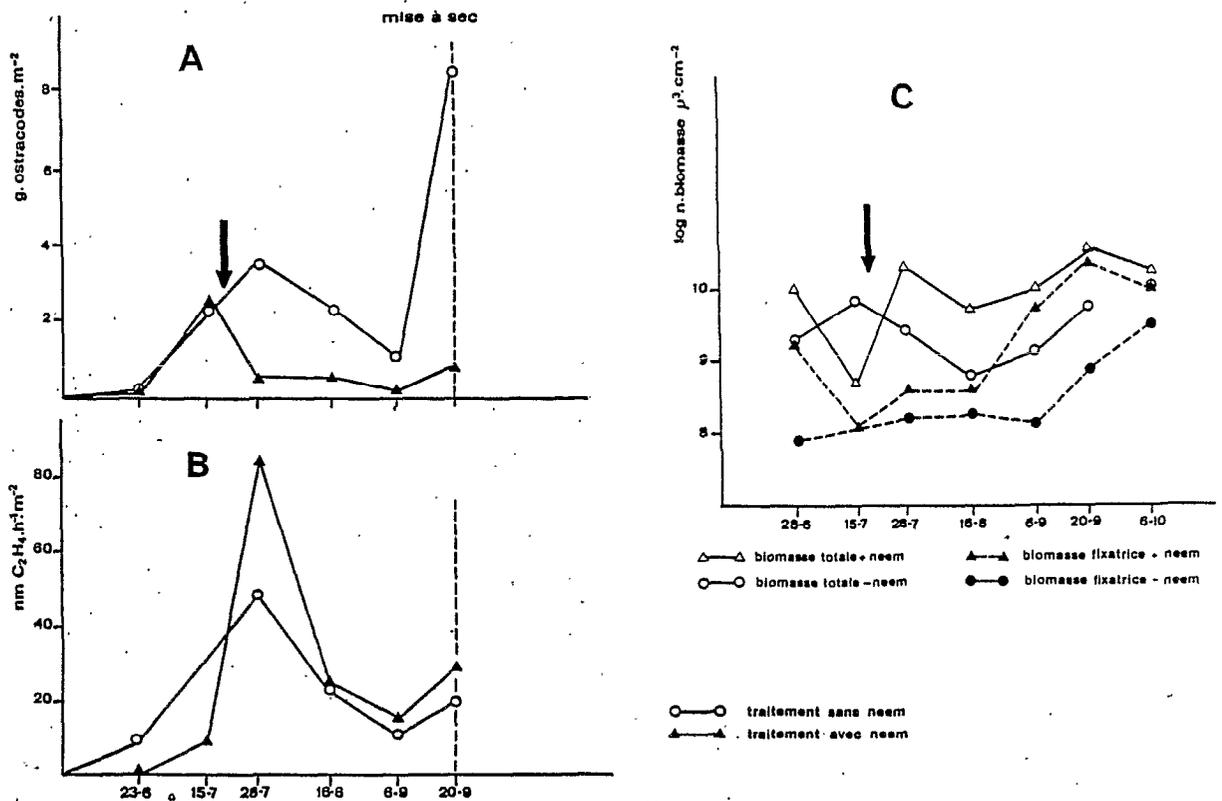


Figure 3-4 : Effet de l'introduction de broyat de graines de neem:60 g.m⁻², (flèche) pendant le cycle de culture du riz de l'hivernage 1982 pour les traitements N⁺A^o sur :

- A : la population d'ostracodes (g.m⁻²) ;
- B : l'ARA ;
- C : la biomasse algale totale et la biomasse de cyanobactéries fixatrices.

L'introduction du broyat a un effet immédiat et durable sur la population d'ostracodes qui disparaît presque totalement (fig. 3-4 A). Inversement la biomasse algale totale devient 10 fois plus importante (fig. 3-4 C). Cet effet positif est plus lent à apparaître pour la biomasse de cyanobactéries fixatrices ; ce n'est que plus d'un mois après l'introduction du broyat de

neem que la différence est très significative ($10 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ avec I^- et $500 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ avec I^+). L'activité réductrice d'acétylène est toujours plus importante dans le traitement I^+ (fig. 3-4B) mais les différences sont peu marquées car les mesures sont effectuées sur les traitements avec azote minéral. On notera l'absence totale de corrélation entre ARA et biomasse fixatrice.

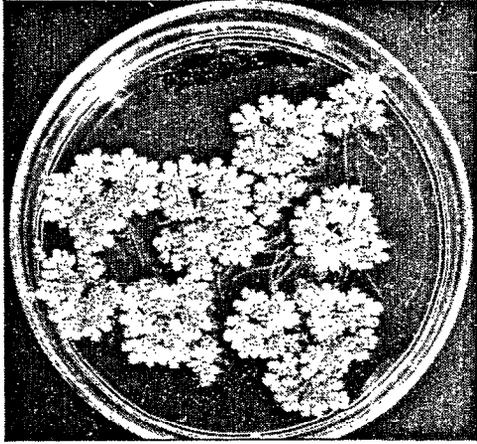
4. CONCLUSION

Nous avons établi au chapitre 1 que l'évolution normale des conditions édaphiques de la rizière, en zone tropicale sèche, amenait un développement des cyanobactéries fixatrices unicellulaires puis hétérocystées. La population algale passe, au regard de ses potentialités fixatrices d'azote, de l'état accumulatif à l'état évolutif. Les essais d'inoculation en microparcelles montrent que c'est lors de ce changement d'état et non au début du cycle que l'algalisation peut réussir; c'est à dire 30 à 40 jours après le semis, au moment du tallage. Alors le couvert végétal ne laisse passer que 50 % de l'intensité lumineuse incidente (LOYER et coll., 1982) et le pH est stabilisé.

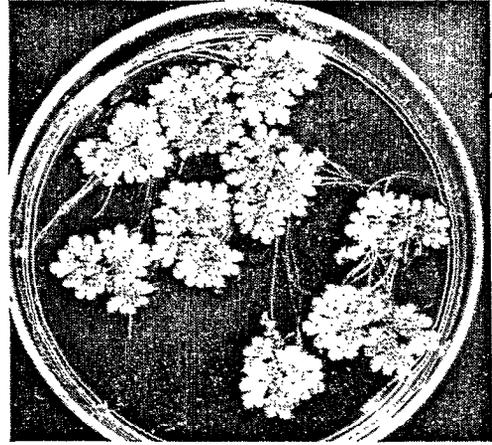
Si le principe de la sélection de souches issues du biotope à algaliser demeure essentiel dans la mesure où il est difficile de contrôler certains facteurs biotiques, des critères tels que la résistance aux hautes intensités lumineuses et l'effet spermosphérique deviennent secondaires.

Une algalisation au tallage impose une deuxième algalisation sur le cycle de culture suivant afin d'estimer les effets cumulatifs et résiduels sur le rendement en grain. Ces effets seront encore augmentés par l'apport de broyat de neem qui, à côté de son action insecticide, permet de décupler la biomasse algale totale et fixatrice et donc les potentialités de fixation biologiques.

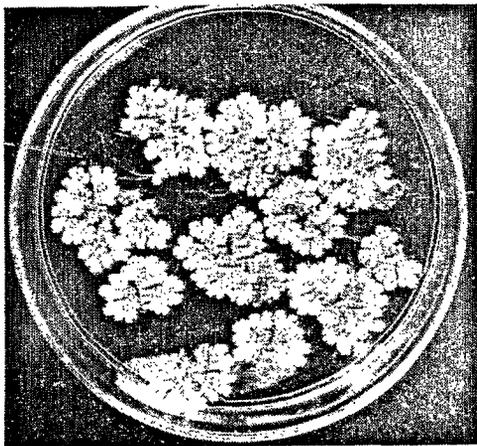
CHAPITRE 4: ECOPHYSIOLOGIE DE LA SYMBIOSE AZOLLA PINNATA VAR. AFRICANA-
 ANABAENA AZOLLAE



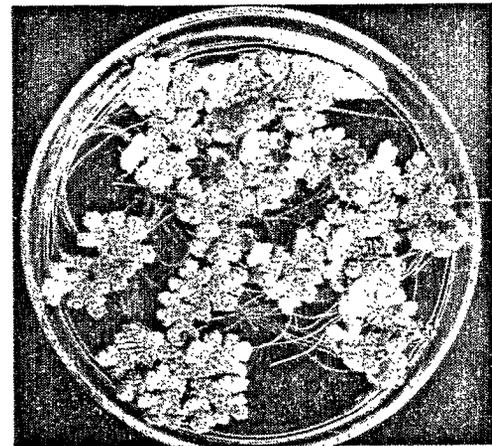
4-1A: *A. caroliniana*



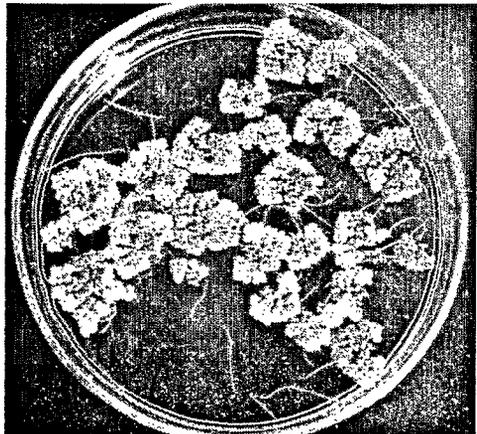
4-1B: *A. filiculoides*



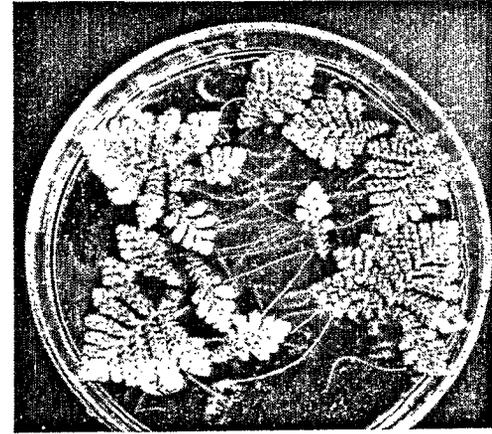
4-1C: *A. mexicana*



4-1D: *A. microphylla*



A. pinnata : 4-1E = var. *imbricata*;



4-1F : var. *africana*

Figure 4-1. Frondes des quatre espèces de *Euazolla* (4-1A-4-1D) et de deux variétés d'*A. pinnata* cultivées sur milieu Roger et Reynaud (1979) au laboratoire de Dakar - échelle 1.

I. INTRODUCTION

Les études que nous avons effectuées sur l'écophysiologie des cyanobactéries libres permettent d'envisager les possibilités d'algalisation dans le cadre de la riziculture en zone tropicale sèche. Il n'en demeure pas moins que le stade expérimental n'a pas été dépassé. Aussi nous avons été amené à différencier nos recherches et à considérer la cyanobactérie en tant que partenaire symbiotique de la fougère aquatique Azolla.

Avant toute autre considération le premier avantage de cette association symbiotique est d'être observable à l'oeil nu et donc de simplifier la méthodologie.

De plus, près de 800 publications ont été écrites depuis le début du siècle sur Azolla, tout d'abord d'identifications taxonomiques, puis d'observations agronomiques, avant d'arriver dans les années 70 aux essais agronomiques et aux études physiologiques de la symbiose (CAPAYA, 1979, REYNAUD et coll. 1979, MOORE et coll. 1980).

Le genre Azolla se divise en deux sous-genres différenciés par le nombre de flotteurs des mégaspores et les glochidies (MOORE, 1969).

Les Euazolla (3 flotteurs, glochidies cloisonnées et péritriches) sont représentées par *Azolla caroliniana* Willdenow (1810) Fig. 4-1A; *A. filiculoides* Lamarck (1783) - Fig. 4-1B; *A. mexicana* Presl (1845) - Fig. 4-1C; *A. microphylla* Kaulfuss (1824) Fig. 4-1D; toutes originaires d'Amérique.

Les Rhizosperma (9 flotteurs, glochidies non cloisonnées ou absentes) comprennent: *A. nilotica* Decaisne (1867) provenant de l'est africain et *A. pinnata* provenant d'Asie (variétés *pinnata* R. Brown (1810) ou *imbricata* Roxburgh (1881) Fig. 4-1E) ou d'Afrique (variété *africana* Desvaux (1827) Fig. 4-1F).

La variété A. pinnata var. africana est distribuée dans tous les pays d'Afrique tropicale: l'herbier du Museum d'Histoire Naturelle à Paris rassemble 66 échantillons, provenant de 18 pays (tableau 4.1), et les dernières enquêtes la situent aussi dans les pays suivants : Botswana, Burundi, Guinée, Malawi, Mozambique, Libéria, Sierra Leone, Soudan, Tanzanie, Zambie. Or il n'existe qu'une quinzaine de publications sur les souches africaines et seulement cinq sur les études physiologiques et agronomiques d'A. africana (quatre de notre laboratoire et TON THAN TRINH, 1980). Azolla africana a été tout d'abord mentionnée par J. Berhaut (1967) au Niombato et en Casamance, puis par Lebrun (1973). Un document O.R.G.A.T.E.C. (1979)

Pays	Premier échantillon recueilli par :	Localités	Nbre d'échantillon secs stockés au M.H.N.	Informations d'ordre écologique
ANGOLA	1858 Major A. von Mechow	Banza de Libongo	3	1
BENIN	1910 A. Chevalier	Porto Novo	1	0
CAMEROUN	1894 J. Brauw	Yaoundé	11	3
CONGO	1889 F. Hens	Stanley Pool	6	4
COTE D'IVOIRE	1936 P. Chouard	Agnebi	3	3
GABON	1926 M. Le Testu	Hte Ngounye	2	1
GAMBIE	1890 J. Brown-Lester	Rizières	1	0
GHANA	1951 C.D. Adams	Ada	1	0
GUINEE C.	1954 R. Schnell	Koba	3	3
MADAGASCAR	1798 G.F. Scott Elliot	Rizières	19	12
MALI	1937 M. de Wailly	Gao	2	1
R.C.A.	1903 A. Chevalier	Confluent Badi-Chari	4	3
RWANDA	1978 J. Raynal	Akagera	1	1
SENEGAL	1954 R.P. Berthaut	Nema	2	0
TCHAD	1964 J. Raynal	Bir Barka	2	2
TOGO	1931 G. Mahoux	Nahkone	1	1
ZAIRE	1908 H. Vanderyst	Kimpasa	3	2
ZIMBABWE	1958 G.F. Cunningham	Chutes Victoria	1	1

Tableau 4.1 : Répartition des échantillons d'Azolla pinnata var. africana conservées dans l'herbier du Muséum d'Histoire Naturelle (Paris) avec mention de la date et de la localisation du premier échantillon recueilli pour chaque pays et le nombre d'échantillons possédant quelques informations écologiques.

signale une Azolla sans mention de l'espèce dans le lac de Guiers en présence de Pistia stratiotes, de Lemna, de Wolffia, de Rotala, de Spirogyra et d'Eichornia.

Au cours de 8 années de prospections dans les rizières du Sénégal (1970-1978), nous n'avons pu observer qu'une seule fois (1972) un développement d'Azolla, dans une parcelle expérimentale de l'Institut Sénégalais de la Recherche Agronomique (Station de Djibélor, Casamance). Aucune précision n'a pu nous être fournie quant à l'origine de ce développement qui ne s'est plus reproduit les années suivantes.

Nous avons trouvé Azolla en 1977 dans le petit cours d'eau permanent de Bantankoutouye (moyenne Casamance; sud du Sénégal), où elle se développe au sein d'une végétation aquatique dominée par les carex (Fig. 4-2).

Dans la même région, elle a été relevée dans la vallée de Fangotte, et depuis 1978, on la retrouve un peu partout en basse Casamance. Le Docteur P. Jara l'a identifié en 1980 dans la vallée de Koular au Sine Saloum. Une série de tournées nous a permis de l'observer dans les vallées de Néma, de Djiboya, d'Hamdallaï Vilane en saison sèche, de Guilor et de Sourï en saison humide (Fig. 4-2).

Ces observations permettent une première définition de la niche écologique d'Azolla : elle est située dans un faciès lentique, c'est une plante qui, lorsqu'elle se rencontre en dehors de l'ombrage du riz ou des carex a une teinte rouge pourpre. La profondeur de l'eau n'est pas un facteur limitant, elle varie de 3cm à 1m, le pH des eaux est très variable: de 6,4 à Néma, à 8,5 à Bantakoutouye.

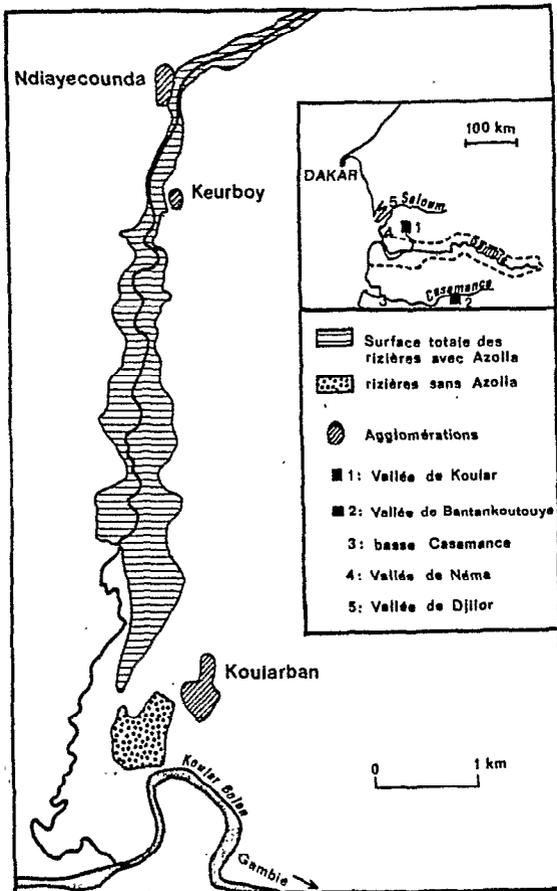


Figure 4-2: Distribution d'*Azolla pinnata* var. *africana* dans le sud du Sénégal et limite de sa répartition dans la vallée de Koular. Les rizières sans *Azolla* sont atteintes chaque année par les grandes marées qui remontent le fleuve Gambie.

Sans que l'on puisse vraiment parler d'effet de groupe, les frondes par suite de leur multiplication végétative sont étroitement accolées. Les frondes jeunes se superposent aux frondes en décomposition; la vitesse de croissance n'est pas favorisée par leur dispersion; l'agitation due aux courants et aux vents leur est défavorable (Ashton et Walmsley, 1976).

Le peu d'informations sur *A.P.var.africana* nous conduit tout d'abord à décrire sa morphologie puis à étudier, comme dans le cas des cyanobactéries libres, les facteurs abiotiques et biotiques limitant sa croissance et sa fixation d'azote. Une souche d'*A. caroliniana* testée dans les mêmes conditions, permet d'établir des comparaisons entre les propriétés physiologiques des deux espèces.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Souches utilisées

Azolla pinnata var. africana a été d'abord prélevée dans la vallée de Bantankoutouye (Moyenne Casamance) puis dans les vallées de Koular et de Néma (Sine-Saloum) beaucoup plus proches de Dakar (Fig. 4-2). Azolla caroliniana provenant du Sud-Est des Etats Unis nous a été aimablement procuré par Mr. H.F. Diara de l'Association pour le Développement de la Riziculture en Afrique de l'Ouest (A.D.R.A.O.) Richard-Toll.

Les observations microscopiques ont été effectuées au microscope stéréoscopique WILD M 400 x 63-32 et au microscope ZEISS 35.

Pour une lecture simplifiée, nous remplacerons dans le texte Azolla pinnata var. africana par Azolla africana.

2.2. Milieu et culture de référence

La conservation et la production d'inoculum d'Azolla africana et d'Azolla caroliniana sont effectuées dans des bacs en plastique de 20cm de côté contenant 2 l de milieu de culture sans azote (Tableau 4-2) et 500 g de sol de rizière. Les bacs sont placés dans une serre où l'intensité lumineuse maximale reçue au cours de la journée est de 30.000 lux environ. Le milieu de culture est renouvelé tous les 15 jours.

Les concentrations des différents éléments ont été calculées pour permettre un temps de génération de 3 jours sans renouvellement du milieu pendant 2 semaines (Roger et Reynaud, 1979).

Tableau 4-2. Solutions concentrées:

1 : KCl.....	29,6 g.l ⁻¹
2 : CaCl ₂	88,2 g.l ⁻¹
3 : KH ₂ PO ₄	27,2 g.l ⁻¹
4 : MgSO ₄	98,4 g.l ⁻¹
5 : — citrate de fer III.....	1,2 g
— acide citrique.....	1,2 g
— eau q. s. p.....	1 l
6 : H ₃ BO ₃	2,84 g
— ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	0,202 g
— Na ₂ MoO ₄ , 2 H ₂ O	0,387 g
— CuSO ₄ , 5 H ₂ O	0,075 g
— CoCl ₂ , 6 H ₂ O	1,19 g
— MnSO ₄ , H ₂ O	0,845 g
— eau q. s. p.....	1 l
7 : Ca (NO ₃) ₂	147,6 g.l ⁻¹

Le milieu de croissance en l'absence d'azote minéral est obtenu en versant 5 ml des solutions 1 à 5 et 1ml de la solution 6 dans 800ml d'eau distillée. Le volume total est ensuite ajusté à 1 l. Le milieu pour croissance sur azote minéral est obtenu en remplaçant la solution 2 par la solution 7. Le pH du milieu est de 5,4. Le poids frais des frondes est estimé après égouttage, rinçage à l'eau déminéralisée et séchage sur papier buvard. Le poids sec est mesuré après une dessiccation des frondes 48h dans une étuve à 50°C. Pour les études physiologiques, Azolla est cultivée dans le même type de bac, avec les milieux particuliers et sans sol; le niveau du milieu est réajusté avec de l'eau déminéralisée. Le temps de génération (tg), intervalle de temps pendant lequel le \log_2 de la population augmente d'une unité est calculé en utilisant la formule :

$$tg = \frac{t}{\log_2 X_t - \log_2 X_0}$$

X_0 et X_t sont les poids frais d'Azolla au moment de l'inoculation et après un temps de croissance de t jours.

Pour l'obtention de courbes de croissance annuelle, Azolla est cultivée dans huit bacs de $1m^2$, quatre bacs sous ombrage et quatre sans ombrage. Tous les 15 jours la moyenne X_t des poids frais d'Azolla est établie dans les 2 cas, 200 g sont réinoculés par bac (X_0) et le milieu de culture est renouvelé: $tg = \frac{15}{\log_2 X_t - \log_2 200}$

2.3. Mesure de l'activité réductrice d'acétylène (ARA)

Les mesures sont effectuées dans des flacons sérum de 125ml, contenant 1 ou 2 g de matériel végétal frais et 20ml de milieu de culture sans azote, sous une atmosphère air-acétylène 9/1 (v/v). Durant l'incubation en présence d'acétylène, les flacons sont exposés à une intensité lumineuse constante de 1700 lux dans une étuve à 30°C. Les prélèvements gazeux sont effectués à 30' et à 60' puis les flacons sont aérés jusqu'à la prochaine incubation. Les résultats sont donnés en mM C_2H_4 produites par g de poids frais d'Azolla par heure d'incubation. Pour les expériences à long terme, afin d'éliminer les variations liées aux changements des paramètres climatiques, les résultats ont été exprimés en % de l'activité mesurée dans un traitement témoin.

2.4. Protocoles expérimentaux pour les mesures de l'ARA in vitro

a) *L'influence de l'intensité lumineuse* est testée en mesurant les variations journalières de l'ARA sur des échantillons placés sans, ou sous, une et trois toiles moustiquaires laissant respectivement

passer 100, 60 et 22% de l'intensité lumineuse incidente.

b) *L'influence de la température* sur l'ARA est testée sur des échantillons placés en pleine lumière dans des bains à 25, 30, 35, 37,5 et 40°C. Afin d'éliminer les variations liées aux changements d'intensité lumineuse au cours de la journée, les résultats sont exprimés en pourcentage de l'activité mesurée à la température la plus basse (25°C), dans les mêmes conditions d'éclairement.

c) *L'influence de l'humidité relative* est testée sur 3 frondes lavées et égouttées, disposées dans un bécher de 10ml, lui-même déposé au fond d'un flacon sérum de 125ml contenant 15ml de chaque solution saturée des sels suivants qui déterminent, d'après Winston et Bates (1960), les humidités relatives à 25°C: K_2SO_4 : 98%; NaCl : 75,5%; $NaNO_3$: 64%; $CaNO_3(4H_2O)$: 50,5%; $CaCl_2(6H_2O)$: 29,5%. Les mesures d'ARA sont les moyennes de 5 béchers. Lorsque nous observons l'effet des variations de l'humidité relative de 98% à 30% en 6 h sur l'ARA, les béchers restent une heure dans chacune des solutions salines, les mesures d'ARA sont effectuées à h.r. 98% et 30%; les béchers restent ensuite dans les flacons sérums à h.r. 30% ou des mesures d'ARA sont effectuées à 10 h, 24 h, et 31 h.

3. RESULTATS

3.1. Analyse morphologique

Azolla pinnata var. africana a été décrite par Desvaux (1827); nous rappellerons qu'elle relève du sous-genre *Rhizosperma* caractérisé par des massulas aux appendices non glochidiés et des mégaspores pourvues de 6 à 9 flotteurs (Lawalrée, 1976). Avec l'appui de planches photographiques (4-3 à 4-5), nous préciserons quelques détails.

Une fronde dépasse rarement 3cm de long et 2,5cm de large; elle est composée d'un rameau principal horizontal avec une extrémité apicale et une extrémité en dégénérescence; ce rameau porte à chaque entre-noeud un rameau secondaire facilement détachable dont la taille diminue en allant vers l'apex; *l'ensemble présente un aspect triangulaire à deltoïde* (photo 4-3A).

Les racines sont disposées par groupes de 2 à 3 avec la plus vieille située la plus proche du rameau principal (photo 4-4); elles ont entre 1 et 5cm de long suivant les conditions de culture. Les racines jeunes sont vert cru, entièrement recouvertes d'une coiffe qui s'exfolie pour libérer des poils absorbants groupés en touffes et disposés alternativement tous les 0,08mm (photo 4-4C).

Les feuilles sont composées de 2 lobes, l'un flottant, l'autre immergé. Le lobe supérieur ovoïde de 0,8-1,6 x 0,4-1 mm a une marge hyaline; il porte sur la face supérieure de courts poils coniques et sur la face interne des cellules disposées en écailles (photo 4-3B); la partie centrale est fortement pigmentée, elle contient la cyanobactérie symbiote Anabaena azollae (photo 4-3D). Le lobe inférieur légèrement plus grand est composé d'une seule couche de cellules il enveloppe la face interne du lobe supérieur en emprisonnant une bulle d'air; cette disposition permet à la fronde de se maintenir toujours, dès qu'elle est sur l'eau, dans sa position naturelle.

Les sporocarpes situés à la base des lobes inférieurs sont visibles lorsque les conditions du milieu favorisent leur développement. Les microsporocarpes de 1,7mm de diamètre sont roses ou vert clair avec un apex noir, ils sont souvent groupés par deux dans la même indusie. Il arrive qu'un seul se développe normalement, le second, vide, est accolé au premier. La croissance des macrosporocarpes de 0,85 x 0,48mm, ogivaux, jaunes, à apex noir, est plus tardive, les microsporocarpes les cachent; on ne rencontre jamais qu'une spore de chaque sexe dans la même indusie (photo 4-5A), ainsi la prolifération des microspores non appariées peut être

Figure 4.3. Le sporophyte d'Azolla pinnata var. africana

A. Frondes hastées et auriculées développant autour d'un rameau principal (rp) des rameaux secondaires (rs) et des rameaux tertiaires (rt) disposés alternativement:

a: apex, d: extrémité en dégénérescence.

La barre représente 1cm.

B-C: Disposition des feuilles: B près de l'apex. Les feuilles sont imbriquées les unes dans les autres, les lobes inférieurs ou ventraux (lv) enveloppent en partie les lobes supérieurs ou dorsaux (ld). C: 2 feuilles matures montrant la position des 2 lobes et la disposition des cellules épidermiques.

Pa: point d'abscission. La barre représente 0,5mm.

D: A l'intérieur du lobe dorsal: Anabaena azollae: h: hétérocyste, cv: cellule végétative, pa: poil absorbant facilitant les échanges entre les 2 partenaires de la symbiose.

La barre représente 10µm.

E: poils épidermiques (pe) sur la face supérieure du lobe dorsal.

F: disposition en écaille des cellules épidermiques de la face inférieure du lobe dorsal.

G: le lobe ventral est formé d'une seule couche de cellules palissadiques.

E, F, G: la barre représente 50µm.

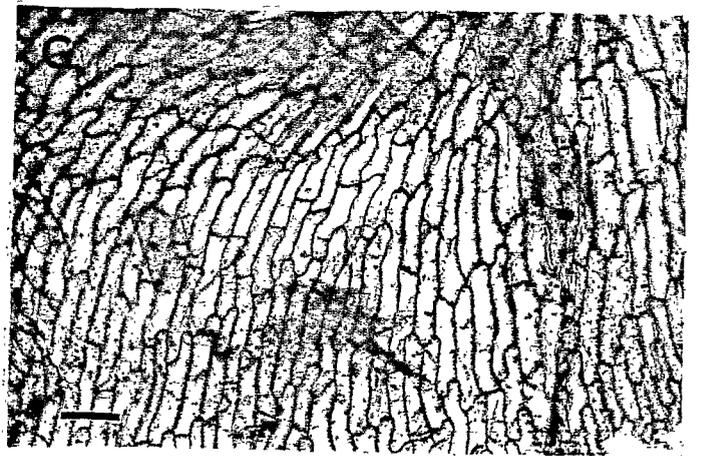
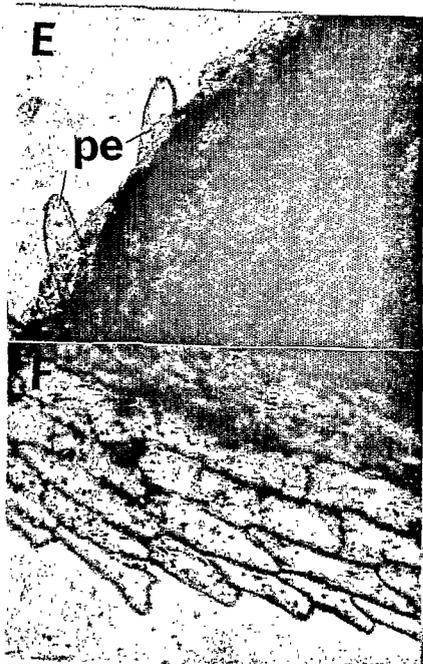
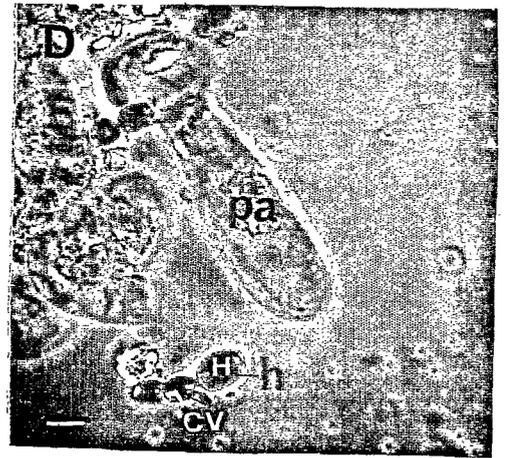
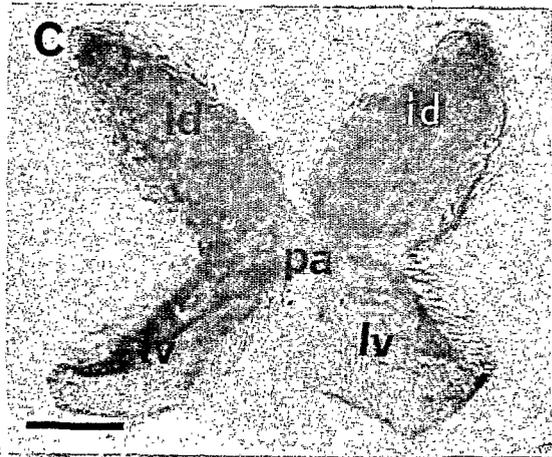
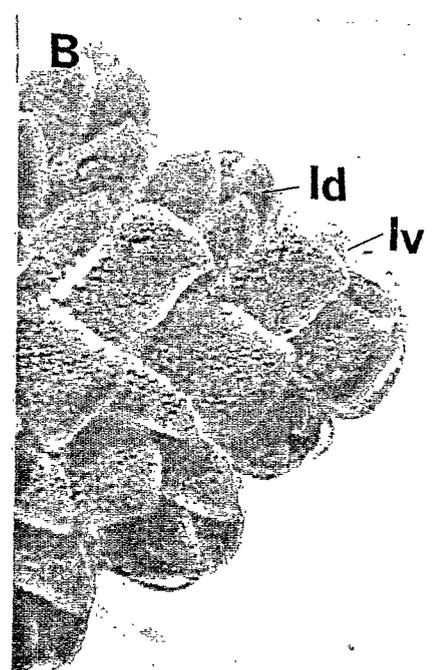
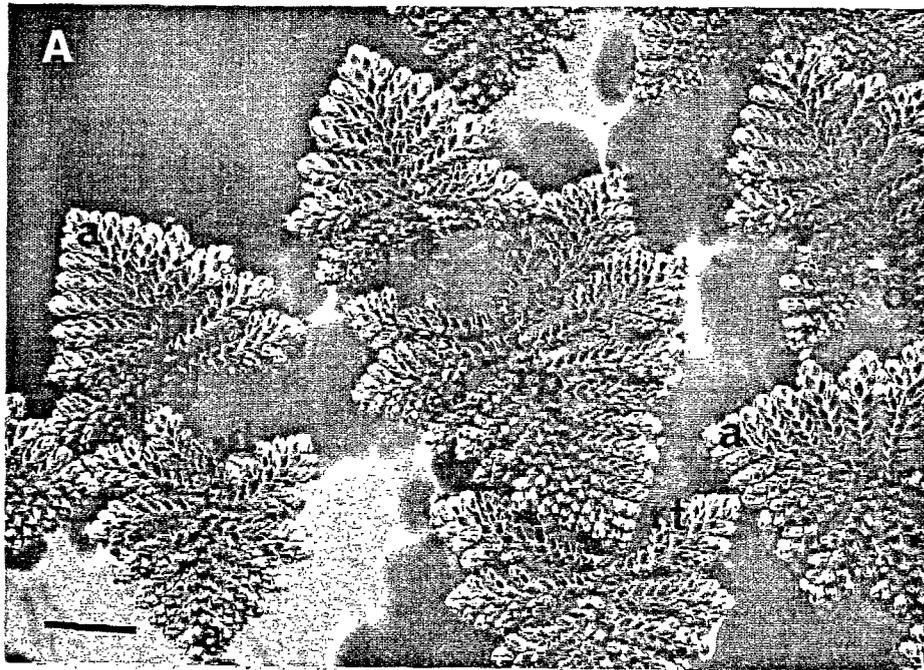


Figure 4.4. Le système racinaire d'Azolla pinnata var. africana

A: Implantation des racines sur les rameaux secondaires: l'apex est situé à droite; il n'y a plus de racines du côté en dégénérescence; les racines âgées n'ont plus de coiffe, elles sont les plus proches du rameau principal; le nombre de racines augmente en allant vers l'apex (flèches).

La barre représente 1mm.

B: Exfoliation de la coiffe racinaire: la coiffe recouvre toute la racine jeune (à droite) puis avec sa croissance, les poils absorbants se dégagent (au centre) mais la coiffe ne se détache que tardivement (à gauche).

La barre représente 1mm.

C: Implantation des poils absorbants: sur les racines adultes les poils absorbants provenant de la division des cellules épidermiques sont groupés en touffes.

La barre représente 0,1mm.

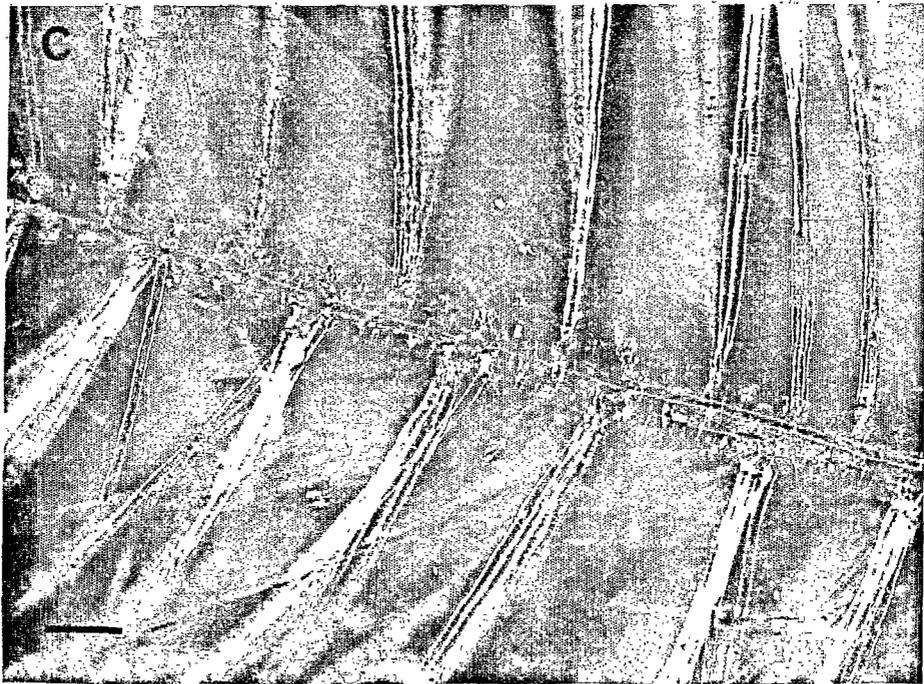
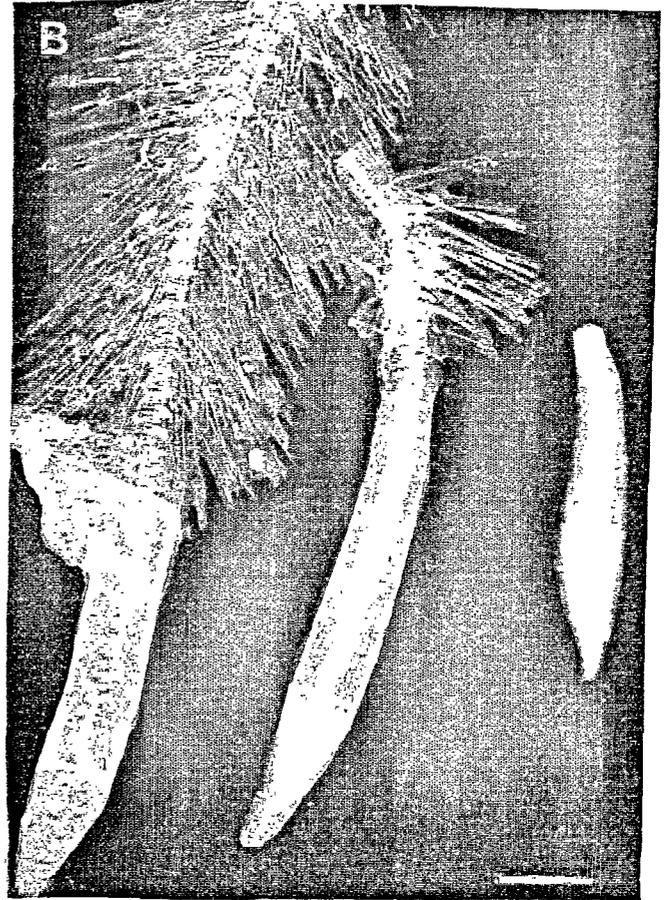
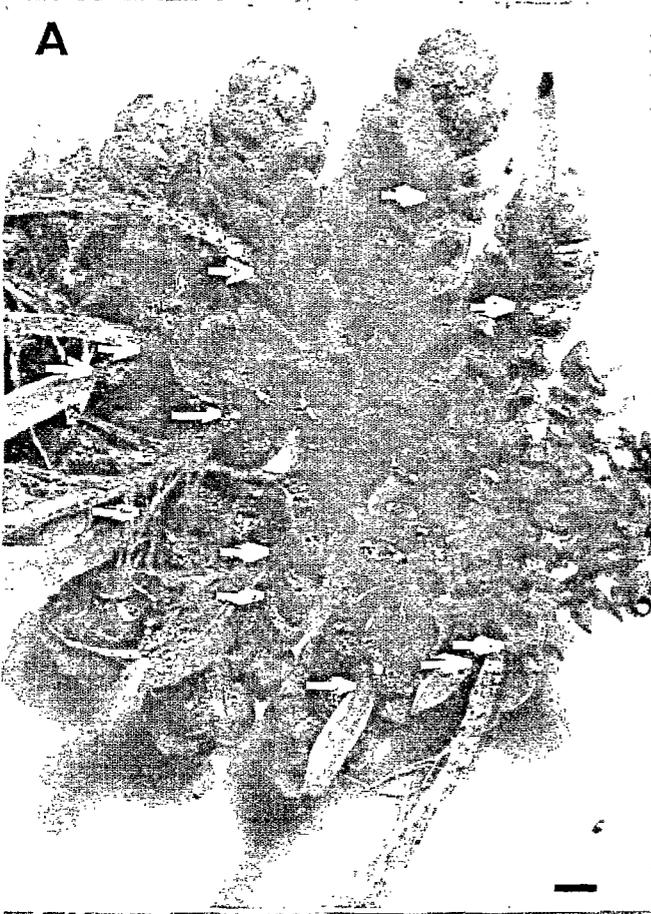


Figure 4.5. Reproduction sexuée chez Azolla pinnata var. africana

A: Disposition des microsporocarpes sous une fronde: les plus jeunes sont situés vers l'apex; de part de d'autre du rameau principal (rp, pointillés), doubles (points blancs) ou simples (cercles blancs) sous la première feuille, l'apex noir est nettement visible.

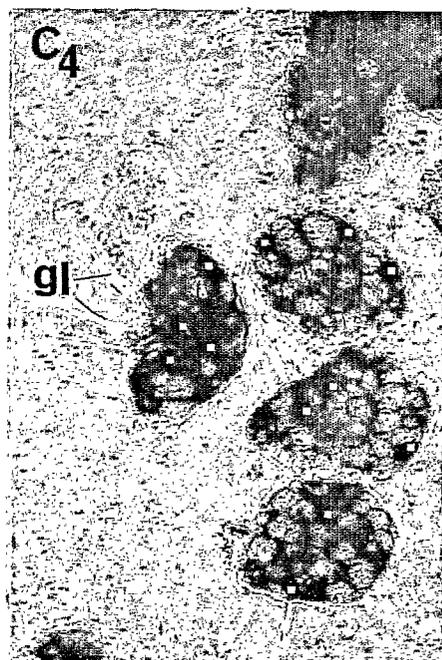
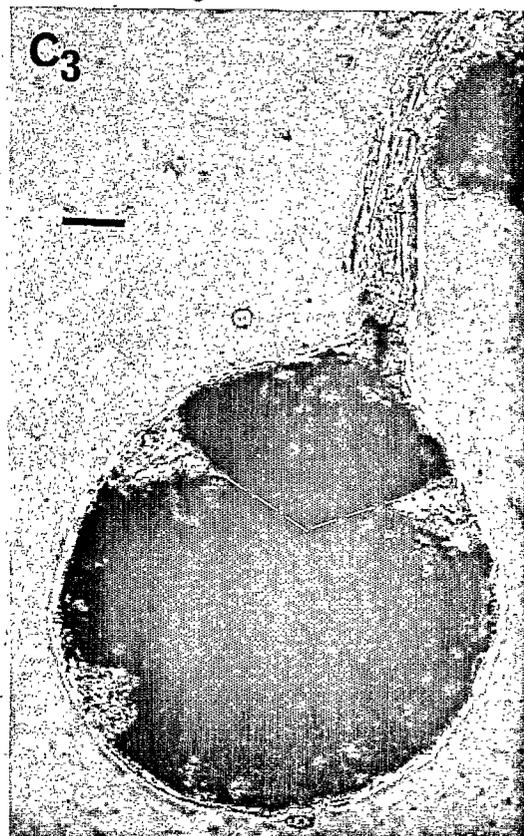
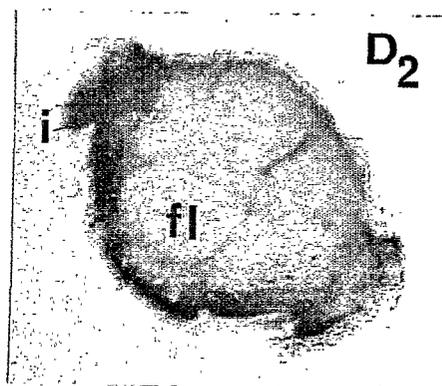
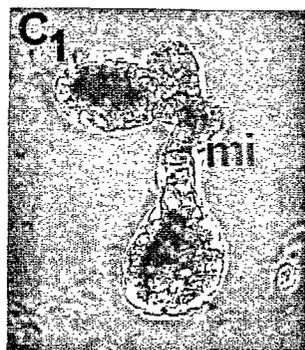
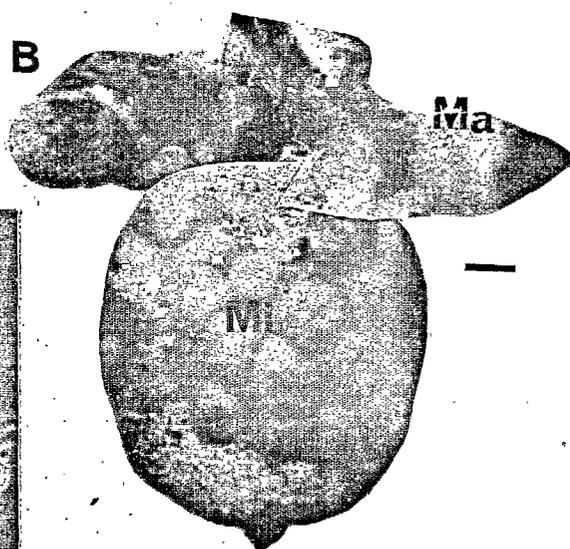
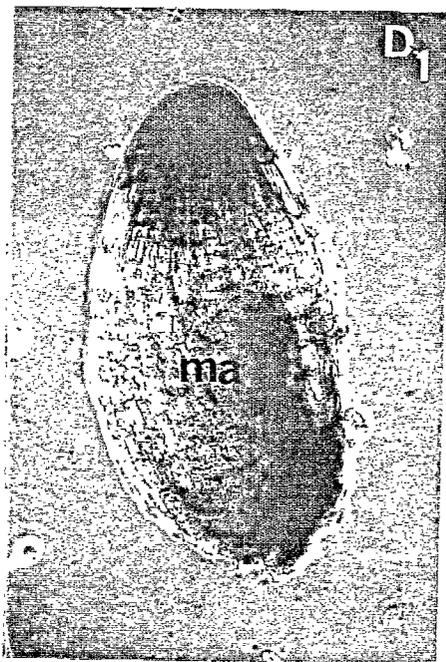
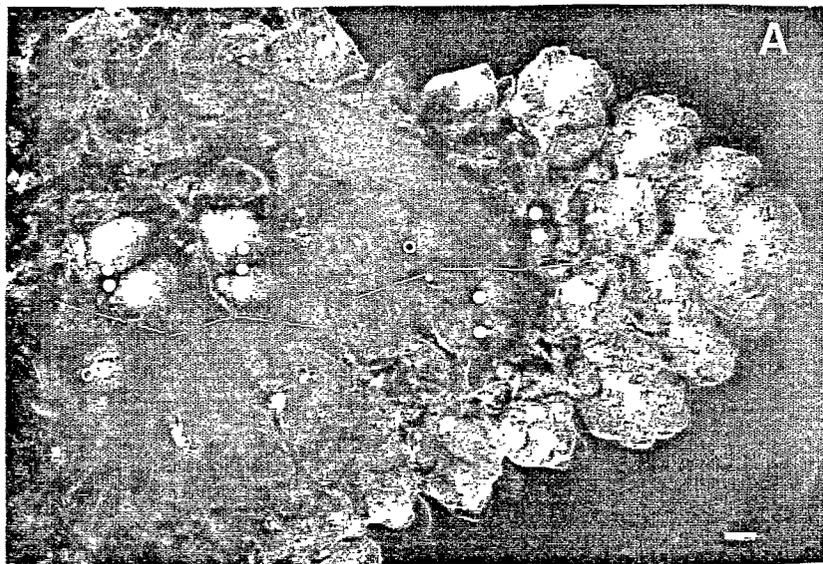
La barre représente 1mm.

B: Macrosporocarpe (Ma) et microsporocarpe (Mi) en position sous la feuille. La barre représente 0,2mm.

C: Evolution des microsporanges dans le microsporocarpe de C_1 à C_3 ; en C_3 dans le microsporange mûr on distingue les massulae (pointillés); C_4 : massulae alvéolaires avec glochidies sans crochets (gl) ne couvrant qu'une partie de la surface, les microspores sont signalées par des carrés blancs.

D: Macrosporocarpe: D1 aux premiers stades de son développement la mégaspore (ma) est nettement visible. D2: mature: la mégaspore est entourée de 9 flotteurs (fl), i: reste de l'indusie enlevée pour mettre en évidence les flotteurs.

C,D: La barre en C_3 représente 50 μ m.



considérée comme indicateur de la prolifération des macrospores et donc des possibilités de reproduction.

Les microsporocarpes renferment une quarantaine de microsporangies, de 0,2mm de diamètre (photo 4.5C) jaunes, reliés à la base du sporocarpie par un pédoncule, les microsporangies matures sont les plus proches de l'apex (photo 4.5C). Chacun renferme 3 à 8 "massulae" alvéolaires, ornées de 2 à 6 appendices pointus, sans crochets (glochidies): on distingue par transparence 2 à 4 microspores par massula (photo 4.5C).

Les macrosporocarpes contiennent une seule macrospore à paroi lisse puis granuleuse qui s'entoure de 9 flotteurs (photo 4.5D) issus de la columelle; le sporoderme est recouvert d'un fin réseau de filaments comme chez A. filiculoïdes (Brederoo et coll., 1976) servant à la capture des microspores (Lucas et Duckett, 1980).

Lumpkin et Plucknett (1982) proposent une différenciation variétale d'Azolla pinnata basée sur l'aspect général de la fronde: A. pinnata var. pinnata présente un seul rhizome dominant et des rhizomes latéraux sans ramifications secondaires, la forme générale est deltoïde ou en obus.

A. pinnata var. imbricata n'a pas de rhizome dominant et les ramifications sont dichotomiques, présentant ainsi un aspect deltoïde à trapézoïde.

Nous proposons pour A. pinnata var. africana: un seul rhizome dominant sur lequel se branchent alternativement des rhizomes secondaires eux-mêmes porteurs de rhizomes près de l'extrémité en dégénérescence; lorsque la fronde n'est pas dissociée, l'ensemble présente un aspect hasté et auriculé.

3.2. Analyse chimique

Le rapport "poids sec/poids frais" d'A. africana est compris entre 4,6 et 9,5% (moyenne: $6,04 \pm 0,5\%$ à $P = 0,05$); il est mesuré pour chaque estimation. Pour les dosages chimiques on utilise 1 à 2 g. d'Azolla fraîches.

La concentration en azote déterminée par la méthode de Kjeldahl est stable sur une culture en croissance normale: $2,7 \pm 0,2\%$ du poids sec à $P = 0,05$ (moyenne de 23 échantillons). Le dosage de la silice par le molybdate d'ammonium indique une concentration variant entre 7,5 et 2,7% du poids sec alors que le pourcentage de cendres varie entre 37,4 et 23,3%. La composition en éléments minéraux est indiquée au tableau 4-3.

Analyse de la valeur alimentaire d'A. africana

Nous avons demandé une analyse de la valeur alimentaire d'A. africana à Mr. Maire de l'Organisation de la Recherche pour l'Alimentation et la Nutrition Africaine (ORANA). Les résultats indiquent que l'on ne peut guère considérer Azolla comme un aliment tant pour les monogastriques que pour les ruminants sauf à titre d'appoint très secondaire: la forte teneur en composés glucidiques indigestes (33%) exclut que des monogastriques puissent l'utiliser sans inconvénient (Tableau 4-3). Buckingham et coll. (1978) sont arrivés aux mêmes conclusions pour A. filiculoïdes (39%). Le taux de protéine calculé est de 16% et la valeur calorique théorique de 192 cal. pour 100 g de matière sèche. Azolla est cependant utilisée en Chine (Li Fang, 1980) et au Vietnam (Tran et Dao, 1973) dans le régime des porcins, dans celui des poussins et des canards (Subudhi et Singh, 1978) et en pisciculture (Lumpkin et Plucknett, 1982).

Tableau 4-3: Valeur alimentaire et analyse chimique d'Azolla africana

% du poids sec*		% du poids sec**	
Cendres	25,20	Fe	0,33 - 1,2
Azote	2,55	Mg	0,15 - 0,33
Lipides	5	Ca	0,48 - 1,1
Glucides assimilables	20,85	Na	0,25 - 0,48
Glucides indigestes	33,00	K	2,85 - 4,17
(lignine + cellulose)		P	0,60 - 0,87

*Matériel sec préparé à partir d'un mélange de 10 échantillons d'Azolla ayant poussés sur un milieu sans azote minéral.

**Valeurs limites obtenues à partir de 6 échantillons d'Azolla séchés.

3.3. Facteurs climatiques influençant la croissance et l'ARA d'A. africana

3.3.1. Intensité lumineuse

Dans les conditions de luminosité de la zone tropicale sèche

($I_{max} = 1300 \text{ Em}^{-2} \cdot \text{sec}^{-1}$ au 90 klux à 13 h) les observations après un mois de culture d'A. africana et d'A. caroliniana exposées directement aux fortes intensités lumineuses ou protégées par un ombrage laissant passer 70% de la lumière incidente montrent que les frondes sont rouges dans le premier cas, l'activité fixatrice est 3,5 fois plus faible et le contenu azoté moins important:

		ARA n.mC ₂ H ₄ .g ⁻¹ poids frais.h ⁻¹	Azote total dans les frondes: N% du poids sec
<u>A. africana</u>	verte (ombrage)	215	3,18
	rouge	60	2,33
<u>A. caroliniana</u>	verte (ombrage)	280	3,31
	rouge	80	2,84

L'analyse de l'évolution du temps de génération mesuré au cours de quatre mois de culture (Fig. 4-6), montre que l'exposition directe à la lumière solaire peut ralentir fortement la croissance d'A. africana (tg > 100 j).

Cette inhibition est confirmée par des mesures de croissance et d'ARA conduites sous différents éclairagements maxima (R & R., 1979). L'ARA maximale est obtenue pour une intensité lumineuse maximale de 60 klux. A l'inverse une intensité lumineuse maximale de 17 klux est insuffisante pour développer la totalité des potentialités fixatrices de la symbiose. Sous une intensité lumineuse constante de 1,7 klux, l'ARA diminue de 50% en deux heures pour ensuite stopper.

L'Azolla africana a, après une période d'adaptation, une croissance semblable pour des variations d'intensités lumineuses maximales comprises entre 6,3 et 90 klux. Par contre, pour l'ARA, les limites de l'activité optima sont comprises entre 17 et 60 klux. On notera que l'intensité lumineuse pour laquelle l'ARA est optima est très supérieure à celle des cyanobactéries libres (1,5-15 klux, Reynaud et Roger, 1979)

LU et coll. (1963) mettent en évidence un optimum de croissance et d'ARA à 47 klux pour A. pinnata et un déclin rapide lorsque

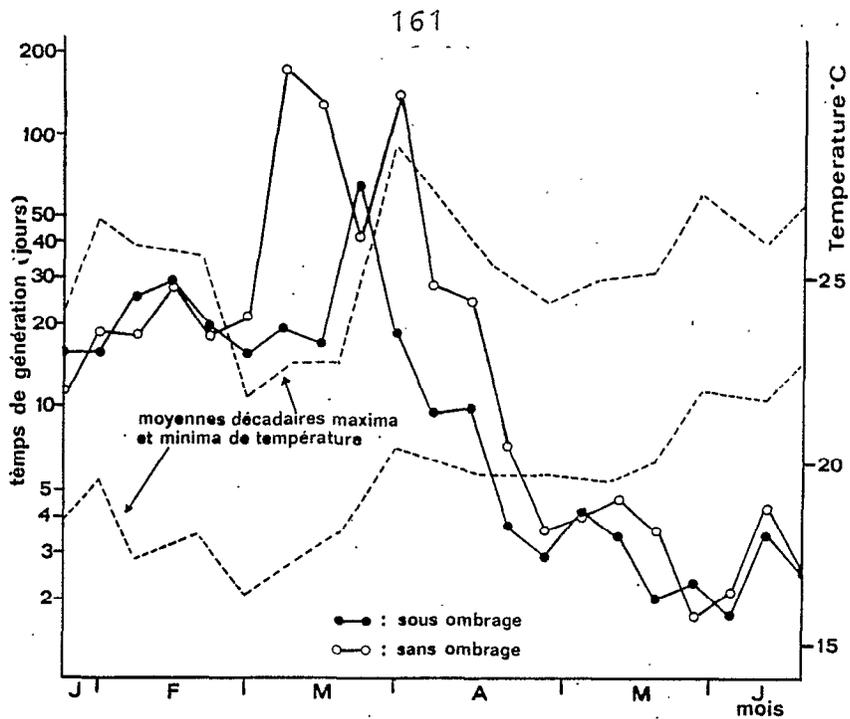


Figure 4-6: Développement d'*Azolla africana* en fonction de l'évolution saisonnière (janvier à juin) de la température et de l'ombrage. Le milieu sans azote (R. & R, 1979) est renouvelé tous les 15 jours. Les résultats sont les moyennes de 4 répétitions. $I_{\lambda max} = 90$ klux à 13 h.

l'intensité lumineuse reçue à travers l'ombrage des plants de riz est inférieure à la moitié de l'intensité lumineuse optima. Par contre Peters et coll. (1976) signalent une saturation de l'ARA à 5 klux pour *A. caroliniana*. Ashton (1974) montre que chez *A. filiculoides*, croissance et fixation sont optima entre 40 et 57 klux; une inhibition par les hautes intensités lumineuses (<60 klux) est également signalée (Ashton et Walmsley, 1976). La coloration rouge pourpre des frondes est due à la présence d'une anthocyanine identifiée comme étant la lutéolinidine-5-glucoside chez *A. mexicana* (Holst, 1977); cet auteur indique qu'une telle coloration se manifeste plus particulièrement chez les plantes exposées directement à la lumière solaire en eau chaude (22-25°C).

3.3.2. Température

Les observations effectuées à la station de Bel-Air, Dakar (Fig. 4-6) montrent un fort ralentissement de la croissance d'*A. africana* au cours de la période "février-mars" :

Mois	Températures		
	Minimales	Maximales	tg
Janvier-Février	16-20°C	24-27°C	12-30 j
Février-Mars	16-20°C	22-23°C	20-200 j
Avril-Juin	20-23°C	25-29°C	1,5-10 j

La croissance est pratiquement arrêtée (tg supérieur à 20 j) pour des températures maximales voisines de 23°C.

Par contre, l'optimum d'ARA pour A. africana varie entre 25 et 35°C, les températures supérieures à 35°C ont un effet inhibiteur qui suit une augmentation transitoire de l'activité fixatrice en début d'incubation (Roger et Reynaud, 1979).

Les températures minimales sont à Dakar supérieures à celles relevées dans la région rizicole du Fleuve Sénégal (Reizer, 1974) de janvier à avril; l'acclimatation de la souche africaine pose donc un problème. L'ADRAO à Richard-Toll l'a résolu en introduisant une souche asiatique résistante aux basses températures. Nous avons comparé en janvier 1981 une souche d'A. caroliniana à A. africana en serre avec des températures variant entre 15 et 28°C; les temps de génération sont respectivement de 2,8 et 6,4 jours. Ashton (1974) signale que la tolérance au froid augmente avec le pH jusqu'à un optimum entre 8 et 10, ces pH ne sont jamais obtenus dans la région du fleuve.

Les limites de croissance et d'ARA sont identiques à celles d'A. mexicana (Holst et Yopp, 1979) d'A. pinnata Sri Lanka (Kulasooriya et coll., 1980). A. filiculoides est plus sensible aux variations de température (Peters et coll., 1980) mais sa croissance n'est pas stoppée au dessous de 15°C (Talley et Rains, 1980). Watanabe et Berja (1983) montrent que les plants approchant de la phase stationnaire de croissance sont alors plus sensibles aux hautes températures (37°C).

3.3.3. Humidité relative

3.3.3.1. Variations de l'ARA en fonction de l'humidité relative

Un des principaux facteurs limitant le développement d'A. africana au dessus du 15^e parallèle en Afrique de l'Ouest semble être la sécheresse sévissant dans cette région. Dès la fin de la courte et irrégulière saison humide, les zones d'eaux calmes abritées des

fortes intensités lumineuses et des températures excessives par la végétation arborée, seules strates permettant la survie d'Azolla, disparaissent rapidement.

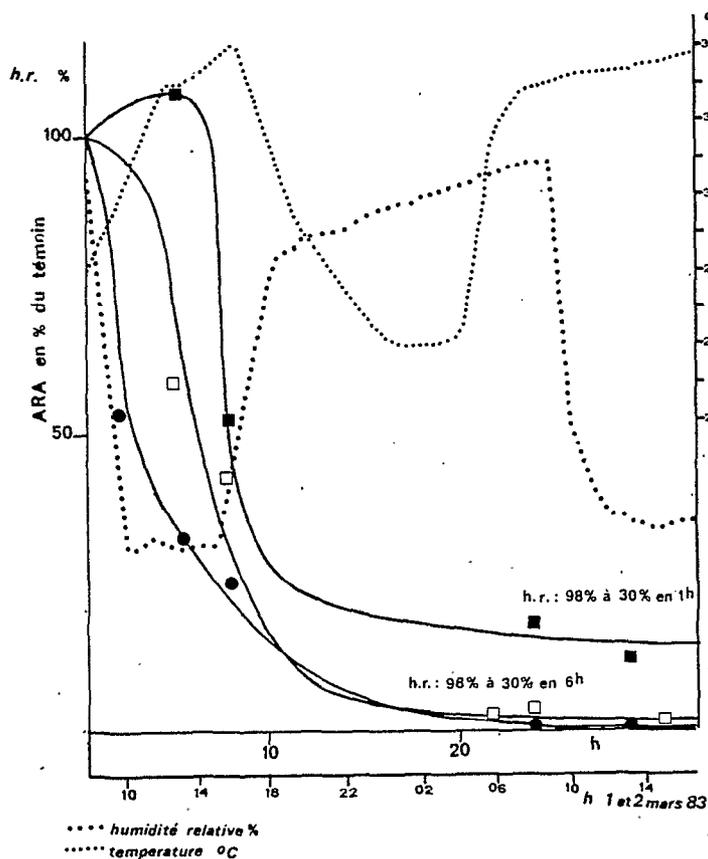


Fig. 4-7: Effet des variations de l'humidité relative (h.r.) sur l'ARA chez *A. africana* : ●—● en conditions naturelles les 1 et 2 mars 1983, définies par les courbes d'humidité relative et de température (ombrage optimum); ■—■ : à 25°C avec h.r. passant de 98% à 30% en 1 h.; □—□ : à 25°C avec h.r. de 98% à 30% en 6 h; moyennes de 3 répétitions.

En saison sèche l'humidité relative passe de 98% à 30% en 6 heures, reste 4 à 5 h à 30% puis remonte à 98% en 8h environ pour des températures variant de 22 à 33°C (Fig. 4-7); dans ces conditions l'ARA de frondes d'A. africana égouttées n'est plus que de 25% d'un témoin humide après 8 h et s'annule en 24 h.

Une reconstitution de ces variations d'humidité relative au laboratoire, donc avec la maîtrise de l'intensité lumineuse et de la température, donne une réponse identique. Avec un passage brutal de 98% h.r. à 30% en 1 h, la diminution de l'ARA est moins rapide, et après 24 h, la réhumectation des frondes permet une nouvelle ARA et

une nouvelle croissance; alors que pour la déshydratation lente le phénomène est irréversible, A. africana n'a pu préparer de formes de résistance. Le temps de flétrissement absolu est au plus de 24 h in situ.

3.3.3.2. Processus limitant l'effet létal de la dessiccation

Trempage dans une solution d'alginate

L'effet de la dessiccation est atténué par l'addition, avant la mise à sec, d'alginate à 0,05% (Satialgine S170, Sobrep-Vélisy) dans le milieu de culture (100 ml pour 80 g d'Azolla), le temps de contact peut être réduit à 10 minutes. Cet acide polymannuronique très hydrophile est capable d'absorber 300 fois son poids en eau; il développe une pellicule hydrocolloïdale autour des frondes, limitant ainsi l'évaporation. Après 24 h la perte d'ARA n'est que de 50% et une réhumectation des frondes leur permet de retrouver leur activité. L'effet positif de l'alginate cesse cependant en 48 h (Fig. 4-8).

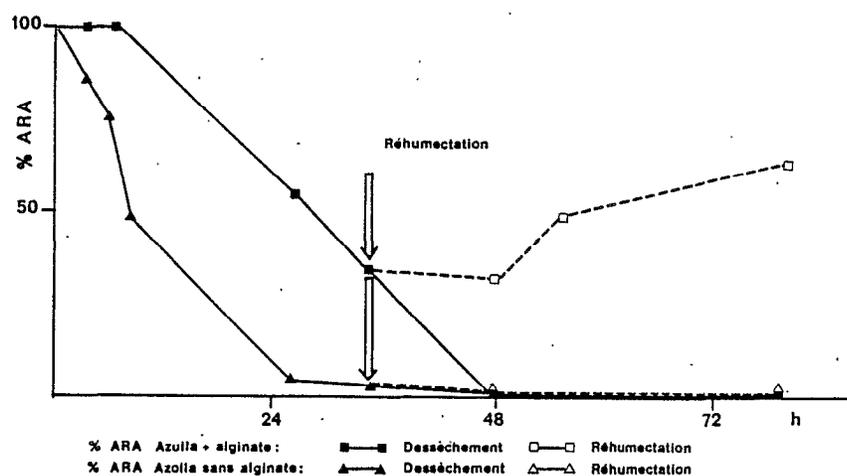


Figure 4-8: Influence de l'apport d'alginate (0,05%) sur l'activité réductrice d'acétylène (ARA) d'A. africana; moyennes de 3 répétitions.

Effet des basses températures

Un autre processus atténuant les effets de la dessiccation consiste à conserver les frondes à basse température (6°C). la perte d'eau est négligeable même à 39% d'humidité relative, l'ARA corres-

pond à 60% d'un témoin après 65 heures de conservation dans ces conditions (6°C, 39% h.r.), alors qu'à 25°C l'ARA est nulle et le poids frais correspond à 30% de celui du témoin (Fig. 4-9).

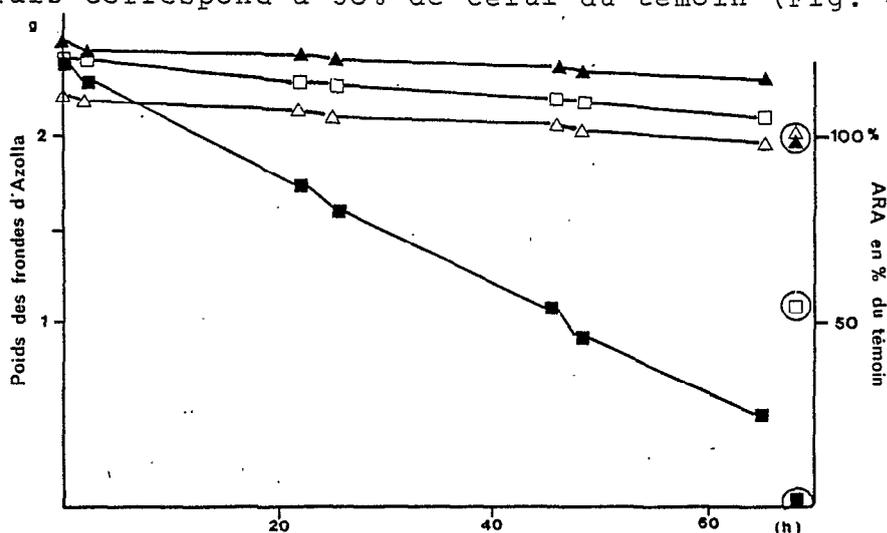


Figure 4-9: Effet de la température et de l'humidité relative sur le poids frais et l'ARA d'A. africana; ▲—▲ : h.r. 98%, 25°C; △—△ : h.r. 98%, 6°C, ■—■ : h.r. 30%, 25°C; □—□ : h.r. 39%, 6°C. Les valeurs encadrées correspondent au % d'ARA de h.r. 98%, 25°C après 65 heures (1 h d'incubation), moyennes de 3 répétitions.

Traitements	24 h		48 h	
	% poids frais	% ARA	% poids frais	% ARA
1: h.r. : 98%, 25°C	94	95	92	90
2: h.r. : 30%, 25°C	75	0	47	0
3: h.r. : 30%, 0,05% alginate 25°C	92	45	76	0
4: h.r. : 98% 6°C	97	100	96	88
5: h.r. : 39%, 6°C	97	90	94	65

h.r. : humidité relative obtenue avec K_2SO_4 (98%) et $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ (30-39%).

Tableau 4-4: Effet de la température et du trempage dans l'alginate (0,05%, 10') sur le poids frais et l'ARA d'A. africana en fonction de l'humidité relative. Les pourcentages sont calculés à partir du traitement 1 au début de l'expérience; chaque valeur est la moyenne de 3 flacons.

Les résultats obtenus avec ces 2 processus sont résumés au tableau 4-4. Dans la pratique nous utilisons successivement ces deux protections. L'alginate est employé pour le transport d'un inoculum

sur des trajets n'excédant pas 24 h; cet inoculum peut ensuite être stocké en chambre froide, à l'obscurité et sans grandes pertes pendant près d'une semaine; un dosage de l'azote total sur A. africana et A. caroliniana exposées pendant 5 jours à 6°C montre des pertes d'azote respectivement de 18 et de 8%.

3.4. Facteurs biotiques influant sur la croissance et l'ARA d'A. africana

3.4.1. Flore algale associée

La configuration de la fronde, l'existence de poils épidermiques (Fig. 4-3E) et la densité du système de poils absorbants (Fig. 4-4C) favorisent l'implantation d'une flore associée bénéficiant de l'ombrage et des exsudats d'Azolla. Il arrive même que le développement des frondes soit très ralenti par la formation d'une épaisse fleur d'eau composée de Spyrogyra, Mougeotia et Oedogonium (observé à Fanaye, Fleuve Sénégal en 1982) ou par des Salvinia qui soulèvent les frondes d'Azolla jusqu'à leur empêcher le contact avec l'eau (observé à Dabou, Côte d'Ivoire). Une étude de la flore épiphyte est entreprise pour déterminer si elle est composée de cyanobactéries fixatrices d'azote et dans ce cas si l'ARA de celles-ci a une incidence sur l'ARA d'Azolla.

On constate (R & R. 1979) une nette dominance des chlorophycées et plus particulièrement de Scenedesmus sp. Les cyanobactéries sont représentées par cinq genres dont deux seulement sont des formes fixatrices d'azote, correspondant à moins de 1% de la flore totale.

Parmi elles, Anabaena sp. isolée n'est probablement pas le symbiote d'Azolla. En effet l'isolement par suspension-dilution n'est pas aussi sélectif que l'isolement par micromanipulation (Hill, 1975), l'appartenance à la symbiose de souches d'Anabaena azollae ainsi isolées, n'est pas totalement prouvée (Newton et Herdman, 1979; Tel-Or et coll., 1984) or le postulat de Koch n'a pu être encore satisfait. On considère donc que la flore algale épiphyte n'est pas à prendre en considération pour l'estimation de l'ARA des frondes d'Azolla.

3.4.2. Prédateurs et parasites

Contrairement aux autres genres de fougères, Azolla possède un complexe parasitaire très important. Il est composé d'organismes qui utilisent Azolla comme aliment (polyphytophages: Lebistes reticulatus, Limnae natalensis) et d'organismes pour le développement desquels Azolla semble indispensable (oliphytophages: Nymphula sp.).

3.4.2.1. Activité prédatrice de *Lebistes reticulatus*

Au Sénégal nous avons essayé d'introduire *A. africana* dans un biotope caractéristique des zones de maraîchage: la céane. La céane est un trou d'eau qui peut atteindre 5 mètres de diamètre, creusée 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 multiplication d'*Azolla* dans les céanes puis son enfouissement dans le sol constitueraient 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 et phosphore non limitants.

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*.

Un poisson insectivore: *Lebistes reticulatus* (guppi) est introduit par obligation légale dans toutes les céanes du Cap Vert afin d'éliminer les larves de moustiques. Pour préciser l'influence de ce poisson sur *A. africana* nous avons étudié les possibilités d'échanges de quelques éléments nutritifs dans un environnement simplifié (Reynaud et Paycheng, 1981).

Nous avons observé un effet phytophage du poisson sur la fougère: *Lebistes* désorganise les frondes d'*Azolla* en coupant les fragiles radicules puis en séparant les feuilles. La croissance végétative est très ralentie et *Azolla* est ensuite contaminée par des champignons pathogènes.

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*. L'implantation de celle-ci dans les mares et les céanes où se trouve déjà une population importante de *Lebistes reticulatus* semble vouée à l'échec.

Azolla est appelée "mosquito fern", elle empêche les larves de *Culex* et d'Anophèles de venir respirer lorsqu'elle recouvre complè-

tement la surface d'un plan d'eau. Cependant lorsque le tapis d'Azolla est incomplet elle protège alors les larves des attaques de leurs prédateurs (Tan Chuan-Chieh, 1942). En raison de cet aléa, et malgré l'apport d'azote biologique d'Azolla, il est préférable de conserver Lebistes reticulatus dans les céanes pour la lutte antiamarile.

3.4.2.2. Activité prédatrice des insectes

Lumpkin et Plucknett (1982) ont rassemblé toutes les informations sur les prédateurs et les parasites d'Azolla en Asie. Ils ont recensé chez les insectes: des Lépidoptères (Pyralis, Nymphula, Cryptoblabes et Samea spp.), des Diptères (Chironomiadae sp.) des Coléoptères (Stenopelmus rufinasus, Pseudolampsis guttata, Bagous sp.), des Orthoptères (Paulinia acuminata, Criotettix sp.), des Arrenurea (Arrenurus triconicus, A. epimerosus). Ces insectes peuvent devenir, comme en Thaïlande avec Nymphula enixalis et Chironimus glauciventris (Katanyukul, 1983), le principal facteur limitant la production d'Azolla.

Une étude exhaustive des insectes parasites demeure un préalable impératif à tout essai à grande échelle, et ceci d'autant plus qu'ils ne développent une activité phytophagique importante que plusieurs années après l'introduction d'Azolla, comme l'IRRI vient d'en faire l'expérience aux Philippines (P. Roger, communication personnelle).

Les observations faites dans la vallée de la Néma (Fig. 4-2) ont permis de déceler en fin de saison humide:

- i) la présence d'un Lépidoptère, Nymphula sp. dont les larves puis les chrysalides se développent sous les frondes en s'entourant d'une couche protectrice d'Azolla en disposant les racines vers l'intérieur;
- ii) une larve rouge de Chironomide qui sépare les feuilles des frondes.

Ces insectes attaquent A. africana simultanément: les frondes se délitent, les racines disparaissent, les feuilles deviennent jaune orangé. Ils ont pu être éliminés en saupoudrant les frondes avec du carbofuran (2,3-dihydro-2,2-diméthyl-7-benzofuranyl méthyl-carbamate) à la dose de 2,5 ppm comme le préconise Singh (1979).

3.4.2.3. Activité prédatrice de Limnae natalensis

Des mollusques (Limnae acuminata, Planorbe sp.) sont aussi observés dans les frondes d'Azolla en Inde (Chattejee, 1982).

Sur des prélèvements d'Azolla provenant de la vallée de Koular (Fig. 4-2), nous avons mis en évidence Limnae natalensis dont la densité sur les frondes atteint 77 g.m^{-2} . Ce mollusque s'attaque en priorité aux racines; il utilise les frondes comme flotteurs sous lesquels il pond ses oeufs dans une gaine mucilagineuse.

L'utilisation d'un mollusquicide contenant 5% de métaldéhyde montre que la concentration optima de produit actif est de 250 mg.l^{-1} pour éliminer L. natalensis des frondes d'A. africana et d'A. caroliniana.

Par la suite le métaldéhyde, trop onéreux, à été remplacé par de la poudre d'écorce de Detarium heudelotianum ou par celle de feuilles de Balanites aegyptiaca, arbres que l'on trouve facilement le long des rizières. zces deux poudres, à raison de 0,25g par litre de culture éliminent entièrement la population de Limnea natalensis en moins de 15 jours (Reynaud, 1986).

3.4.2.4. Champignons pathogènes

En fin de cycle cultural du riz, lorsque le couvert végétal est dense, fournissant un micro-environnement très humide et limité en lumière pour Azolla, certaines frondes deviennent grises puis noircissent. Ces frondes conservées dans des conditions identiques au laboratoire sont recouvertes d'un champignon pathogène Myrothecium sp. semblable à celui qui a été trouvé en Thaïlande par Arunyanart. et coll. (1982). Pendant le transport d'Azolla il se développe très rapidement et est responsable de la décomposition rapide des frondes. S'il est relativement simple d'éliminer les frondes contaminées au laboratoire sur les cultures de référence, en faisant des observations répétées, les inoculum utilisés pour les essais aux champs ont dû être traités en pulvérisant un fongicide, la cycloheximide (3-(2-(3,5-Diméthyl-2-oxocyclohexyl)-2-hydroxyethyl)-glutarimine à la dose de 20 ppm sur les Azolla étalées.

A cette concentration la cycloheximide a un effet positif à long terme sur la fixation d'azote d'A. africana (Fig. 4-10) et cet effet peut être cumulé avec celui de l'alginate: pour une ARA de $0,7 \text{ mM C}_2\text{H}_4\text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ après 24 h d'incubation en milieu confiné sans alginate et sans cycloheximide, l'ARA est de 2,25 avec alginate et de 2,7 avec alginate et cycloheximide. La concentration de 20 ppm de produit pulvérisé sur les frondes est une concentration limite pour Azolla; en effet avec 50 ppm la croissance des frondes est très ralentie; 100 ppm de cycloheximide est une concentration létale.

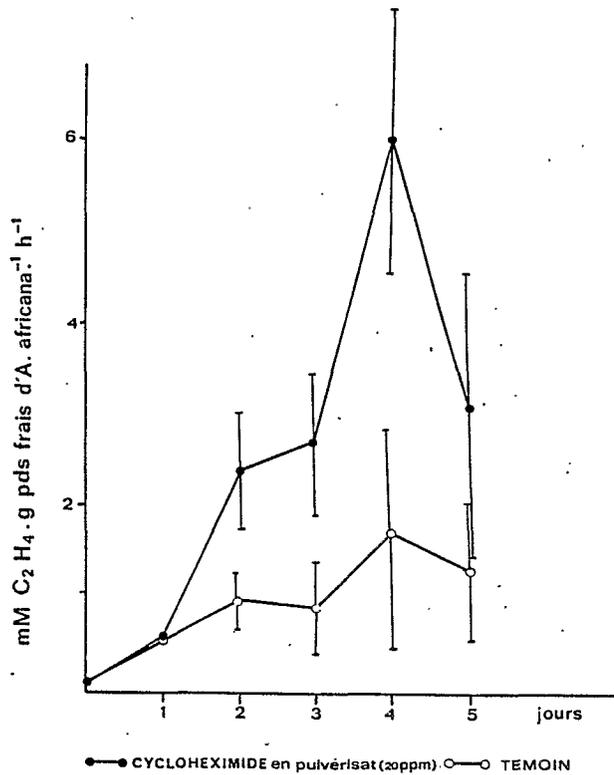


Figure 4-10: Effet de la cycloheximide (actidione) sur l'ARA d'A. africana conservé en atmosphère humide (98% h.r.) variabilité sur trois répétitions.

3.5. Etudes physiologiques sur Azolla africana

3.5.1. Etude nutritionnelle

3.5.1.1. Besoins en éléments minéraux

Les besoins nutritifs d'Azolla sont ceux d'une plante aquatique auxquels il faut ajouter pour le fonctionnement du symbiote fixateur d'azote quelques oligo-éléments particuliers comme le cobalt (Johnson et coll., 1966) et le molybdène (Yatazawa et coll., 1980).

Nous avons déjà noté précédemment que les frondes d'A. africana prenaient un aspect très différent lorsqu'elles étaient confrontées à des conditions de croissance particulière: rouge pourpre aux trop fortes intensités lumineuses, jaune-orange lors des attaques d'insectes ou noires lors des attaques de champignons. On a pu remarquer in situ pour une même souche d'autres variations dues surtout à la carence en un ou plusieurs éléments nutritifs.

Les conditions extrêmes de croissance en état de carence ont été reproduites au laboratoire en cultivant les frondes pendant 45 jours dans des milieux carencés (Fig. 4-11) et en renouvelant chaque semaine ces milieux. Les premières différences sont notées après 3 semaines. Après 45 jours une mesure de l'ARA, un dosage du contenu azoté et une estimation du temps de génération montrent que tous les éléments nutritifs sont indispensables au développement ou à la fixation d'azote d'Azolla (Tableau 4-5).

Dans les milieux carencés en calcium, en phosphore et en potassium la perte d'azote est très importante; on notera que par rapport à A. africana les pertes d'azote sont moins fortes chez A. caroliniana. Sur les deux souches c'est dans les milieux sans calcium, sans fer, sans potassium et sans oligo-éléments que l'ARA est totalement inhibée. Yatazawa et coll. (1980) ont déterminé le seuil de croissance minimum pour le phosphore: 0,3mM; le magnésium: 0,4mM; le potassium: 0,04mM et le calcium: 0,5mM sur des frondes poussant 3 semaines dans la même solution.

Tableau 4-5: Effet de l'absence d'un élément nutritif après 45 jours de culture sur le temps de génération (tg en jours), l'ARA (en % de l'ARA obtenu dans le milieu complet) et le contenu azoté (en % du contenu dosé par la méthode de Kjeldahl sur les frondes ayant poussé dans le milieu complet) des souches d'A. africana et d'A. caroliniana.

	<u>A. africana</u>			<u>A. caroliniana</u>	
	ARA %	N %	tg (j)	ARA %	N %
Milieu	100	100	8	100	100
Eau déminéralisée	17	47	55	36	65
Sans Ca	0	45	58	0	82
Sans Fe	8	92	9	0	77
Sans Mg	3	77	256	24	87
Sans K	81	78	12	63	54
Sans P	0	50	54	5	62
Sans oligo-éléments	0	64	15	0	58

Figure 4-11: Aspect morphologique des frondes d'A. africana après 45 jours de culture dans le milieu de culture sans azote où l'on a omis un élément nutritif. Le milieu est renouvelé toutes les semaines:

A: Milieu complet: les frondes sont vertes, les racines mesurent 2 à 3cm.

B: Eau déminéralisée: les frondes sont brun-rouge, lancéolées, sans ramification tertiaire, les racines atteignent 5cm, les poils absorbants sont très longs; on note la présence de nombreux microspores pourpres.

C: Milieu sans fer: aspect normal, frondes vert sombre, racines très courtes.

D: Milieu sans phosphate: frondes rouille, lancéolées, sans ramification tertiaire, racines ayant souvent plus de 5cm, présence de nombreux microspores pourpres.

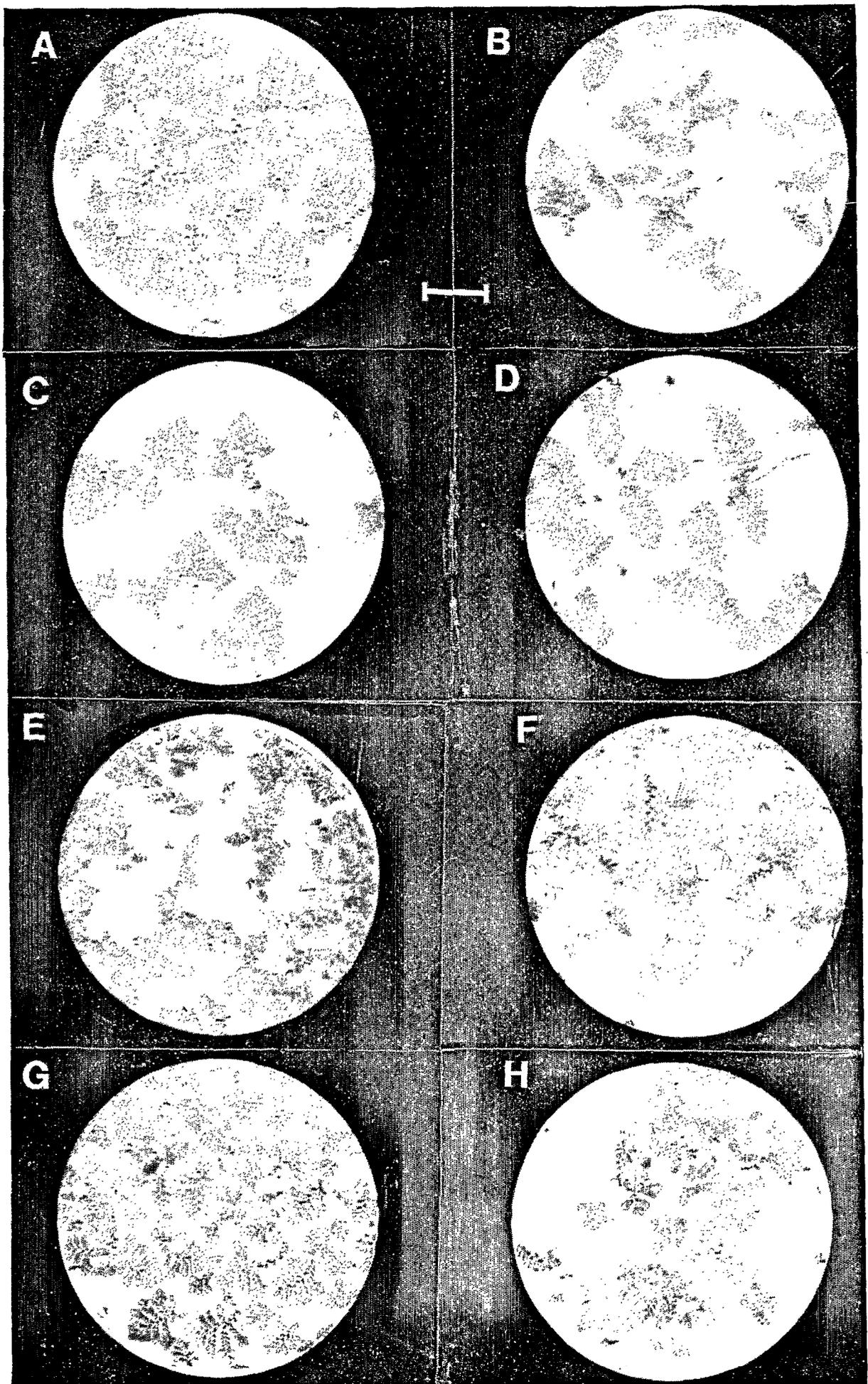
E: Milieu sans magnésium: frondes brun-noir, nécrosées, pas de racines.

F: Milieu sans calcium: frondes passant du jaune à l'apex au brun; feuilles légèrement érectées et deux fois plus petites que le témoin, racines rares, courtes, brunes.

G: Milieu sans potassium: ramifications fragiles, attaque de champignons, racines courtes.

H: Milieu sans oligoéléments: coloration très variable sur la même fronde, jaune ou verte, lobe supérieur des feuilles érecté, ramifications alternées de taille très variable, racines courtes, microspores jaunes.

L'échelle représente 1cm.



Le dosage de Mg, K et Ca dans le ruisseau de Bantankoutouye (R & R, 1979) donne respectivement 0,05, 0,04 et 0,18 mM; en considérant que cet apport minéral est continu il y a peu de risques de carence pour ces 3 éléments.

La carence en magnésium provoque en 45 jours la destruction des frondes; elle est aussi importante que les carences en calcium et en potassium chez A. africana alors qu'elle est peu marquée chez A. caroliniana. Après 45 jours l'absence de potassium dans le milieu nutritif n'a pas un effet très marqué sur l'ARA et la croissance d'A. africana; sa très forte concentration dans les frondes (2,8 à 4,2% du poids sec) en est sans doute l'explication.

Corrélativement à l'absence d'ARA, Watanabe (1982) signale que les cellules algales disparaissent des cavités dans les Azolla carencées en calcium.

La carence en fer joue surtout sur la fixation d'azote car le temps de génération est très court (9 jours). Chez A. pinnata les frondes jaunissent (Watanabe et coll., 1977), le seuil de croissance minimum a été estimé à $0,4\text{mM.l}^{-1}$ par Rains et Talley (1978). La concentration en fer d'A. africana est 10 fois supérieure à celle d'A. filiculoides (Buckingham et coll., 1978) et jusqu'à 2 fois supérieure à celles couramment obtenues sur les autres espèces (Lumpkin et Plucknett, 1982). Cette forte concentration, comme pour le potassium, ralentit les effets de carence.

3.5.1.2. Cas particulier du phosphore

Les frondes carencées en phosphore sont rouges et ont un important système racinaire (Talley et coll., 1977). Cette couleur rouge est caractéristique de la formation d'anthocyanine qui protège l'appareil photosynthétique. Des incubations menées pendant 15 jours dans des milieux contenant des concentrations croissantes de phosphore montrent que l'ARA est inhibée dans le milieu sans P (Tableau 4-6) et augmente progressivement aux concentrations 2,5 à 10 ppm; ces concentrations sont identiques à celles observées par Kulasooriya et coll. (1980) sur une Azolla provenant du Sri Lanka.

La teneur en azote est deux fois plus faible dans les frondes carencées en P (Tableau 4-5) que dans le milieu nutritif normal. La teneur en P est, elle aussi, plus faible dans les frondes carencées (0,104% pour A. africana, 0,048% pour A. caroliniana) que dans les frondes où une ARA est restaurée (0,148% et 0,120%). Le temps de génération n'est pas beaucoup affecté sur 15 jours alors qu'il sextuple lors d'une incubation de 45 jours. Dans le milieu nutritif

normal, contenant 350 ppm de P., le phosphore correspond à 0,8% du poids sec des frondes (Tabl. 4-3 4-6), alors qu'il est de 0,14% dans les milieux contenant 5 ppm de P (A. africana) et 10 ppm de P (A. caroliniana). Pour ces trois concentrations en P la croissance et l'ARA sont semblables.

Tableau 4-6: Effet de concentrations croissantes de phosphore sur le temps de génération (tg en jours), l'ARA ($\text{nmC}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$) et le contenu phosphoré (en % du poids sec) chez A. africana et A. caroliniana après 15 jours de culture dans des bacs où le milieu a été renouvelé tous les trois jours ppm en $\overline{[P]}$ Olsen.

	<u>[P]</u> ppm	tg (j)	ARA	% P
<u>Azolla africana</u>	0	6,3	8	0,104
	2,5	5	30	0,148
	5	5,1	58	0,134
	10	5	50	0,228
	350	5	75	0,794
<u>Azolla caroliniana</u>	0	5	2	0,048
	2,5	4,1	14	0,124
	5	4	61	0,120
	10	3,9	421	0,136

Dans une culture où le milieu est continuellement renouvelé, pour imiter les conditions in situ, Subudhi et Watanabe (1981) estiment à 0,6 ppm la concentration minimale de phosphore assimilable pour une croissance normale d'Azolla.

Sur l'analyse de 26 rizières du Sénégal: 7 prélèvements ont des quantités non dosables, 9 prélèvements ont des concentrations comprises entre 0,1 et 0,6 ppm de P et 10 prélèvements ont des concentrations supérieures à 0,6 ppm, atteignant 6,9 ppm. Ces concentrations ne rendent pas compte des flux possibles; aussi le phosphore pourrait ne pas constituer un élément limitant. Toutefois, nous avons montré qu'A. africana peut stocker 6 fois plus de phosphore que les concentrations suffisantes à sa croissance et à sa fixation d'azote. Lumpkin et Plucknett (1982) obtiennent aussi un rapport de 6 pour différentes espèces d'Azolla; ils proposent d'utiliser cette particularité: en augmentant au maximum la concentration en P d'Azolla avant l'inoculation en rizière, les frondes devraient pouvoir augmenter 5 ou 6 fois leur biomasse et donc le contenu azoté sans application de phosphate.

3.5.2. Effet des concentrations salines sur la croissance et l'ARA d'*A. africana*

3.5.2.1. Nature et concentration en azote combiné.

Dans la région du fleuve Sénégal des concentrations en engrais azoté (urée) correspondant à $120 \text{ kg N}_2 \cdot \text{ha}^{-1}$ sont couramment employées pour obtenir un bon rendement en riz. Dans les conditions des mesures au laboratoire ce taux est largement dépassé ($600 \text{ kg N}_2 \cdot \text{ha}^{-1}$) (R & R, 1979) par *A. africana* mais in situ, il faut envisager l'hypothèse d'un apport d'azote combiné (N-nitrate ou N-ammonium) pour compléter l'apport d'azote biologique.

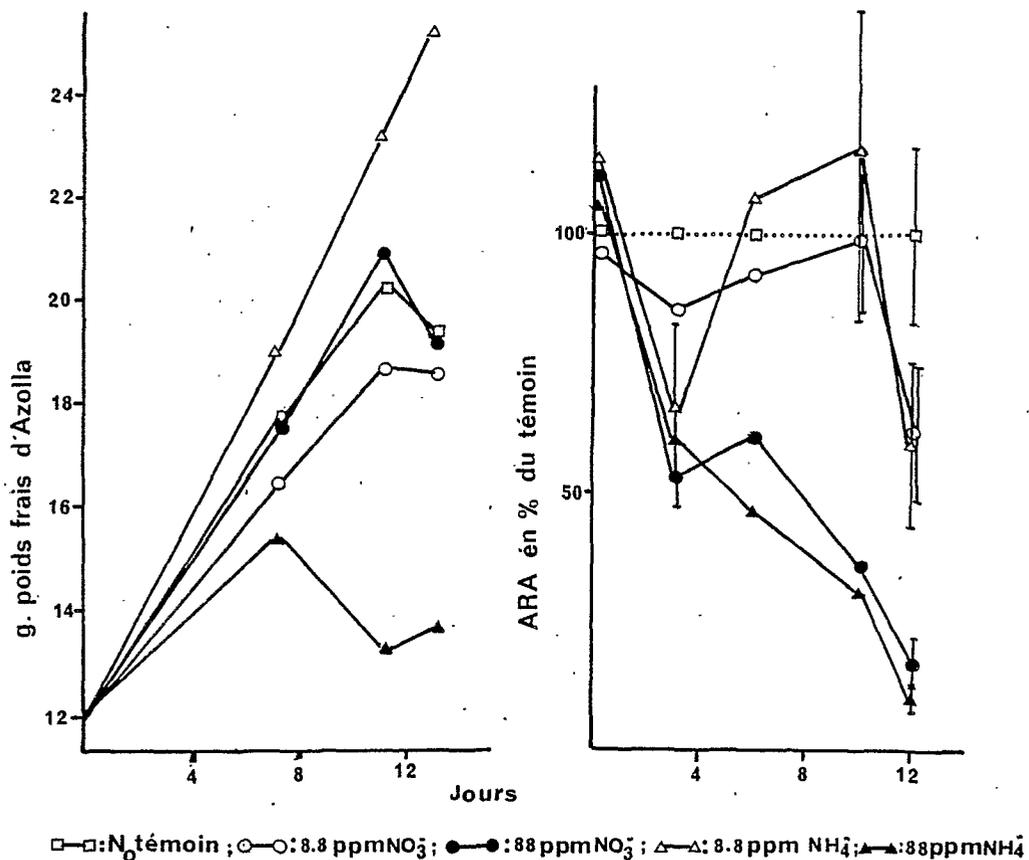


Figure 4-12: Effet des concentrations d'N-nitrate et d-N-ammonium sur la croissance et l'A.R.A. d'*A. africana*. Valeurs moyennes de 3 répétitions.

La réponse d'*A. africana* à N-ammonium et à N-nitrate est testée pour des concentrations de 8,8 et 88 ppm dans l'eau (Fig. 4-12).

Par rapport à un témoin sans azote les concentrations en nitrate n'ont pas d'effet sur la croissance d'Azolla, par contre un apport d'N-ammonium à la dose de 88 ppm a un effet très négatif et 8,8 ppm d'N-ammonium un effet significativement positif.

Les concentrations en azote inhibent rapidement l'activité réductrice d'acétylène; il semble alors que la fixation soit remplacée par l'assimilation de l'azote minéral de façon durable puisqu'en 12 jours l'ARA a pratiquement disparu.

Avec un apport de 8,8 ppm d'azote sous forme combinée l'ARA est inhibée pendant 4 jours puis augmente pendant 8 jours et est de nouveau inhibée. La concentration en azote combiné est suffisante au début pour inhiber la fixation puis devient limitante avec la croissance des frondes; et redevient inhibitrice probablement par l'augmentation de la concentration en exsudats azotés dans le milieu. Il s'établit une séquence entre fixation d'azote et assimilation d'azote combiné pour une concentration de 8,8 ppm.

A. africana présentant une sensibilité plus grande à N-ammonium, nous avons étendu la gamme de concentration de ce composé azoté et mesuré croissance et ARA (Fig. 4-13).

La croissance de la fougère, jusqu'à une concentration de 44 ppm, est plus importante qu'avec le témoin sans azote; par contre l'ARA est totalement inhibée à cette concentration. Aux concentrations 1,8 ppm et 8,8 ppm, l'ARA qui a diminué de plus de la moitié après 10 jours de culture remonte vers son niveau initial après 20 jours. Le phénomène séquentiel est ici bien marqué avec 1,8 ppm d'N-ammonium.

Les faibles concentrations en azote minéral peuvent donc inhiber la fixation d'azote sans effets sur la croissance (Newton et Selke, 1981). L'N-ammonium inhibe la fixation d' N_2 dans les jeunes feuilles où les différentes formes d'azote (minéral ou biologique) sont transportées simultanément (Watanabe et coll., 1981).

Ces résultats nous permettent de supposer que dans les rizières traitées avec des engrais azotés, Azolla assimilera immédiatement une partie de cet azote aux dépens de la fixation biologique. Toutefois, comme 5 jours après l'enfouissement, la teneur en azote dans l'eau de rizière est généralement inférieure à quelques ppm, la fixation d'azote par Azolla sera rapidement restaurée.

L'utilisation de nitrate semble toutefois préférable à celle d'ammonium qui peut être inhibiteur de la croissance aux fortes concentrations (Liu Chung Chu, 1979). Ces conclusions sont en accord avec les résultats de Yatazawa et coll. (1980) pour A. pinnata var.

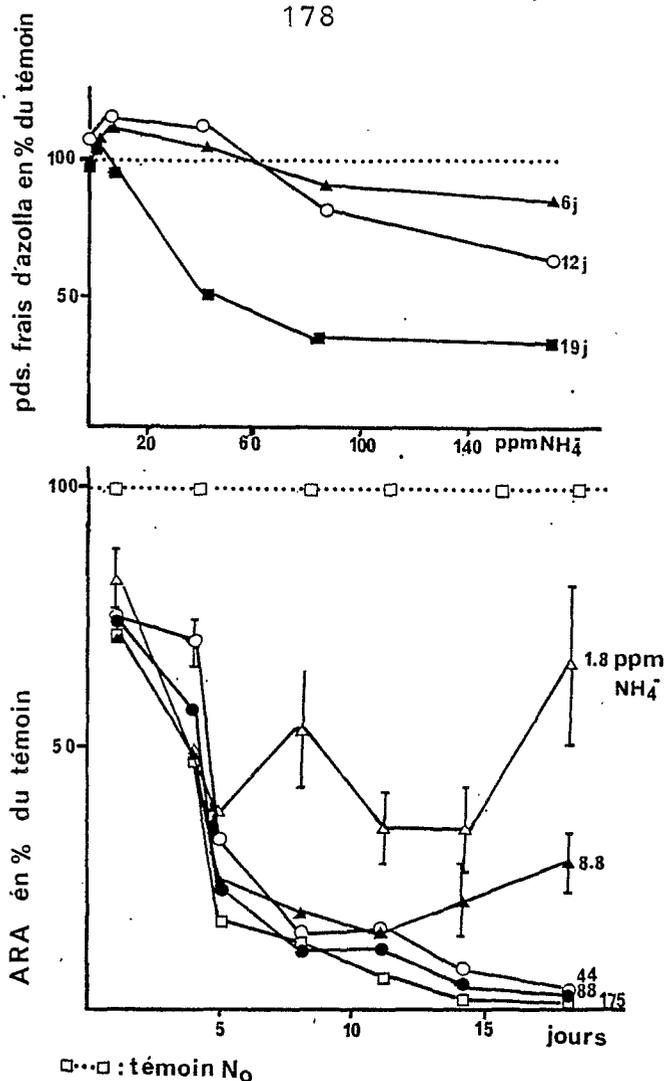


Figure 4-13: Effet de concentrations croissantes de N-ammonium: 1,8-8,8-44-88-175 ppm, sur la croissance et l'ARA d'A. africana - moyennes de 3 répétitions.

imbricata, considérée comme la forme asiatique d'A. pinnata var. africana. Ces auteurs observent que la limitation de la croissance d'Azolla en présence de fortes concentrations d'N-ammonium (+ de 40 ppm) est liée aussi à une prolifération des algues vertes comme nous l'avons noté dans les essais de Fanaye (ADRAO, fleuve Sénégal).

Ainsi pour combiner au mieux l'azote nécessaire au riz et la fixation biologique par Azolla il semble intéressant d'enfouir dans la rizière de l'azote sous forme d'urée enrobée (SCU) qui a l'avantage de se dissoudre lentement à une concentration permettant le début normal de la croissance du riz. Dans ces conditions le couvert végétal indispensable au bon développement d'Azolla est rapidement suffisant, l'activité fixatrice n'est pas ou peu inhibée.

3.5.2.2. Tolérance au chlorure de sodium.

Certaines rizières du village de Koularban ne sont jamais contaminées par A. africana (cf. Fig. 4-2); leur localisation est

limitée en amont par le niveau maximum des marées qui remontent la Gambie puis ses affluents. Dès les premières pluies cette zone est submergée mais le sel restant suffit à arrêter le développement d'Azolla alors que le riz sélectionné pousse très bien. Certaines zones rizicoles dans les régions de Basse Casamance, du Niombato et plus récemment sur le delta du fleuve Sénégal sont plus ou moins salées; il est intéressant de situer les possibilités de croissance d'Azolla en présence de NaCl.

Une incubation d'A. africana et d'A. caroliniana pendant 6 jours avec des concentrations salines contenant de 0 à 12 g/l de NaCl montre une grande différence entre les 2 souches (Tableau 4-7); A. africana aux concentrations supérieures ou égales à 4 g NaCl/l perd son système racinaire, les feuilles se détachent des rameaux, la croissance cesse complètement; à 5 g/l la fixation d'azote est elle aussi totalement inhibée. Le symbiote est plus tolérant que la fougère. La concentration optima est de 1,5 g NaCl/l, et en tenant compte de la concentration saline du milieu nutritif (1,23 g/l), de 2,53 g/l de sels dissous.

Tableau 4-7: Effet de concentrations en chlorure de sodium sur la croissance (tg en jours) et l'ARA (% du témoin) d'A. africana et d'A. caroliniana. La concentration saline de la solution nutritive est de 1,23 g/l.

[NaCl] g/l	<u>A. africana</u>		<u>A. caroliniana</u>	
	ARA %	tg j	ARA %	tg j
0	100	15,1	100	10,8
1,5	146	13,5	111	7,4
3	57	+∞	80	8,8
4	10	+∞	51	8,9
5	0	+∞	31	10,7
6	0	+∞	10	18,8
12	0	+∞	0	39

L'optimum de croissance est aussi de 1,5g NaCl/l pour A. caroliniana mais son seuil de tolérance se situe entre 5 et 6 g NaCl. A 12 g NaCl/l les frondes flétrissent rapidement comme l'ont montré Haller et coll. (1974) alors que pour A. pinnata Le Van et Sobochkin (1963) signalent une croissance optimum entre 0,16 et 0,38 g/l et un arrêt total à 1,5 g/l.

La tolérance au NaCl est très variable d'une espèce à l'autre et, pour une même espèce, suivant sa localisation. Un test de tolérance à la salinité est un préalable indispensable à l'introduction d'Azolla dans un nouveau biotope.

3.5.3. Influence du pH sur la croissance et l'ARA d'A. africana
Azolla peut se développer à des pH de 4 à 8 et survivre à des pH de 3,5 à 10 (Holst et Yopp, 1979, Peters et coll., 1980). Dans le tableau 4-8, nous avons défini les valeurs du temps de génération et de l'ARA pour A. africana et A. caroliniana après 16 jours de culture sur le milieu de base tamponné à pH 4,5,6 par du tampon succinate (10mM) et à pH 6,7,8 par du tampon phosphate (10mM) le pH est ajusté tous les 3 jours. La température varie entre 20 et 28°C et l'intensité lumineuse maximale est de 25 klux.

Tableau 4-8: Effet du pH sur le temps de génération (tg en jours et l'ARA ($\text{nm C}_2\text{H}_4 \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{gpf}^{-1}$))

	pH	<u>A. africana</u>		<u>A. caroliniana</u>	
		tg	ARA	tg	ARA
Tampon :	4	9,7	28	6	80
Succinate	5	6,7	57	4,5	135
	6	8,5	103	4,7	164
Tampon					
phosphate	6	8,4	82	4,9	285
	7	9	17	5	167
	8	11,6	19	5,5	135

A. africana est plus sensible qu'A. caroliniana aux variations de pH, cela se traduit surtout sur l'ARA, optima à pH 6 et diminuant très rapidement dès pH 7; Ashton (1974) pour A. filiculoides et Watanabe et coll. (1977) pour une variété de pinnata relie cette diminution à une déficience en fer.

3.5.4. Facteurs affectant la sporulation d'A. africana

La reproduction du sporophyte d'Azolla est habituellement végétative; toutefois lorsque les facteurs biotiques varient bruta-

lement au début ou à la fin d'une période de stress, le cycle sexuel est initié (Ashton, 1977). Cette initiation reste encore mystérieuse, Duan Bing-Yan et coll (1979) sur *Azolla* "rouge", Cheng et coll. (1981) sur *A. filiculoides* en Chine et Watanabe et coll. (1981) sur *A. mexicana* aux Philippines ont fait des observations préliminaires, le cycle complet n'ayant été obtenu que par hasard au laboratoire (Lucas et Duckett, 1980).

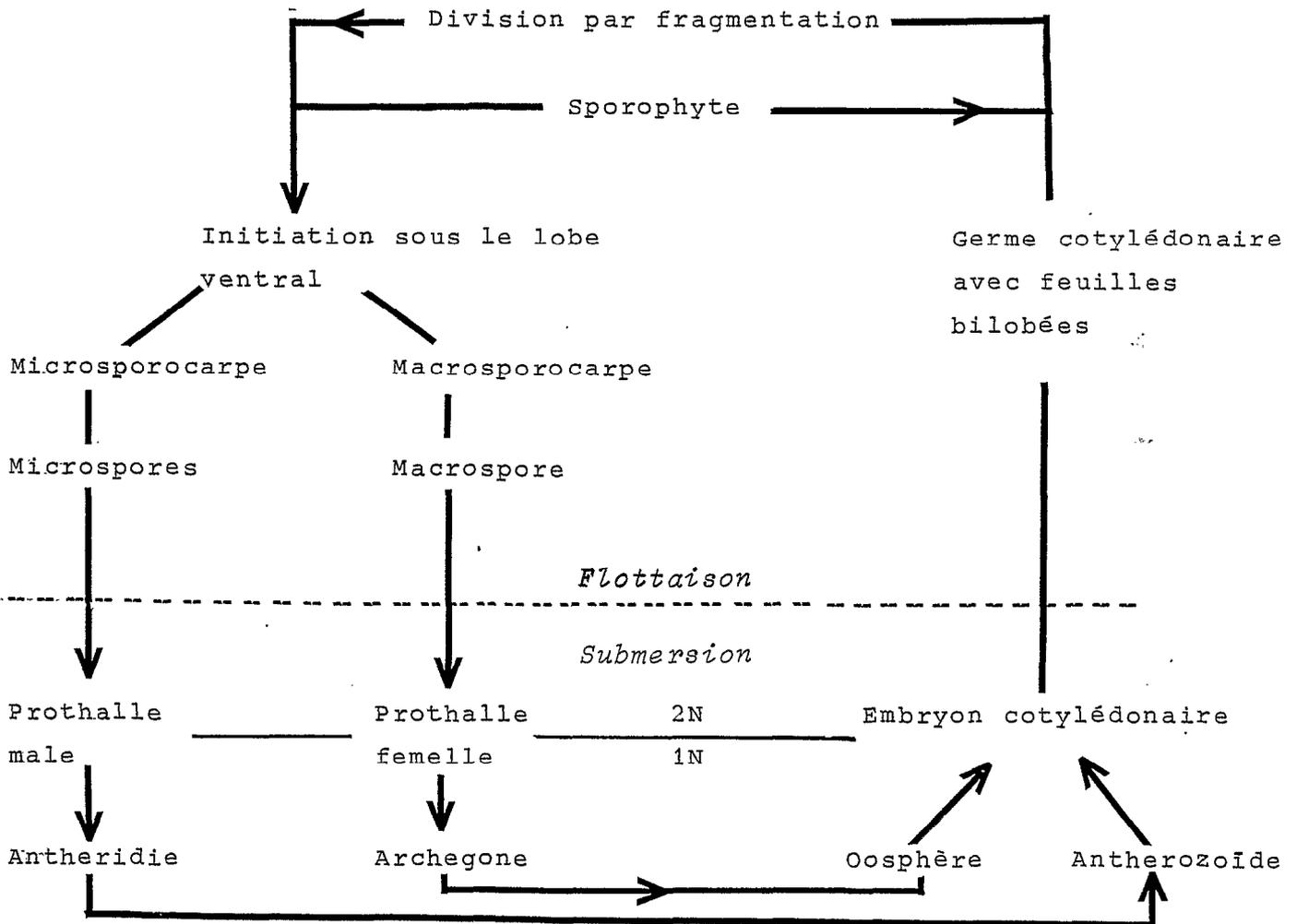


Figure 4-14: Cycles sphérophyte et gamétophyte d'*Azolla* d'après Lumpkin et Plucknett (1982).

Le cycle est complexe car il comprend une partie en pleine eau: initiation à la sporulation, puis une séparation des spores mâles qui coulent et des spores femelles qui flottent. Par déhiscence les macrospores perdent leurs flotteurs, produisent une archégone; les microspores germent, forment des antherozoïdes et viennent, grâce aux mouvements de l'eau, se fixer sur les fins filaments recouvrant l'archégone (Pieterse et coll., 1977) pour la fertiliser (Figure 4.-14). Les gamètes fécondés peuvent résister à la dessic-

cation et survivre plus d'un an à sec (Yu, 1979). Il faut ensuite un à deux mois pour obtenir des frondes de taille normale (Watanabe, 1982).

L'initiation a lieu sous le lobe ventral de la première feuille des rameaux secondaires (Fig. 4-5A); deux macrospores contenant chacun 32 macrospores produites par méiose forment le premier stade; si toutes les macrospores avortent, deux microspores sont initiés; si une seule macrospore se développe, elle voisinera avec un microspore dans la même indusie (Pfeiffer, 1907). Les spores sont groupées par deux (sauf chez *A. nilotica* où elles sont groupées en tétrade): 2 mâles ou un mâle et une femelle; dans ce cas le microspore cache complètement la macrospore (Fig. 4-5B). Pour une étude sur l'initiation de la sporulation deux données sont à considérer: le nombre total de microspores, indice de l'importance de la sporulation, et le pourcentage de macrospores par rapport aux microspores, plus ce pourcentage est fort plus il y a de possibilités de reproduction, chaque macrospore ne donnant qu'une oosphère.

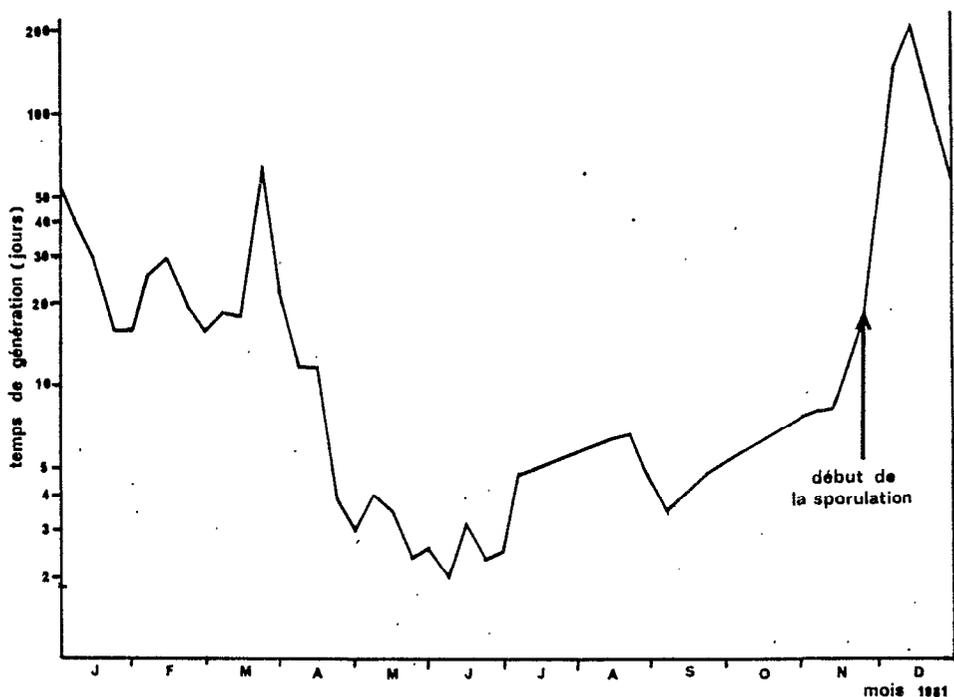


Figure 4-15: Cycle de développement chez *A. africana* à Dakar (Sénégal) pendant l'année 1981. Moyennes des temps de génération mesurés sur 4 bacs de $1m^2$, 2 à 4 fois par mois.

Au Sénégal la sporulation est initiée en fin Novembre - début Décembre; elle correspond à d'importants changements bioclimatiques: les mares contenant *Azolla* commencent à s'assécher, la température diminue jusqu'à 16-20°C nuit - 22-23°C jour, l'humidité relative passe

de 90-50% à 90-35%, tout ceci entraînant un arrêt de la croissance (Fig. 4-15).

Tableau 4-9: Influence de facteurs physico-chimiques: ensoleillement, température, composition du milieu de culture sur la sporulation d'A. africana; les spores ont été comptées sur 10 g poids frais d'Azolla. Les macrospores ont été évaluées en comptant les microspores non appareillées.

Traitements	Microspores	Macrospores	%macrospores
1 milieu complet + sol de rizière + lumière directe (frondes rouges)	129	45	35
2 idem mais lumière optimale (frondes vertes)	109	21	19
3 idem mais en serre (atténuation des \neq de température)	113	15	13
4 milieu complet en serre	15	11	73
5 milieu sans phosphore	312	148	47
6 milieu sans calcium	99	43	43
7 milieu sans magnésium	79	45	57
8 milieu sans fer	13	13	100
9 milieu sans potassium	30	18	60
10 milieu sans oligoéléments	169	75	60
11 eau déminéralisée	303	145	48

Les numérations effectuées montrent que la sporulation est plus importante dans les conditions de stress les plus fortes (variations de température et d'intensités lumineuses) et qu'elle est favorisée en présence de sol de rizière (traitements 1 à 4, Tableau 4-9). C'est cependant l'absence de phosphore (traitements 5 et 11) qui est le facteur le plus stimulant. Pour A. mexicana, Bai Ke-shi et Watanabe (1982) confirment que l'induction aux basses températures (26°C/10°C) est le principal facteur promouvant la sporulation et qu'il est possible qu'Azolla excrète elle-même un facteur inductif.

Il serait maintenant important de savoir si à la suite des conditions de stress induisant une sporulation maximale la germination est elle aussi, augmentée; nous n'avons pas pu l'obtenir jusqu'à présent dans des conditions contrôlées ni même l'observer "in situ".

3.6. Extrapolation des résultats de l'étude écophysiological en vue d'essais agronomiques

3.6.1. Evapotranspiration

L'évapotranspiration potentielle est la somme de la quantité d'eau évaporée par le sol et la plante et de l'eau consommée par la plante. La consommation moyenne journalière pour le riz est d'environ 8mm de hauteur d'eau par jour. L'apport d'Azolla dans la rizière devrait augmenter cette consommation.

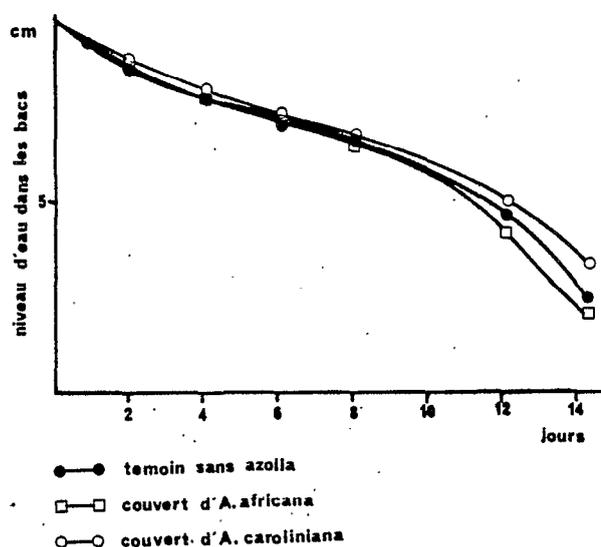


Figure 4-16: Evapotranspiration d'Azolla africana et d'A. caroliniana dans des bacs de 22 x 22 cm, milieu de culture non renouvelé.

En comparant l'évaporation d'une série de bacs avec ou sans un tapis homogène d'A. africana ou d'A. caroliniana (Fig. 4-16), les consommations moyennes sont identiques: 6 mm de hauteur d'eau par jour. Azolla arrête totalement l'évaporation et utilise une quantité d'eau équivalente pour son métabolisme. Un calcul du coefficient K d'évaporation par la formule de Blaney et Criddle donne une valeur de 0,1 alors qu'elle varie de 0,75 à 0,90 pour la tomate et de 0,5 à 1 pour le coton (I.R.A.T., 1975). Evidemment les conditions de l'expérience sont peut être trop parfaites, le tapis d'Azolla recouvrant entièrement la surface des bacs; l'évapotranspiration serait plus importante avec un tapis très épais ou au contraire plus fragmenté.

Azolla ne peut pas être considérée comme augmentant significativement le bilan hydrique de la rizière.

3.6.2. Productivité

L'extrapolation du taux de productivité maximum trouvé sous ombrage (R & R, 1979) soit 224 g de matériel végétal frais en 15 jours pour une surface utile de 1750cm^2 , indique une potentialité de production de 311 tonnes par hectare et par an. Pour un poids sec égal à 6% du poids frais et une teneur en azote moyenne de 2,7% chez A. africana, la quantité d'azote correspondante serait de $504\text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$, semblable à celle que donne Becking (1979) de $670\text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$. De telles valeurs calculées sur la base d'une production continue sur une année, sans considérer l'épuisement du milieu et la limitation dans l'espace, ne se produisent jamais dans la nature. Pour une estimation plus proche de la réalité, nous avons suivi pendant l'année 1981 la croissance d'A. africana dans 4 bacs de 1m^2 . Les frondes étaient collectées toutes les semaines ou tous les 15 jours, pesées et réinoculées à raison de $0,2\text{ kg}/\text{m}^2$ dans du milieu neuf. Les cultures étaient protégées des trop fortes intensités lumineuses par une toile moustiquaire (Fig. 4.-15). L'année se divise en deux périodes:

- de novembre à mi-avril A. africana a un temps de génération assez lent et sa croissance stoppe pendant toute la période de sporulation ($\text{tg} > 50\text{ j}$);
- de mai à octobre, période qui correspond à celle de la culture du riz, le temps de génération est inférieur à 5 jours; si l'on admet un tg moyen de 4 jours, 200 g d'Azolla ont produit pendant cette période 22 g d'azote par m^2 soit $220\text{ kg N}_2/\text{ha}$, quantité bien supérieure à l'apport d'engrais azoté combiné recommandé ($120\text{ kg N}_2/\text{ha}$). Pendant un cycle cultural du riz, en optimisant les conditions de culture, les chercheurs chinois ont obtenu des récoltes d'Azolla comprises entre 26 et $288\text{ kg}\cdot\text{N}_2\cdot\text{ha}^{-1}$ (Stewart, 1980).

3.6.3. Estimation de l'activité réductrice d'acétylène

L'activité réductrice d'acétylène est optimale sous une $I\lambda_{-}$ maxima de 60 klux, à 30°C , avec une culture en phase de croissance continue dans un milieu sans azote. Si l'on considère que le rapport $\text{C}_2\text{H}_4/\text{N}_2$ est de 2 sous 0,6 atmosphère d'azote pour l'association symbiotique (Peters et coll., 1977), et que la fixation nocturne est comprise entre 17 et 37% de la fixation diurne (10-50% pour Talley et Rains, 1980), l'extrapolation de la courbe journalière d'ARA conduit à une fixation d'azote comprise entre $1,4$ et $1,7\text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$, soit environ $560\text{ kg}\cdot\text{N}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$.

Cette valeur est de l'ordre de celles observées chez les légumineuses les plus efficaces (600 à 800 kg.N₂.ha⁻¹.an⁻¹, Stewart, 1977); elle diffère peu du résultat obtenu par extrapolation de la productivité. L'activité spécifique (≈ 1100 nanomoles d'acétylène par minute et par gramme de poids sec d'Azolla, gps) est en accord avec les valeurs relevées dans la littérature par Becking (1979) et Roger et Reynaud (1979).

4. CONCLUSIONS

Ces études ont mis en évidence un certain nombre de facteurs qui limitent la productivité d'Azolla africana.

Les facteurs biotiques peuvent agir de deux façons; i) comme des prédateurs ou des parasites utilisant Azolla en tant que substrat nutritif principal ou secondaire (insectes, poissons, champignons parasites); les attaques sont en général saisonnières, dépendantes des conditions climatiques et peuvent être stoppées dans la plupart des cas par l'emploi de pesticides spécifiques; ii) comme des compétiteurs pour la même niche écologique (algues vertes, Salvinia) qui se développent plus rapidement qu'Azolla lorsque le milieu s'enrichit en azote combiné. L'absence d'azote permet à Azolla un développement préférentiel qui lui fait alors jouer un rôle de bio-herbicide pour un grand nombre d'adventices du riz (Janiya et Moody, 1981).

Parmi les facteurs abiotiques, il faut considérer ceux qui affectent la physiologie de la fougère pendant sa croissance ou sa sporulation, et ceux qui exercent un effet préférentiel (Tableau 4-10) sur le processus de fixation d'azote de la cyanobactérie symbiote.

Sauf dans les cas de facteurs létaux comme la dessiccation, l'étude des facteurs limitants s'effectue sur des intervalles de temps correspondant à plusieurs générations (entre 7 et 45 jours) car les réserves de la fougère, sa configuration spatiale avec des feuilles d'âges différents, limitent l'action des facteurs stressants. Le temps que met Azolla à réagir est donc un élément important pour la hiérarchisation d'un facteur.

Ainsi les résultats des mesures d'ARA et de la composition pigmentaire confirment un effet limitant des hautes intensités lumineuses. Toutefois l'influence limitante très marquée que l'on observe après la première semaine de culture sur la croissance semble résulter

Tableau 4-10. Effet positif (+), très positif (++), négatif (-) ou non significativement différent (0) des cultures témoins des variables physico-chimiques sur la croissance, l'activité réductrice d'acétylène et la sporulation d'Azolla africana (nt: non testé).

	<u>Croissance</u>	<u>A.R.A.</u>	<u>Sporulation</u>
Intensité lumineuse	$\leq 7, \geq 90$ klux	$\leq 17, \geq 60$ klux	+> 90 klux
Température	$\leq 20, \geq 38^\circ\text{C}$	$\leq 25, \geq 35^\circ\text{C}$	+ <18°C
Dessiccation:			
98-30% h.r.			
- en 6 h 25°C	- en 6 h.	- en 1 h.	
- en 1 h 25°C	0	- en 12 h.	
avec 0,05% alginate	- en 36 h	- en 6 h.	
- en 6 h 6°C	0	- en 60 h.	
pH	$4 \leq + \leq 8$	$5 \leq + \leq 7$	nt
Carences en Fe	0	-	0
Ca	-	-	+
Mg	-	-	+
K	0	0	0
P	-	-	++
Oligoéléments	-	-	++
Eau déminéralisée	-	-	++
[NaCl]	$\leq -1,5$ g/l	≤ -3 g/l	nt
[NO ₃] 8,8ppm	0	±	nt
88 ppm	0	-	nt
[NH ₄]	≤ -44 ppm	$\leq -8,8$ ppm	nt

en grande partie de la variation brutale de l'intensité lumineuse à laquelle sont exposées les plantes lorsque l'inoculum cultivé en serre ($I_{\text{max}} = 30$ klux) est exposé directement à la lumière solaire ($I_{\text{max}} = 90$ klux). Si après 15 jours la croissance redevient normale, l'ARA reste significativement inférieure au témoin.

Cette plus grande sensibilité de l'ARA est constatée dans presque tous les cas de stress; seul l'effet négatif de l'augmentation en NaCl est plus sensible sur la croissance que sur l'ARA, mais on ne peut dire s'il s'agit du rôle protecteur de la fougère ou plutôt d'une plus grande adaptabilité de la cyanobactérie aux variations de salinité. Ce n'est qu'après 45 jours que l'on peut

observer des différences significatives dans l'initiation à la sporulation, alors qu'elles sont évidentes après 3 semaines sur la croissance et après 12 jours sur l'ARA dans les cas de carence en éléments minéraux.

L'effet limitant des hautes intensités lumineuses est cependant insuffisamment marqué pour pouvoir justifier l'absence de développement spontané d'A. africana dans la plupart des zones rizicoles du Sénégal. Les températures supérieures à 38°C ont un effet inhibiteur marqué, les températures inférieures à 18°C arrêtent la croissance mais favorisent la sporulation.

Les sols de rizière du Sénégal ont un pH bas, voisin de 5,5 après une semaine de submersion (Garcia et al., 1973) favorable à la croissance d'Azolla africana.

Il semble donc que la répartition limitée d'A. africana soit plus liée à un problème de conservation et de dissémination qu'à des conditions limitant son développement; la durée de la saison sèche (8 mois) et la rareté de points d'eau permanents sont peu compatibles avec la conservation d'une plante qui ne supporte pas la dessiccation. Bien qu'à l'analyse de nos études écophysiologicalues, la souche d'A. caroliniana semble mieux adaptée aux conditions de la zone soudano-sahélienne, elle n'a jamais manifesté de sporulation, sa survie est conditionnée par une maîtrise constante de l'eau. Aussi les essais d'inoculation en présence de riz seront effectués avec la souche autochtone; sporulante, et dont on peut penser que le cycle sexuel, même non contrôlé, assurerait une possibilité de survie supérieure au cycle végétatif d'une année sur l'autre.

Il sera tenu compte pour les inoculations d'Azolla africana des facteurs analysés et hiérarchisés de la façon suivante :

- 1) une maîtrise totale de l'eau;
- 2) une protection contre les hautes intensités lumineuses par un ombrage;
- 3) une multiplication lorsque les températures minimales seront supérieures à 18°C nuit - 25°C jour;
- 4) un apport de phosphore, et à un degré moindre, de calcium, de magnésium et d'oligoéléments;
- 5) une protection antiparasitaire.

L'apport d'azote minéral, même à de faibles concentrations, n'est pas indispensable pour Azolla, mais peut être profitable aux premiers stades de la croissance du riz.

CHAPITRE 5: ESSAIS AGRONOMIQUES POUR L'UTILISATION OPTIMALE D'AZOLLA
PINNATA VAR. AFRICANA EN RIZICULTURE



Figure 5-1: Rizière de la vallée de Koular avant le repiquage du riz. Les plants sont groupés en poquets. Sur le tapis d'Azolla africana qui recouvre toute la rizière, quelques feuilles de nénuphars sont visibles à gauche.

I. INTRODUCTION

L'utilisation d'Azolla comme engrais azoté date du 11^e siècle au Vietnam (DAO et TRAN, 1979) et de la dynastie Ming (1368 - 1644, LUMPKIN et PLUCKNETT, 1982) en Chine, mais ce n'est qu'à partir de 1930 que les agronomes ont commencé à étudier scientifiquement les utilisations traditionnelles d'Azolla (NGUYEN CONG TIEU, 1930). Depuis, l'intérêt n'a fait que croître jusqu'aux congrès "Nitrogen and Rice" (Los Banos, Philippines, 1978) et "First International Workshop on Practical Application of Azolla for Rice Production" (Mayaguez, Porto Rico, 1982).

Au Sénégal, les populations des vallées du Saloum ont toujours observé des Azolla dans leurs rizières. Si les femmes affirment qu'Azolla étouffe les jeunes pieds de riz, elles confirment cependant que le rendement en épis est supérieur dans les rizières recouvertes par Azolla par rapport à celles où il n'y en a pas. Toutefois, et bien qu'elles n'utilisent jamais d'engrais azoté, le rôle d'apport d'azote par Azolla n'est pas clairement appréhendé.

Les ethnies vivant en Casamance et dans le Sine Saloum ont des noms différents pour désigner Azolla:

diola - Oussouye : *egu - lungate*

Bignona : *yangombene*

sérère - Néma, Guilar, Sourï : *gookalek* (coq)

ngénanké (tétu, gênant)

diélakourto (l'eau qui
porte un habit)

nambam, mbaan

mandingue - Koular: *koubang, pacoum pacoum, freteto*

woolof - Néma : *cokok*

[poular - Keurboy] : *thiopotis* (mauvaise herbe).

Il est à signaler que les peuls de Keurboy utilisent Azolla comme légume dans le couscous.

Dans les vallées de Koular et de Néma, les cultures s'échelonnent sur toute l'année. Les femmes s'occupent de la répartition des rizières et de la culture du riz, les hommes de la mise en état du sol.

Aux premières pluies, les frondes d'Azolla qui ont survécu pendant la saison sèche dans les rares mares perennes se développent végétativement et s'étalent avec l'augmentation de la nappe d'eau. Le riz est semé en poquets en avril dans ces mares sur de petites buttes au niveau de l'eau (Fig. 5-1). Après la première pluie, le riz

Figure 5-2: Quelques étapes de l'utilisation agronomique d'Azolla pinnata var. africana.

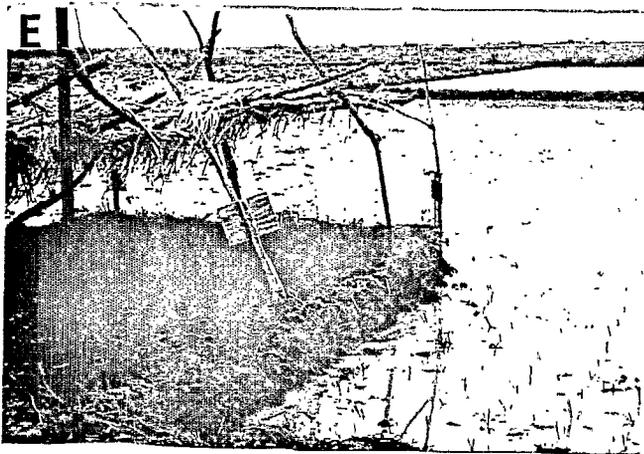
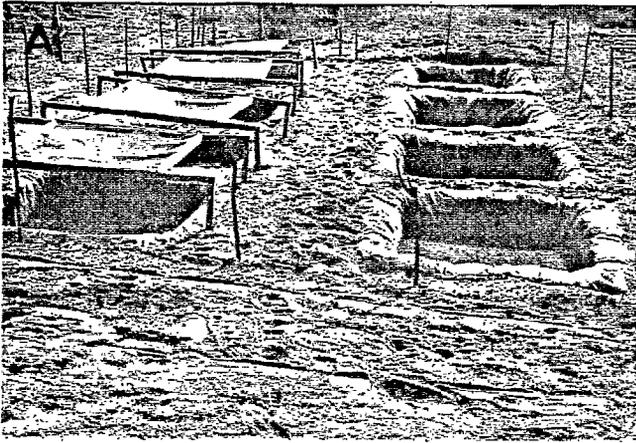
A : bacs de 1m^2 pour l'étude de la croissance annuelle d'Azolla africana, à gauche la toile moustiquaire laisse passer 60% de l'intensité lumineuse incidente (cf. Chap. 4: 3-3.1).

B : Essais d'inoculation d'Azolla en parcelles de 2m^2 . L'aire de culture est entièrement entourée d'un filet assurant la protection contre les oiseaux, les grenouilles et les rats qui pourraient détruire la récolte et/ou contaminer les parcelles non inoculées.

C : Vallée de Koularban: 1, culture d'arachide, 2: culture de tomates, 3: rizières inondées en saison humide, 4: sol submergé pendant toute l'année.

D : Vallée de Néma avec les 4 zones de culture bien marquées; en 1981 cette paysanne était chargée de répartir les rizières entre les femmes du village.

E : Essai d'inoculation d'Azolla africana à Kaédi (O.M.V.S., Mauritanie). L'inoculum est cultivé sous un ombrage de pailles à gauche, en attendant que le riz soit assez développé pour faire un ombrage protecteur.



est repiqué par les paysannes mandingues qui en même temps essaient Azolla. Il n'y a pas de verse mécanique due à Azolla car les pieds de riz, hauts de 30 à 50cm dépassent suffisamment le niveau de l'eau. Un sarclage, 15 jours après le repiquage, consiste à enlever les rares mauvaises herbes ayant pu pousser à travers le tapis d'Azolla et à enlever ce tapis. Ce matériel végétal est déposé sur les murets limitants les rizières où il sèche très rapidement. A la pluie suivante, la fraction desséchée ou décomposée de ce matériel retourne à la rizière et constitue un engrais vert. Les Azolla restantes, accolées aux pieds de riz, servent d'inoculum pour la formation d'un deuxième tapis végétal. Avec l'augmentation de la surface des rizières, elles suivent le repiquage du riz d'une part, et disparaissent progressivement des eaux les plus profondes où elles sont entraînées par la vitesse du courant d'autre part. A la fin de la saison des pluies (octobre), les Azolla sèchent sur place sur les flancs de la vallée ou se trouvent dans les mares perennes. Après les récoltes du riz en novembre-décembre, la vallée est préparée pour une culture de primeurs de contre-saison. Une analyse du sol sur un profil dans les vallées de Koular et de Néma (Fig. 5-2C,D) montre l'importance de l'apport de matériel végétal azoté (Tableau 5-1).

Les concentrations en N et C sont quatre fois plus importantes dans les zones constamment submergées (culture du riz, Azolla présente) que sur les zones de crête (culture de mil ou d'arachide, absence d'Azolla).

Dans ces deux vallées Azolla est considérée à priori comme une mauvaise herbe, l'amendement du sol corrélative n'est pas bien comprise par les paysannes qui n'ont pas de techniques particulières pour optimiser son utilisation.

Les essais agronomiques que nous avons conduits sur quatre cycles culturaux doivent permettre d'établir les principes de cette technologie pour la riziculture traditionnelle.

	Rassim.	pH (sol)	C °/oo	N °/oo	C/N
Vallée de Koular	ppm				
- Niveau 1 (arachide)	10	4,8	2,8	0,28	10,0
- Niveau 2 (tomate)	10	4,9	5,2	0,46	11,3
- Niveau 3 (riz)	30	4,8	8,4	0,94	8,9
- Niveau 4 (riz)	20	5,5	14,8	1,22	12,1
Vallée de Néma					
- Niveau 1 (mil)	30	6,4	5,8	0,59	9,8
- Niveau 2 (légumes)	30	6,6	7,1	0,52	13,7
- Niveau 3 (riz)	20	6,5	13,2	1,05	12,6
- Niveau 4 (riz)	50	5,5	22,2	1,88	11,8

Tableau 5-1. Analyse des profils des vallées de Koular et de Néma; sol faiblement ferrallitique sur grès sablo-argileux, pauvre mais bien drainé.

Niveau 1: ligne de crête sans Azolla, Niveau 2: limite supérieure d'Azolla atteinte seulement au maximum de l'extension des rizières, Niveau 3: submersion et couverture d'Azolla pendant toute la saison humide, Niveau 4: submersion et couverture d'Azolla toute l'année.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation des parcelles expérimentales

Le sol dit "de Bel Air" (Tableau 5-2), très pauvre en éléments minéraux est utilisé comme support de culture. Sa faible teneur en argile et donc sa grande perméabilité nous a obligés à préparer des parcelles de 2m² contenant 950 kg de sol sec maintenu par un film plastique de 180µm d'épaisseur (Figure 5-2B). Il y a quatre parcelles par traitement et ceux-ci sont répartis au hasard sur l'aire de culture.

Le niveau de l'eau dans les parcelles est maintenu normalement à 5cm au dessus du sol par l'apport d'eau de la ville, sauf lors du repiquage du riz et de l'enfouissement d'Azolla.

Tableau 5-2. Composition du sol "de Bel Air"

Argile	3,6%	P ₂ O ₅ total	o/oo : 0,43	Ca ⁺⁺	1,64meg/100g
Limon fin	1,8%	P ₂ O ₅ assimil.	o/oo : 0,13	Mg ⁺⁺	0,44 "
Limon grossier	1,5%	C	o/oo : 3	K ⁺	0,20 "
Sable fin	53,6%	N	o/oo : 0,14	Na ⁺	0,07 "
Sable grossier	38,6%	Fe ₂ O ₃ total	o/oo : 0,71		
pH-H ₂ O:	7,5	pH-KCl	: 4,2.		

2.2. Conditions de culture

Le riz dans les essais est le IR 1529 sauf pour l'expérience en saison froide (contre-saison) 1981 où il s'agit du KN 1H300. En effet cette variété a une meilleure croissance que IR 1529 à des températures basses (15-30°C) et à une humidité relative plus faible.

Les graines sont mises à germer en poquet pendant 24 jours avant d'être repiquées.

Dans les traitements avec azote, celui-ci, sous forme de perlurée, est appliqué en trois fois: immédiatement avant le repiquage, 20 jours et 40 jours après le repiquage. Dans tous les traitements, le potassium est apporté sous forme de KCl à raison de 25 kg K₂O.ha⁻¹, avant le repiquage. Le phosphore, sous forme de superphosphate, est apporté à raison de 25 kg de P₂O₅.ha⁻¹, soit en enfouissement avant le repiquage, soit en solution pulvérisée sur Azolla suivant le traitement.

L'insecticide Carbofuran 10G est répandu à raison de 1 kg de matière active à l'hectare en 2 applications: un enfouissement avant le repiquage et un épandage après le repiquage. La récolte est effectuée manuellement, le nombre d'épis par thalle est compté, les épis, les graines, la paille sont pesés et l'azote total est dosé sur chaque fraction. Après la récolte, le dosage de l'azote total est effectué sur un échantillon de sol par parcelle, regroupant 10 prélèvements de 5cm de diamètre et 20 cm de profondeur.

2.3. Préparation de l'inoculum d'Azolla

Azolla, prélevée dans la vallée de la Néma la veille de l'inoculation en parcelles, est lavée doucement dans un bac contenant une solution d'eau de Javel (5mg.l⁻¹ de Cl actif), puis rincée en évitant que les racines ne se détachent, essorée sur un tamis puis sur du papier buvard, et conservée en chambre froide. Une fraction est

prélevée pour la mesure du poids sec et le dosage de l'azote. Le poids frais d'Azolla après croissance est déterminé en ramassant avec un tamis toutes les frondes de chaque parcelle, en les lavant, les égouttant et les pesant. Les réinoculations sont faites avec 200 g de poids frais d'Azolla par m². Pour enfouir Azolla, les parcelles sont mises à sec par siphonnage et le tapis d'Azolla est enfoncé dans la boue avec les pieds. Dans les traitements avec Azolla séchée: les frondes sont déshydratées à 60°C puis broyées, l'azote total est dosé et la poudre est enfouie à la place de la première application d'engrais azoté.

2.4. Protocoles expérimentaux

L'apport d'Azolla est testé sur 4 cycles culturaux du riz: pendant les hivernages 1980, 1981 et 1982 et pendant la saison froide 1981. Les protocoles expérimentaux sont inspirés de ceux proposés par l'International Network on Soil Fertility and Fertilizer Efficiency in Rice (INSFFER 1979, 1980) pour les hivernages 1980 et 1981 et l'effet résiduel d'Azolla est mesuré pendant la saison fraîche 1981 pour l'hivernage 1980 et pendant l'hivernage 1982 pour le précédent.

2.4.1. Plan de l'expérience réalisée pendant l'hivernage 1980.

Aux neuf traitements proposés par l'INSFFER, nous avons ajouté un dixième traitement consistant à incorporer de l'Azolla séchée et broyée à raison de 60 kg N/ha:

- traitement* 1 : témoin sans azote et sans Azolla
traitement 2 : 30 kg N/ha " "
traitement 3 : 60 kg N/ha " "
traitement 4 : après couverture totale avec Azolla, incorporation avant repiquage, pas d'engrais azoté
traitement 5 : Azolla est inoculée après repiquage et incorporée après qu'elle ait recouvert totalement la parcelle, pas d'engrais azoté
traitement 6 : identique au traitement 5, mais Azolla n'est pas incorporée
traitement 7 : identique au traitement 4 avec 30 kg N-urée
traitement 8 : identique au traitement 5 avec 30 kg N-urée
traitement 9 : traitement 4 et 5: Azolla est inoculée avant le repiquage, enfouie; réinoculée après repiquage puis enfouie chaque fois qu'elle recouvre totalement la parcelle

traitement 10 : Azolla séchée-broyée et incorporée à l'équivalent de 60 kg N/ha avant le repiquage.

Le repiquage a lieu le 23 juillet et la récolte le 25 octobre.

Les précipitations totalisent 336mm durant cette période.

2.4.2. Plan de l'expérience réalisée pendant la saison froide 1981

Les 10 traitements précédents sont reconduits dans les mêmes parcelles. Les traitements 1, 2 et 3 reçoivent les mêmes doses d'engrais, les autres traitements ne reçoivent que P et K, sans inoculation d'Azolla. Le repiquage a lieu le 25 février 1981 et la récolte a lieu le 17 juin 1981, il n'y a pas eu de pluies durant cette période.

2.4.3. Plan de l'expérience réalisée pendant l'hivernage 1981

Le but principal de ces essais était de déterminer si le type de répartition des plants de riz: espacement régulier 20cmx20cm ou en avenues:40cmx10cm avait une influence sur le développement d'Azolla et sur la récolte. Huit traitements étaient proposés par l'INSFFER:

traitement 1 : témoin sans azote, sans Azolla, espacement 20 x 20

traitement 2 : 60 kg N-urée/ha, sans Azolla, espacement 20 x 20

traitement 3 : 60 kg N-urée/ha, sans Azolla, espacement 40 x 10

traitement 4 : 30 kg N-urée/ha, inoculation avec 0,3 kg d'Azolla poids frais/m², incorporation de 2 kg par m² soit 30 kg N-Azolla/ha, un jour avant le repiquage, espacement 20 x 20

traitement 5 : identique au traitement 4, espacement 40 x 10

traitement 6 : pas d'N-urée, inoculation avec 0,3 kg d'Azolla poids frais/m² 18 jours avant le repiquage, incorporation 1 jour avant repiquage, réinoculation de 0,3 kg après repiquage, incorporation après couverture totale de la parcelle, réinoculation: ces opérations sont répétées 4 fois pendant le cycle du riz, espacement 20 x 20

traitement 7 : identique au traitement 6, espacement 40 x 10

traitement 8 : sans azote, l'inoculation a lieu seulement après le repiquage, espacement 40 x 10.

Le repiquage a lieu le 28 août 1981 et la récolte le 16 novembre; pendant cette période, les précipitations sont de 227 mm.

2.4.4. Plan de l'expérience pour l'hivernage 1982

L'effet résiduel d'Azolla est testé sur les mêmes traitements qu'en hivernage 1981 reconduits dans les mêmes parcelles, le traitement 2 reçoit 30 kg N-urée/ha et le traitement 3, 60 kg N-urée/ha; il n'y a pas d'apport d'N-urée sur les autres traitements. Le repiquage a lieu le 4 août 1982 et la récolte le 20 octobre 1982; pendant cette période les précipitations sont de 265mm.

Il faut signaler, pour une explication des rendements obtenus qu'à la suite des cultures précédentes, certaines bâches plastiques fuyaient. Nous avons testé l'étanchéité de chaque parcelle par une mise sous eau, puis enlevé tout le sol des parcelles incriminées pour remplacer les bâches plastiques, remis le sol et mis sous eau de nouveau pour confirmer l'étanchéité.

2.5. Détermination du rapport azote ammoniacal/azote total

Le rapport entre l'azote ammoniacal (dosage colorimétrique par le réactif de Nessler) libéré par Azolla africana et le contenu azoté total (dosage de Kjeldahl) est réalisé pendant la déshydratation de la fronde à l'air libre ou pendant sa décomposition à l'obscurité en atmosphère confinée humide. Des prélèvements sont effectués après 24h, 48h, 4 jours, 7 jours et 10 jours, les résultats sont les moyennes des rapports obtenus dans trois flacons différents contenant chacun 1 g d'Azolla poids frais.

3. RESULTATS

Trois possibilités d'utilisation d'Azolla comme engrais vert en riziculture peuvent être envisagées, i) la préparation dans des unités spécialisées d'une biomasse importante (30 tonnes poids frais/ha) et son incorporation dans les rizières, solution irréaliste (coût de la main d'oeuvre et du transport) ii) l'inoculation avec Azolla dans la rizière et sa multiplication puis son incorporation avant le semis ou le repiquage du riz, ce qui donnera lieu à une "azollisation simple"; iii) l'inoculation avec Azolla et sa multiplication dans la rizière pendant la croissance du riz avec ou sans incorporation, on aura alors une "azollisation couplée" autrement appelée "culture associée".

3.1. Choix du mode d'inoculation : essais de l'hivernage 1980

Les 10 traitements choisis permettent de préciser:

- s'il est préférable d'inoculer Azolla avant (tr.4), après (tr.5)

- ou avant, puis de nouveau après (tr.9) le repiquage du riz;
- si l'enfouissement d'Azolla a (tr.4,5) ou n'a pas (tr.6) d'effet positif sur les rendements;
 - si l'apport, avec Azolla, de 30 kg d'azote minéral (tr.7,8) augmente significativement les rendements sur les traitements sans azote (tr.4, 5, 6) ou sans Azolla (tr.1, 2, 3);
 - si l'incorporation d'Azolla séchée (tr.10) a un rendement semblable à celui obtenu pour un apport d'engrais correspondant à la même concentration d'azote minéral (tr. 3).

Pendant l'hivernage 1980 les conditions étaient optima pour le développement d'Azolla africana à la station de Dakar: intensité lumineuse maxima de 70 klux, humidité relative 98% - 50%, température variant entre 22 et 37°C.

Les rendements en grain et en paille obtenus (Tableau 5-3) font apparaître les points suivants :

- l'inoculation avec Azolla augmente toujours le rendement;
- l'inoculation avec Azolla, sans l'apport d'engrais azoté (traitements 4, 5, 6) augmente le rendement en grain de 38 à 40% par rapport au témoin sans azote, ce qui est identique au rendement obtenu avec l'apport de 30 kg d'azote minéral par hectare;
- l'augmentation de la récolte de paille est plus importante (44%) quand Azolla est incorporée (tr.5) que lorsqu'elle ne l'est pas (28 %, tr.6);
- lorsqu'aucun engrais azoté n'est ajouté, le plus haut rendement en grain (54%) est obtenu avec deux inoculation d'Azolla, l'une 15 jours avant le repiquage, l'autre après le repiquage; l'Azolla est enfouie lorsqu'elle recouvre toute la surface de la rizière (tr.9);
- l'inoculation avec Azolla, combinée à l'apport de 30 kg d'N-urée/ha (tr.7, 8), augmente les rendements de façon significativement supérieure à l'apport de 60 kg/ha d'azote-urée (tr.3);
- il n'y a pas de différence de rendements en grain entre l'incorporation ou non d'Azolla lorsqu'elle a été inoculée après le repiquage (tr. 5 et 6); le rendement en paille est supérieur avec l'enfouissement.

Les augmentations de rendement sont plus importantes que les augmentations moyennes des autres essais INSFFER 1980 (IRRI, 1981) effectués en Asie, mais nous l'expliquons par la petite taille des parcelles d'essai, et par la limitation, grâce aux bâches plastique, des pertes d'azote.

Traitements :	Grain				Paille			
	a t/ha	%	b t/ha	%	a t/ha	%	b t/ha	%
1 témoin	3,7	100	2,4	100	3,2	100	3,3	100
2 30 kg N/ha	5,1	138	2,8	117	3,9	122	4,6	139
3 60 kg N/ha	5,5	149	2,7	115	4,4	137	4	121
4 Az. avant rep., enf.	5,1	138	3,8	161	4,4	137	4,4	133
5 Az. après rep., enf.	5,2	140	3,5	146	4,6	144	4	121
6 Az. après rep.,	5,1	138	2,7	112	4,1	128	3,8	115
7 30 kg N/ha + 4	5,9	159	3,3	140	4,4	137	3,7	112
8 30 kg N/ha + 5	5,7	154	3	125	4,5	141	3,6	109
9 Az. 4 + 5	5,7	154	2,4	100	4,3	134	3,3	100
10 60 kg N.Az. /ha	4,7	127	3,1	130	3,5	109	4,2	127

rep. : repiquage ; enf. : enfouissement

(a) : saison humide 1980 ; (b) effet retard pendant la saison sèche 1981

Tableau 5-3:

comparaison de l'apport d'urée et/ou d'Azolla sur la récolte en grain et en paille comme INSEFER
l'a proposé pour la saison humide 1980 (variété de riz : IR 1529)
et effet retard sur une culture de riz pendant la saison sèche 1981 (variété de riz : KNLH300)

Traitements	N importé - g.m ⁻²			N exporté par le riz (grain + paille)			N ‰ total dosé dans le sol après a + b
	u: urée, a: Azolla						
	a	b	a + b	a	b	a + b	
1 Témoin	0	0	0	45	34	79	0,135
2 30 kg N/ha	30u	30u	60	60	42	102	0,145
3 60 kg N/ha	60u	60u	120	66	40	106	0,149
4 Az. avant rep., enf.	20a	0	20	62	51	113	0,160
5 Az. après rep., enf.	7,5a	0	7,5	64	46	110	0,140
6 Az. après rep.	12,4a	0	12,4	61	44	105	0,153
7 30 kg N/ha + 4	30u+34a	0	64	69	44	113	0,133
8 30 kg N/ha + 5	30u+15a	0	45	68	40	108	0,164
9 Az. 4 + 5	35,8a	0	35,8	67	34	101	0,149
10 60 kg N-Az./ha	60a	0	60	55	43	98	0,156

rep. : repiquage, enf. : enfouissement ; (a) : saison humide 1980, (b) : saison sèche 1981.

tableau 5-4:

Influence de l'apport d'azote sous forme d'urée et/ou d'Azolla sur le contenu azoté de la récolte et du sol.

L'incorporation d'Azolla préalablement séchée et broyée (tr.10) donne des rendements significativement inférieurs (test F) aux autres types d'inoculation et d'incorporation d'Azolla. La comparaison des rendements dans les traitements 3 (60 kg N-urée/ha) et 10 (60 kg N-Azolla/ha) montre que l'azote d'Azolla est moins rapidement disponible que l'azote-urée pour le riz. Dans le cas où la décomposition de la poudre d'Azolla est rapide il peut y avoir formation de substances défavorables à la croissance du riz.

La croissance d'Azolla exprimée en g d'azote par m² (tr.4, 7) (Tableau 5-4) est significativement plus importante avant, qu'après le repiquage (tr.5, 6, 8); elle est, de plus, favorisée par l'apport de 30 kg/ha d'N-urée en 3 applications (tr.4/7, 5/8).

Sur un cycle cultural d'hivernage à Dakar, l'utilisation optimale d'Azolla est obtenue par une inoculation de 0,15 kg d'Azolla poids frais par m² (1,5 t.ha⁻¹), 15 jours avant le repiquage, en présence de 10 kg d'N-urée, et un enfouissement juste avant le repiquage, puis l'application d'N-urée 20 jours et 40 jours après le repiquage. Cette séquence sera utilisée comme culture optimisée pour les essais futurs en hivernage.

3.2. Effet résiduel des essais d'hivernage 80 sur une culture de riz, pendant la saison froide 1981.

Le développement d'Azolla africana étant très ralenti en saison froide (Fig. 4-15), il n'est pas possible de faire de nouveaux essais d'azollisation ; par contre, il est alors possible d'évaluer l'effet résiduel provenant de l'inoculation d'Azolla pendant la culture précédente (hivernage 1980).

La variété de riz KN1H300 remplace IR 1529; elle supporte mieux les températures plus basses et la sécheresse de l'air. Elle a des rendements en paille et en grain inférieurs à ceux de IR 1529 en saison humide (Tableau 5-3); le rapport paille/grain est significativement supérieur; IR 1529: 0,8 et KN1H300: 1,3.

A l'exception du traitement 9, sur lequel nous reviendrons, la récolte en grain et l'azote total dans le sol (Tableau 5-4), après 2 cycles de culture, sont plus élevés ou identiques dans les traitements où Azolla est introduite, que dans ceux où il y a 2 apports de 60 kg d'N-urée. Il semble donc que l'"azollisation" simple ou en culture associée permet sur deux cycles culturaux, des récoltes semblables à celles obtenues avec 60+60 kg d'N.urée.

Pendant ce cycle cultural, le fait le plus important a été le bon rendement du riz dans le traitement 10: la récolte est sembla-

ble à celle des traitements 3 (60 kg N-urée/ha), 7 et 8 (30 kg N-urée/ha + Azolla). L'azote d'Azolla, même séchée, broyée et incorporée en conditions humides, donc dans des conditions optimales de décomposition, n'est pas rapidement disponible pour le riz. Il y a, après l'incorporation d'Azolla séchée dans le sol submergé, une minéralisation aérobie suivie de la nitrification d'une fraction seulement de l'azote d'Azolla: 20% de l'azote total est minéralisé en aérobiose en 10 jours (Figure 5-3). Mais comme les 15 premiers centimètres de sol deviennent rapidement anaérobies (Loyer et coll., 1982), une dénitrification commence; dans ces conditions, l'azote d'Azolla nitrifié est perdu, et donc non disponible pour le riz. La fermentation anaérobie transforme tout au cours du cycle du riz, Azolla en fractions alors facilement minéralisables sous de futures conditions d'aérobiose. Le sol est de nouveau aéré par le labour précédant le deuxième cycle de culture et la mise sous eau; l'azote minéralisé d'Azolla sera alors prêt à être assimilé par le riz.

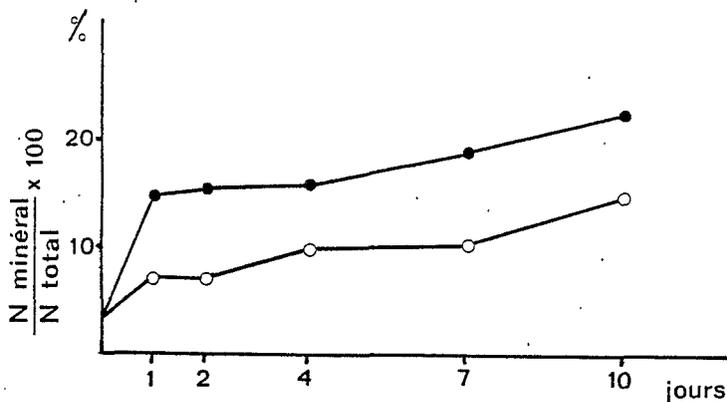


Figure 5-3. Libération d'azote inorganique par la décomposition d'A. africana en humidité saturante (●—●) et à sec (○—○). Valeurs moyennes de 3 répétitions.

Le peu d'effet d'Azolla employée comme un engrais vert sur un premier cycle cultural (tr.10) pourrait être augmenté en la compostant et en l'incorporant dans le sol la veille du repiquage afin de fournir aux jeunes plants de riz de l'azote directement assimilable.

Dans le cas des azollisations, une partie de la décomposition des frondes s'effectue dans l'eau, l'azote est donc facilement disponible; de plus les enfouissements successifs permettent l'aération de l'horizon superficiel du sol et prolongent ainsi la minéralisation.

3.3. Optimisation du rendement d'Azolla dans le système de cultures associées; hivernage 1981 et effet résiduel: hivernage 1982.

Dans les régions de Chine où il est possible de faire de la riziculture toute l'année, les pieds de riz sont repiqués tous les 7 cm sur deux rangs espacés de 13 cm; entre deux doubles rangs une "avenue" de 50 à 66cm facilite les pratiques culturales du riz et de l'Azolla: récolte, repiquage, enfouissement. Avec ce repiquage "en avenue", la production d'Azolla est beaucoup plus importante que lorsque le repiquage du riz est régulier (Liu-Chung-Chu, 1979).

En considérant qu'en fin de cycle cultural Azolla ne reçoit pas une intensité lumineuse suffisante pour une croissance optima, l'INSFFER (IRRI 1982) a proposé une étude comparative de l'effet du repiquage: régulier ou en avenues, sur le rendement du riz et d'Azolla. Nous évaluerons, sur un deuxième cycle cultural, l'effet résiduel de ce type d'incorporation d'Azolla sur les rendements en paille et en grain et la concentration en azote total du sol.

3.3.1. Rendement en paille et en grain du riz

La comparaison des rendements dans les traitements 2 et 3, 4 et 5, 6 et 7 (Tableau 5-5) montre qu'il n'y a pas de différence significative suivant le type de repiquage; ce résultat corrobore ceux obtenus dans douze des quatorze sites expérimentaux INSFFER.

La culture optimisée des essais précédents (tr.4) donne des rendements inférieurs à ceux obtenus avec plusieurs repiquages-enfouissements d'Azolla (tr.6, 7, 8) confirmant ainsi l'effet bénéfique de la culture associée par rapport à l'engrais minéral. Toutefois l'incorporation d'Azolla avant le repiquage (tr.7) n'a pas un effet très marqué par rapport au traitement où Azolla n'est incorporée qu'après le repiquage (tr.8).

Le deuxième cycle cultural qui devait évaluer l'effet résiduel de l'azollisation donne des résultats qui pourraient paraître alarmants: les traitements sans apport d'engrais azoté (tr.6, 7, 8) où l'azollisation est effective lors du premier cycle cultural, ont des rendements inférieurs au témoin (tr.1), ce qui rappelle le cas du traitement 9 lors des essais de saison froide 1981. En raison de vérifications de l'étanchéité des bacs et de retards dans la germination du riz en poquets, les parcelles ont été submergées puis asséchées 3 fois avant qu'on ne procède au repiquage.

Avant le 2e cycle cultural, l'Azolla enfouie dans le sol se décompose plus rapidement en milieu humide aérobie qu'en milieu

	Premier cycle: hivernage 1981						Deuxième cycle: hivernage 1982						
	Grain		Paille		Tallage		Grain		Paille		Tallage		
	g.m ⁻²	%	g.m ⁻²	%	épis/pieds	%	g.m ⁻²	%	g.m ⁻²	%	épis/pieds	%	
1 Témoin	415	100	477	100	7,9	100	1 Témoin	540	100	564	100	10,1	100
2 60 kg N-urée rep.20x20	493	119	535	112	8,7	110	2-30 kg N-urée	500	93	406	72	9,5	94
3 60 kg N-urée rep.40x10	451	109	532	112	9	114	3 60 kg N-urée	593	110	616	109	10,4	103
4 30 kg N-urée + Az. avant rep.20x20	469	113	467	98	8,5	107	4 30 kg N-urée	592	110	564	100	10,3	102
5 idem 4 rep. 40x10	453	109	480	101	8,6	109	5 30 kg N-urée	512	95	492	87	9,3	92
6. Az. avant et après rep. 20x20 4 enfouissements	484	117	444	93	8,4	106	6 pas d'N	412	76	394	70	8,3	83
7. idem 6, rep.40x10	518	125	492	103	9,7	123	7 idem	410	76	387	68	7,5	75
8. Az. après rep. 40x10, 3 enf.	509	123	598	125	9,1	115	8 idem	490	91	493	87	9,3	92

Tableau 5-5. : Comparaison du type de repiquage sur le rendement en riz après une "azollisation couplée" (hivernage 1981) et effet résiduel avec repiquage régulier 20 x 20 cm (hivernage 1982).

submergé (Brotonegoro et Abdulkadir, 1978); l'azote-ammonium obtenu est alors immédiatement nitrifié puis dénitrifié, donc perdu; lorsque le sol est submergé, cette déficience azotée augmente le rapport C/N du sol, car le carbone apporté par Azolla ne disparaît pas à la même vitesse. Or, comme l'opération submersion-assèchement a été effectuée 3 fois, le rapport C/N peut devenir très élevé, le sol étant alors peu propice à la riziculture. On peut aussi supposer que dans ces conditions particulières, la décomposition d'Azolla tout comme celle des pailles de mil (Ganry et coll., 1978), entraîne la formation de composés phytotoxiques.

3.3.2. Les rendements en Azolla

Sur les rendements moyens obtenus sur 13 sites, INSFFER conclut que le type de repiquage n'affecte pas de façon statistiquement significative la croissance d'Azolla. La comparaison des récoltes d'Azolla dans les traitements 6 et 7 à Dakar (Tableau 5-6) montre que le temps de génération augmente régulièrement avec le couvert végétal; de 5,7 après le repiquage, il atteint 16,2 à l'épiaison lorsque le repiquage est régulier, et passe de 5 à 12,2 avec un repiquage en avenue. Cette différence entre les temps de génération pour les 2 types de repiquage ne se manifeste cependant que lorsque le couvert végétal devient très dense (épiaison) et sur 16% de la récolte totale d'Azolla.

Dans ces traitements, 5 inoculations successives d'Azolla sont effectuées, la récolte correspond à 4,5 fois l'investissement: 16 kg.N.Azolla.ha⁻¹ inoculés pour 73 kg.N.Azolla.ha⁻¹ obtenus. Dans les traitements 4 et 5: 5 kg.N-Azolla.ha⁻¹ sont inoculés et 20 kg.N-Azolla.ha⁻¹ obtenus.

Il n'y a pas de différence significative entre des ensemencements avant repiquage avec (tr.4 et 5) et sans (tr.6 et 7) azote minéral à raison de 10 kg N-urée ha⁻¹ (Tableau 5-6).

3.3.3. Importations et exportations d'azote

Il n'y a pas de différence significative entre les traitements où l'azote est apporté: sous forme d'urée (tr.2 et 3), sous forme d'un apport d'urée et d'un enfouissement d'Azolla (tr.4 et 5), ou sous forme de plusieurs enfouissements (tr.6 et 7), tout comme dans les 9 autres des 13 sites où le protocole INSFFER est suivi. Le tableau 5-7 montre que les traitements 6,7 et 8 qui n'ont reçu que l'azote d'Azolla sont déficitaires par rapport aux autres traitements

	N importé			N exporté par le riz			N% dans le sol en fin de cycle	
	par Azolla	N-urée	Total	a	b	Total	a	b
	g.m ⁻²	g.m ⁻² a+b	g.m ⁻²	g.m ⁻²	g.m ⁻²			
1. Témoin	0	0	0	5,9	7,3	13,2	0,438	0,405
2. 60+30kg N-urée rep. 20x20	0	6 + 3	9	6,8	6	12,8	0,504	0,380
3. idem rep. 40x40	0	6 + 6	12	6,5	8	14,5	0,476	0,417
4. 30 kg N urée + Az. enf. avant rep. 20x20	3,24	3 + 3	9,24	6,2	7,7	13,9	0,400	0,413
5. idem 4 rep. 40x10	3,24	3 + 3	9,24	6,2	6,7	12,9	0,410	0,372
6. Az. enf. avant rep. 20x20, reinoc. enf. 4 fois	4,66	0	4,66	6,2	5,3	11,5	0,453	0,334
7. idem 6 rep. 40x40	5,02	0	5,02	6,7	5,3	12	0,421	0,301
8. Az. après rep. 40x10, enf. 3 fois	2,71	0	2,71	7,3	6,5	13,8	0,483	0,373

Tableau 5-7 : Importations et exportations d'azote pendant 2 cycles rizicoles d'hivernage dans des bacs de 2m²; a: incorporation d'Azolla pendant l'hivernage 1981; b: effet résiduel pendant l'hivernage 1982.

sur deux cycles culturaux. Dans le témoin (tr.1) sans azote, la récolte lors du premier cycle est plus faible qu'en 6, 7 et 8: le sol est moins épuisé en azote assimilable, l'azote total en fin de premier cycle est identique. Pendant la succession des submersions-assèchements de l'inter-saison, une dénitrification intense a lieu, l'azote disponible est beaucoup plus rare que dans le traitement 1: ceci est mis en évidence par les plus faibles quantités d'azote exportées par le riz et par l'azote total restant dans le sol en fin de culture: 0,405% pour tr.1 et 0,301% pour tr.7.

4. CONCLUSIONS

4.1. Apport d'azote par Azolla en riziculture

Suivant le régime hydrique l'apport d'Azolla a:

- i) *sur le même cycle cultural un effet positif ou nul.* Azolla décomposée en partie, en aérobiose, fournit de l'azote immédiatement disponible, qui peut soit être perdu par dénitrification dans le cas d'une anaérobiose des premiers centimètres du sol, consécutive à une submersion prolongée trop longtemps avant le repiquage, soit être assimilé par le riz si l'enfouissement a lieu juste avant le repiquage;
- ii) *sur un deuxième cycle cultural, un effet positif ou négatif.* Positif car la décomposition anoxygénique d'Azolla pendant le premier cycle cultural permet la minéralisation d'une fraction pouvant correspondre à 80% de l'azote fixé après le labour et une première submersion précédant le repiquage. Négatif si pendant l'inter-saison les conditions atmosphériques ou culturales amènent une succession d'aérobioses-anaérobioses du sol dans lequel est enfouie Azolla. Les pertes d'azote par dénitrification sont alors très importantes. Si l'apport d'azote-urée avant le repiquage ne favorise pas la croissance d'Azolla, il favorise le rendement du riz.

La culture associée riz-Azolla n'a pas un effet positif très marqué ni sur la première, ni sur la deuxième récolte par rapport à l'"azollisation simple". Si l'on tient compte des manipulations nécessaires au déroulement d'une culture associée: préparation de plusieurs inoculum, enfouissements multiples, repiquages "en avenue" non traditionnel, des gains médiocres, de l'augmentation des risques de dénitrification, d'accumulation de substances phytotoxiques, des dépenses en P_2O_5 et en insecticides triplées ou quadruplées, ce système, à priori séduisant, n'est pas à conseiller en agriculture traditionnelle; il sera préférable d'opter pour une "azollisation simple"

surtout si l'on utilise un riz à cycle court et si la maîtrise de l'eau est imparfaite.

4.2. Aspects locaux et économiques pour l'introduction de l'azollisation en riziculture traditionnelle

L'introduction en riziculture traditionnelle d'une nouvelle technologie doit tenir compte de plusieurs principes fondamentaux pour ne pas être invariablement vouée à l'échec.

1) *Elle doit correspondre à une demande*: le prix de l'engrais azoté est conventionné par le gouvernement du Sénégal et n'est que de 0,90 FF/kg, soit une dépense de 117,40 FF pour 60 kg N-urée par hectare. L'engrais azoté est surtout utilisé dans les exploitations de riziculture extensive, mais très rarement en agriculture traditionnelle. Là le riz est destiné principalement à la consommation domestique; lorsqu'il est vendu c'est environ à 1,60 FF le kilo. L'azote est apporté presque uniquement sous forme de fumure organique; une pratique consiste à brûler ensemble fumier, ordures ménagères et cendres du foyer, ce qui diminue encore la quantité d'azote introduite. Le rapport pécunier étant très faible, la paysanne ne dispose pas de fonds lui permettant d'acheter même au prix conventionné l'engrais azoté indispensable à un rendement correct.

Nous avons rencontré dans toutes les vallées où Azolla existe un intérêt pour cette fougère. Les paysannes observent que lorsqu'Azolla recouvre leur rizière, le désherbage est facilité et le rendement en riz est meilleur. Bien qu'elles aient noté quelquefois des verses, elles sont plutôt favorables à des essais dirigés.

2) *Le rapport entre le bénéfice attendu et l'investissement doit être positif*. Une estimation du coût des différentes possibilités d'utilisation d'Azolla en riziculture a été réalisée:

- Azolla considérée comme un engrais vert est inoculée massivement en début de cycle cultural à raison de 60 kg N-Azolla.ha⁻¹, ce qui correspond à environ 30 tonnes de matériel frais. Pour rassembler une telle quantité d'Azolla - opération pratiquement impossible en début de saison humide - il faudrait une quinzaine de journées de manoeuvres à 20 FF, une indemnisation de l'heureux propriétaire (300 FF semblent un prix minimum), soit 600 FF pour acquérir le matériel, auxquels il faut ajouter le prix du transport et de l'enfouissement, ce qui revient à payer le kilo N-Azolla environ 1,20 FF.

Nous avons noté que le rendement en grain diminue de 22% lors d'un premier cycle (tr.3 et 10, hivernage 1980) et augmente de 15% lors d'un deuxième cycle (tr.3 et 10 inter-saison 1981).

Pour une récolte moyenne de 4 t/ha, les dépenses et les bénéfices se répartiraient de la façon suivante entre un traitement sans engrais (tr.1), un traitement avec 60 kg N-urée (tr.3) et un traitement avec 60 kg N-Azolla préparée pour l'enfouissement immédiat (tr.10) sur deux cycles culturaux:

	tr.1	tr.3	tr.10
1er cycle:	2700 kg x 1,60 = 4305 FF	4000 kg x 1,60 -(60 x 0,9) = 6346 FF	3420 kg x 1,60 - (60 x 1,2)= = 5397 FF
2e cycle:	3550 x 1,60 = 5680 FF	4000 x 1,60 - (60 x 0,9) = 6346 FF	4600 x 1,60 = 7360 FF
Total	9985 FF	12692 FF	12757 FF

Dans ces évaluations on ne tient pas compte de l'économie de main d'oeuvre due à l'absence de désherbage (Janiya et Moody, 1981). En tout état de cause lorsque l'on peut se procurer de l'azote-urée, l'incorporation d'Azolla n'est pas justifiable; par contre dans le cas contraire, un gain de 2500 FF par ha devient intéressant. Sachant que la productivité d'Azolla africana dans le mois précédant les premières pluies est assez faible au laboratoire et que les surfaces submergées sont très rares, il n'est pas possible de préparer de telles quantités d'Azolla. Tant que des fermes de productions ne sont pas mises en place, on ne peut penser à utiliser Azolla suivant cette méthode en économie traditionnelle.

Avec les mêmes données économiques, comparons les traitements d'"azollisation" simple ou en culture associée aux traitements précédents. L'inoculum de base n'est plus que de 2 t. ha⁻¹; en ajoutant la manutention et l'apport d'insecticide, la mise de fond est de 110 FF. Pour un rendement moyen en grain de 4 t.ha⁻¹ avec l'apport de 60 kg N-urée.ha⁻¹; le bénéfice de l'"azollisation" sur deux cycles culturaux sera d'environ 4700 FF par ha. Les différences entre "azollisation" simple, avec 30 kg N-urée, ou en culture associée ne sont pas significatives. La technologie de l'"azollisation" est donc particulièrement intéressante puisqu'elle permet une augmentation de bénéfice de 50% par rapport à l'agriculture traditionnelle sur deux cycles de culture.

Nous mentionnerons pour mémoire l'utilisation d'Azolla comme engrais vert pour les cultures de primeurs d'inter-saison. Pour un temps de doublement moyen de 5 jours d'Azolla, le coût du kg N-Azolla après quatre mois de culture optima serait d'environ 0,50 FF au niveau du producteur si l'investissement humain ne devient pas le facteur limitant.

3) *Le travail à effectuer doit être simple et ne pas demander de matériel trop spécialisé.* L'"azollisation" simple tient compte de ce principe. La mise sous eau des parcelles est progressive, elle est fonction du débit des pluies. L'inoculum de base conservé dans les mares pérennes pendant la saison sèche se multiplie lorsque la surface de l'eau augmente. Les parcelles font rarement plus de 2000m², donc demandent un inoculum de 400 kg d'Azolla fraîche, ce qui est relativement facile à rassembler.

Le ramassage de l'Azolla peut se faire avec un râteau à dents peu espacées, avec un filet, ou simplement à la main; les frondes sont égouttées dans des paniers en osier avant d'être transportées d'une parcelle à l'autre.

L'apport de cendres et de fumier fait partie des pratiques culturales habituelles, et seul est ajouté l'apport de carbofuran (500 g de matière active à l'hectare). L'enfouissement d'Azolla peut se faire à la main au moment du repiquage, avec les instruments aratoires traditionnels; c'est une pratique très répandue en Chine et au Vietnam. Les instruments spécialement adaptés pour l'enfouissement d'Azolla sont utilisés seulement dans les grandes exploitations il faut pour cela que le repiquage laisse un espace standard identique entre deux pieds de riz.

4) *Il doit être facile de suivre le déroulement de l'expérimentation pour pouvoir remédier rapidement aux problèmes qui se posent.* Les études écophysiologicals de la souche utilisée, introduite ou autochtone, sont à ce niveau indispensables. Azolla a la particularité de répondre visuellement par des changements de couleur et de forme à certaines conditions de stress (chap. 4.3.5.1.1.). Une observation immédiate de l'état des frondes permet donc de préciser si, par exemple, la souche est exposée à de trop fortes intensités lumineuses, si elle est carencée en fer et/ou si elle subit une attaque de parasites.

Comme il a été trouvé en Asie, pour A. pinnata, différentes sous-espèces adaptées aux conditions particulières des biotopes dans lesquels elles survivent, il peut en être de même pour A. pinnata var.

africana. Une collecte des souches de l'Ouest Africain, entreprise en collaboration avec l'A.D.R.A.O., doit permettre, à la suite de l'étude de leurs caractéristiques physiologiques, de sélectionner celles qui seront le mieux adaptées à un sol, un site ou une saison donnés.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

.....

Le principal objectif de cette étude est d'évaluer les possibilités de fixation d'azote par les microorganismes photosynthétiques libres ou en symbiose avec la fougère aquatique Azolla, dans la zone tropicale sèche Ouest Africaine. Rappelons que cette région est caractérisée par l'alternance, sur une année, d'une longue saison sèche et froide et d'une courte saison des pluies.

Comme il s'agit d'estimer les possibilités agronomiques d'une activité biologique, nous considérons non pas les espèces de cyanobactéries mais les potentialités fixatrices de la population algale d'un biotope. Pour étudier les variations relatives et absolues des groupes algaux composant la population nous adoptons la méthode des suspensions dilutions en tenant compte des contraintes suivantes :

i) Respecter pour chaque échantillonnage le même rapport de dilution entre surface du sol et eau afin de rapporter les biomasses à la même unité : $\mu^3.cm^{-2}$.

ii) Regrouper les espèces en taxons homogènes par leur réponse au processus de fixation d'azote, par la forme de leurs colonies sur le milieu sélectif, par des biovolumes voisins. Les cyanobactéries fixatrices en aéro-biose sont séparées des formes non fixatrices par leur croissance sur un milieu sans azote minéral.

iii) Deux biomasses sont significativement différentes lorsque, estimées à partir du regroupement de dix prélèvements de $1,33 cm^2$ sur $1 m^2$, l'une est trois fois plus forte que l'autre.

iiii) La comparaison des biomasses absolues ne peut se faire que sur des biotopes présentant des caractéristiques hydriques semblables (sol sec ou submersion...). En effet les formes de résistance (spores, akinètes), très fréquentes sur sol sec, donnent après réhumectation, en se développant dans les milieux de culture, des estimations supérieures à la réalité. Dans ce cas, les biovolumes des taxons mesurés sur les formes végétatives, correspondent en fait à ceux des formes de résistance en règle générale inférieures. Toutefois les biomasses relatives peuvent être comparées.

Les variations de l'organisation de la population algale sont considérées comme des réponses aux variations globales des facteurs du milieu. La méthode des suspensions-dilutions permet une représentation qualitative et quantitative de la population algale. Nous pouvons associer les facteurs du milieu à ces représentations pour développer sous cette approche nouvelle des analyses mathématiques.

Dans la zone tropicale sèche Ouest-africaine nous avons ainsi analysé 86 biotopes. Les résultats des analyses mathématiques sont confirmés par les connaissances actuelles obtenues par l'analyse des variations du nombre d'espèces présentes (MAGUE, 1977, KULASOORIYA et de SILVA, 1981, STARKS et coll., 1981). De plus nous mettons en évidence certains aspects de l'écologie des populations algales liés à la fixation d'azote biologique :

- Au sein d'une population algale, les taxons s'associent en quatre groupes représentant: les algues eucaryotes, les cyanobactéries hétérocystées, les cyanobactéries homocystées, les cyanobactéries unicellulaires.

- Les variations de l'organisation, c'est-à-dire de l'importance relative de chacun de ces groupes, sont liées principalement aux variations du pH, du contenu azoté de l'horizon de surface, de l'intensité lumineuse incidente, de l'état hydrique du biotope.

- La population algale correspond, en fonction du cycle climatique annuel, à trois états d'organisation que nous qualifions : d'état sélectif durant la saison sèche, d'état accumulatif sur les sols humides puis submergés, d'état évolutif lorsque la période de submersion se prolonge. L'état évolutif permet l'établissement d'importantes populations de cyanobactéries fixatrices.

Les études écologiques sur *Azolla* ne posent pas de problèmes méthodologiques particuliers. Les facteurs limitant sa conservation et sa dissémination sont la durée de la saison sèche (8 mois) et corrélativement la rareté des points d'eau permanents. Le développement d'*Azolla* est limité par les hautes intensités lumineuses et l'importance du complexe parasitaire.

Les études physiologiques sur les souches isolées d'une population algale sont une étape intermédiaire de l'analyse écophysiological. Elles permettent de prévoir les situations qui pourraient se produire. "in situ".

L'analyse de l'ARA en fonction du pH sur les souches isolées a mis en évidence l'existence dans le même biotope de cyanobactéries acidiphiles et basiphiles. La superposition de leurs potentialités fixatrices permet de considérer la population algale comme peu sensible aux variations de pH entre 5 et 9. Pour les autres facteurs étudiés : intensité lumineuse, température, résistance aux ostracodes, à la dessiccation, à la salinité, on note aussi la grande variabilité des réponses suivant les souches d'un biotope.

Ainsi l'estimation des potentialités fixatrices d'azote des cyanobactéries dans un biotope doit être considérée non à partir de quelques souches isolées, mais à partir de l'ensemble de la population algale.

En suivant ce principe nous analysons de façon semblable l'influence des principaux facteurs biotiques et abiotiques définis par les études écologiques sur la croissance et l'activité réductrice d'acétylène (ARA) chez les cyanobactéries libres et chez *Azolla pinnata* var. *africana*. La comparaison des résultats (tableau 1) montre que la population algale d'un biotope est plus adaptée aux conditions limitantes que la fougère.

Tableau 1.- : Comparaison des valeurs limitant l'ARA pour quelques facteurs du milieu entre *Azolla* et l'ensemble des cyanobactéries libres isolées en zone tropicale sèche.

	A. africana	Cyanobactéries libres
Intensité lumineuse incidente k lux	17-60	0,2-25
Température °C	25-35	27-45
pH	5-7	5-9
Limite supérieure (NaCl) g.l ⁻¹	3	10
Limite inférieure (phosphore) ppm	2,5	0,5

Les trop fortes intensités lumineuses provoquent photooxydation, puis lyse des cellules pour les souches libres qui ne possèdent pas de système de protection. Chez *A. africana* on notera seulement un ralentissement de la croissance et de l'ARA avec la formation d'anthocyanine. Inversement, aux très faibles intensités lumineuses, les cyanobactéries libres se comportent mieux qu'*A. africana* chez qui la perte d'ARA est notable au dessous de 17 klux.

La dessiccation létale lors du cycle végétatif d'*Azolla* en 24 h, n'est que sélective sur une population algale. Nous avons augmenté ce délai en conservant *Azolla* à 6°C dans une solution d'alginate. De même, pour chaque problème limitant le développement mis en évidence par les études écophysiologiques, nous avons préconisé des solutions.

Dans le cas des complexes parasitaires des protocoles de lutte sont précisés : - broyat de graines de neem à raison de 60 g.m⁻² contre les ostracodes cyanophages.

- métaldéhyde à raison de 250 mg.l⁻¹ pour éliminer *Limnea natalensis* des cultures d'*Azolla*

- cycloheximide en pulvérisation (20 ppm) sur les frondes d'*Azolla* pour prévenir les attaques de *Mirothecium* sp. .

L'introduction de cyanobactéries libres (algalisation) ou d'*Azolla* (azollisation) dans une rizière modifie l'évolution de ce biotope. Les essais en microparcelles nous permettent de suivre ces réactions.

Quelle que soit la qualité et la quantité d'inoculum algal, nous observons sa disparition rapide si l'algalisation est effectuée au début du cycle du riz. La survie et l'augmentation de biomasse de l'inoculum n'est positive que s'il est déposé au moment du tallage. Cette observation vient confirmer la différenciation entre état accumulatif et état évolutif de la population algale établie à la suite des études écologiques du chapitre 1. Dans le contexte d'un cycle cultural du riz, nous résumons les caractéristiques de ces états (tableau 2).

Tableau 2.- : Etats successifs de la population algale dans une culture de riz irrigué.

	du semis au tallage	du tallage à la mise à sec	après la mise à sec
	<i>Etat accumulatif</i>	<i>Etat évolutif</i>	<i>Etat sélectif</i>
Composition algale.	Majorité d'eucaryotes et d'homocystées	Développement progressif des formes fixatrices unicellulaires puis hétérocystées	Disparition des eucaryotes, fortes proportions de fixatrices, feuillage d'homocystées
Caractéristiques principales de l'environnement	fortes intensités lumineuses incidentes températures inférieures à 40°C submersion pH acide azote assimilable présent	intensités lumineuses atténuées températures inférieures à 35°C submersion ou engorgement pH neutre à alcalin N absent	fortes intensités lumineuses températures supérieures à 40°C dessiccation pH alcalin N peu disponible
Relation avec l'algalisation	disparition de l'inoculum	algalisation positive	sélection des cyanobactéries pour la préparation de l'inoculum

Les conditions développées pour l'introduction de l'azollisation en riziculture traditionnelle (chapitre 5) peuvent être étendues à l'algalisation. Nous n'avons pas fait d'estimation de bénéfice sur la base de nos essais en microparcelles. Toutefois, à titre de comparaison, Rao (1978) estime à 4 dollars (U.S) la préparation par le paysan indien de 10 kg poids sec d'inoculum algal à la ferme (All India Coordinated Project on Algae, 1979) sur laquelle il peut espérer une augmentation de la récolte correspondant à un bénéfice de 60 à 90 dollars US. L'effet cumulatif devient optimum après trois cycles du riz avec algalisation. Sur deux cycles culturaux, le bénéfice de l'algalisation serait d'environ 1 300 FF, alors qu'il est de 4 700 FF pour l'azollisation. Ces considérations très théoriques ne tiennent pas compte de l'évolution du prix du riz et de la main d'oeuvre dans les deux continents. Elles situent simplement l'importance de l'amendement des sols par les cyanobactéries fixatrices.

Les rendements moyens en riz sont de 1,3 t/ha et la production totale est de 3 millions de tonnes en Afrique occidentale (SWAMINATHAN, 1984). L'azollisation dans un premier temps apporterait une augmentation de 30 % des rendements en grain. Il serait possible d'associer par la suite l'algalisation au tallage à une azollisation avant le repiquage, ou d'utiliser l'algalisation sur les sols salés en sélectionnant des souches de cyanobactéries fixatrices résistantes.

Les contraintes imposées par la variété et la mouvance des facteurs limitants nous permettent de définir un "plus petit commun dénominateur" aux inoculations de cyanobactéries libres ou associées avec Azolla. L'étape ultime, mais qui apparaît encore bien inaccessible, serait l'obtention d'une variété de cyanobactéries fixatrices ubiquistes, à fortes potentialités et à croissance rapide, capable de restituer rapidement au riz l'azote fixé et possédant une forte résistance aux contraintes extérieures. L'introduction d'une telle souche dans le système fournisseur d'énergie d'Azolla augmenterait encore ses capacités. Les manipulations génétiques, la réalisation du postulat de Koch sur Azolla permettraient de s'en approcher.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-
- ABELIOVICH A. & SHILO S. (1972). Photooxidative death in blue-green algae. *J. Bac.* 111 (3) : 682-689.
- AIYER R.S. (1965). Comparative algological studies in rice fields in Kerala state. *Agric. Res. J. Kerala*, 3 : 100-104.
- ALEXANDER V. (1975). Nitrogen fixation by blue-green algae in polar and subpolar regions in : Nitrogen fixation by free-living microorganisms ; edit W.D.P. Stewart I.B.P. vol. 6-11 : 175-188.
- AL-KAISI K.A. (1976). Contribution to the algal flora of the rice fields of southeastern Iraq. *Nova Hedwigia*, 27 : 813-827.
- ALLEN M.M. & STANIER R.Y. (1968). Selective isolation of blue-green algae from water and soil. *J. Gen. Microbiol.*, 51 : 203-209.
- All India Coordinated Project on Algae (1979). Algal biofertilizers for rice. India Agricultural Research Institute, New Delhi, 61pp.
- ALLISON F.E., HOOVER S.R. & MORRIS H.J. (1937). Physiological studies with the nitrogen-fixing alga, Nostoc muscorum. *Bot. Gaz.* 98 : 433-463.
- ALMON H. & BÖHME H. (1982). Photophosphorylation in isolated heterocysts from the blue-green alga, Nostoc muscorum. *Biochim. Biophys. Acta*, 679 : 279-286.
- ANANTANI Y.S. & MARATHE K.V. (1972). Observations on algae of some arid and semi-arid soils of Rajasthan. *J. Univ. Bombay*, Vol. 41 : 88-93.
- ANTARIKANONDA P. (1982). Effect of salinity on growth, nitrogen fixation and sodium uptake of rapidly growing N₂-fixing blue-green alga Anabaena sp. *Tal. Microbios* 34 : 177-184.
- ARARAGI M., PHETCHAWEE S. & TANTITANAPAT P. (1979). Microflora related to the nitrogen cycle in the tropical upland farm soils. *Soil Sci. Plant. Nutr.* 25 : 235-244.
- ARUNYANART P., SURIN A., ROCHANAHASADIN W. & DISTHAPORN S. (1982). Rotten disease of Azolla. *IRRN* 7, 1 : 10-11.

- ASHTON P.J. (1974). The effects of some environmental factors on the growth of Azolla filiculoides Lam. in : the Orange River Progress Report. Inst. Environ. Sci., University Orange Free State, Bloemfontein, South Africa ; pp. : 123-138.
- ASHTON P.J. (1977). Factors affecting the growth and development of Azolla filiculoides Lam., in Proc. Second Natl. Weed Conf. South Africa, Capetown pp. : 249-268.
- ASHTON P.J. & WALMSLEY R.D. (1976). The aquatic fern Azolla and its Anabaena symbiont. Endeavour, 35 (124) : 39-43.
- BAIANDREAU J., DUCERF P., HAMAD-FARES I., WEINHARD P., RINAUDO G., MILLIER C., DOMMERGUES Y. (1977). Limiting factors in grass N₂ fixation in "Symp. on the limitations and potentials for nitrogen fixation in the tropics". Basic life sciences Vol. 10 (J. Dobereiner et al., eds) Plenum Press, N.Y., London : pp : 275-302.
- BARBEY C. & COUTE A. (1976). Croutes à cyanophycées sur les dunes du Sahel mauritanien. Bull. I.F.A.N. 38 A4 : 732-736.
- BATTERTON J.C. & VAN BAALEN C. (1977) Growth responses of blue-green algae to sodium chloride concentration. Arch. Microbiol. 76 : 151-165.
- BECKING J.H. (1979). Environmental requirements of Azolla for use in tropical rice production. In : "Nitrogen and Rice", IRRI, Los Banos, pp : 345-375.
- BENZECRI J.P. et coll. (1976)
L'analyse des données, II. L'analyse des correspondances. Bordas Paris, Bruxelles, Montréal, 2e ed. 616 p.
- BERGERSEN F.J. (1978). Leghaemoglobin, oxygen supply and nitrogen fixation : studies with soybean nodules. In : "Limitations and Potentials for Biological Nitrogen Fixation in the Tropics". Dobereiner J., Burris R.H. & Hollaender A. (eds), New York & London, Plenum Press, pp : 247-261.
- BERHAUT J. (1967). Flore du Sénégal. 2d édition Clairafrique eds. Dakar pp : 485.
- BOOTH W.E. (1941). Algae as pioneers in plant succession and their importance in erosion control. Ecology 22 : 38-46.
- BORNET E. & FLAHAUT C. (1886-1888). Révision des Nostocacées hétérocystées. Ann. Sc. Nat., Ser. 7, Bot. 3, 4, 5, 7. (Réédition, Cramer, 1959).

- BOURRELLY P. (1970). Les algues d'eau douce. Vol. 3 pp : 1-512, Boubée, Paris.
- BOURRELLY P. (1979). Les Cyanophycées, algues ou bactéries ? Rev. Algol. N.S. 14 : 5-9.
- BOTHE H. (1970). Photosynthetische Stickstofffixierung mit einem zellfreien Extract aus der Blaualge Anabaena cylindrica. Ber. dt. Bot. Ges. 83 : 421-432.
- BRANNON M.S. (1945). Factors affecting growth and distribution of Myxophyceae in Florida. Proc. Florida. Acad. Sci. 8 : 296-303.
- BREDEROO P., MEEUWISSEN-VAN DER VLUGT E.G.J. & DAEMS W.T. (1976). The formation of threads during the development of the periplasmodium to the perispore in the megasporocarp of Azolla filiculoides. Ultramicroscopy 2 (1) : 121.
- BROCK T.D. (1975). Effect of water on a Microcoleus (Cyanophyceae) from a desert crust. J. of Phycology 11,3 : 316-320.
- BROTONEGORO S. & ABDULKADIR S. (1978). The decomposition of Azolla pinnata in moist and flooded soil. Annales Bogorienses, 6 (4) : 169-175.
- BUCKINGHAM K.W., ELA S.W., MORRIS J.G. & GOLDMAN C.R. (1978). Nutritive value of the Nitrogen-Fixing Aquatic Fern Azolla filiculoides. Agricultural and Food Chemistry, 26-5, 1230-1234.
- BURNS R.C., HOLSTEN R.D., HARDY R.V.F. (1970). Isolation by crystallization of the Mo-Fe protein of Azotobacter nitrogenase. Biochemical and Biophysical research Communications, 39 : 90-99.
- CALDER E.A. (1959). Nitrogen fixation in an Uganda swamp soil. Nature, 184 : 746.
- CANTER H.M. (1972). A guide to the fungi occurring on planktonic blue-green algae. In "Taxonomy and biology of blue-green algae" Desikachary T.V. ed., Madras pp.: 145-158.
- CAPAYA D.T. (1979). International bibliography on Azolla. Library and Documentation Center, IRRI, Los Banos, Philippines, 66 pp.
- CARPENTER E.J., VAN RAALTE C.D. & VALIELA I. (1978). Nitrogen fixation by algae in a Massachusetts salt marsh. Limnol. and Océanogr. 23 (2) : 318-327.

- CARMICHAEL W.W. & GORHAM P.R. (1977). Factors influencing the toxicity and animal susceptibility of Anabaena flos-aquae (Cyanophyta) blooms. *J. of Phycol.* 13 (2) : 97-101.
- CASTENHOLTZ R.W. (1969). The thermophilic cyanophytes of iceland and the upper temperature limit. *J. Phycol.* 5 : 360-368.
- CHAPMAN V.J., & CHAPMAN D.J. (1973). Soil algae and symbiosis ; in "The algae" Mc Millan Press ed. 17 : 381-387.
- CHARREAU C. & NICOU R. (1971). L'amélioration du profil cultural dans les sols sableux et sablo-argileux de la zone tropicale Ouest Africaine et ses incidences agronomiques. *Agro. Trop.* 26-9 : 903-978, 11 : 1184-1247.
- CHAT J. (1976). Nitrogen fixation. Future prospects. The fertilizer society. 155-A : 2-12.
- CHATTERJEE P.B. (1982). Molluscan pests of azolla. *IRRN* 7 ; 3: 16.
- CHENG JING-FU, XU SHENG-XIU & WANG MING-YI. (1980). Harvesting and growing seedlings of Azolla filiculoides sporocarps. *Jiangxi Nongye Keji*, 4 : 16-17.
- CODD G.A., OKABE K. & STEWART W.D.P. (1980). Cellular compartmentation of photosynthetic and photorespiratory Enzymes in the heterocystous Cyanobacterium Anabaena cylindrica. *Arch. Microbiol.* 124 : 149-154.
- COHEN Y. (1975). Dynamics of procaryotic photosynthetic communities of the solar lake. Ph. D. Hebrew University, 126 pp.
- COLEMAN J.R. & COLMAN B. (1981). Inorganic Carbon Accumulation and Photosynthesis on a blue-green alga as a function of external pH. *Plant Physiol.* 67: 917-921.
- CORNET A. (1981). Le bilan hydrique et son rôle dans la production de la strate herbacée de quelques phytocénoses sahéliennes au Sénégal. Thèse d'état, USTL., Académie de Montpellier p.353.
- DABIN B. (1964). Etude générale des conditions d'utilisation des sols de la cuvette tchadienne. ORSTOM Travaux et Documents N° 2-200 p.
- DAFT M.J. & STEWART W.D.P. (1971) Bacterial pathogens of freshwater blue-green algae. *New phytol.* 70 : 819-829.

- DALTON H. & POSTGATE J.R. (1969). Effect of oxygen on growth of Azotobacter chroococum in batch and continuous cultures. *Journal of General Microbiology*. 54, 463-73.
- DANCETTE C. (1977). Agroclimatology applied to water management in the sudanian and sahelian zones of Africa. in : *Agriculture in semi-arid environments*, chap. 4. Cannel G.H., Hall A.E. & Lawton A.W. eds. *Plant sciences*. Univ. California Riverside (USA).
- DAO THE TUAN & TRAN QUANG THUYET (1979). Use of Azolla in rice production in Vietnam. pp : 395-405. In Nitrogen and Rice. Int. Rice Res. Inst. Los Banos, Philippines.
- DAVEAU S. (1965). Les dunes du Sahel Mauritanien. *Rev. Géol. Afr. Occidentale*, 1-2 : 7-48.
- DE P.K. (1939). The role of blue-green algae in nitrogen fixation in rice fields. *Proc. R. Soc. London*. 127 B : 121-139.
- DESIKACHARY T.V. (1959). Cyanophyta. pp : 1-686. *Ind. Comm. Agr. Res.* New Delhi.
- DESWAUX C.E. (1827). Azollaceae. *Ann. Soc. Limn. Paris* 6 : 178.
- DILWORTH M.J., SUBRAMANIAN D., MUNSON T.O. & BURRIS R.H. (1965). The adenosine triphosphate requirement for nitrogen fixation in cell-free extracts of Clostridium pasteurianum. *Biochim. Biophys. Acta* 99, 486-503.
- DILLWORTH M.J. (1966). Acetylene reduction by nitrogen-fixing preparations from Clostridium pasteurianum. *Biochim. Biophys. Acta*, 127 : 285-294.
- DREWES K. (1928). Über die Assimilation des Luftstickstoffs durch Blaualgen. *Zentbl. Bakt. Parasitke., Abt. II*, 76 : 88-101.
- DROUET F. & DAILY W. (1956). A revision of coccoid myxophyceae. *Butler. Univ. Bot. Studies* 12 : 1-218.
- DOMMARGUES Y., DREYFUS B., RINAUDO G., GAUTHIER G., ROGER P., REYNAUD P. & GERMANI G. (1980). La compétition en tant que facteur limitant la fixation d' N_2 par les Rhizobium, les diazotrophes rhizosphériques et les Cyanophycées. DGRST & ORSTOM, Paris, France DGRST. 7870450. 36 pp.

- DUAN BING-YUAN, ZHANG ZHUANG-TA, KE YU-SHI, LIU XI-LIAN & LING DE-QUAN (1979). Research on the sexual propagation of red Azolla (Part 1) : relation between environmental factors and the sporocarps and seedlings of azolla. Guangdong Nongye Kexue 2 : 23-27.
- DULIEU D., GASTON A. & DARLEY J. (1977). La dégradation des pâturages de la région de N'djaména (République du Tchad) en relation avec la présence de cyanophycées psammophiles. Etude préliminaire. Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop. 30, 2: 181-190.
- DURAND J.H. (1965). Prospection pédologique à but agronomique: techniques utilisables pour dresser les cartes de mise en valeur des sols. Etude pédologique de la plaine de Bogué. L'agronomie tropicale 12: 1270-1283.
- DUREL L.W. (1964). Algae in tropical soils. Trans. Amer. Micros. Soc. 83 : 79-85.
- DUTTA N. & VENKATARAMAN G.S. (1960). An exploratory study of the algae of some cultivated and uncultivated soils. Indian J. of Agro. 3 : 109-115.
- EADY R.R., SMITH B., COOK K.A. & POSTGATE J.R. (1972). Nitrogenase of Klebsiella pneumoniae. Biochemical Journal, 128: 655-75.
- EADY R.R. (1981). Régulation of Nitrogenase activity. In : Current perspectives in Nitrogen Fixation ; Gibson A.H. & Newton W.E. eds ; Canberra, Aust. Acad. Sci. : 172-181.
- EL NAWAWY A.S. (1972) Research program on nitrogen fixing blue-green algae in Agricultural Microbiology. Research Division, Ministry of Agriculture A.R.E. Agr. Res. Rev. 50,2 : 117-128.
- ESKEW D.L. & TING I.P. (1978). Nitrogen fixation by legumes and blue-green algal-lichen crusts in a Colorado desert environment. Amer. J. Bot. 65 (8) : 850-856.
- FAY P., STEWART W.D.P., WALSBY A.E. & FOGG G.E. (1968). Is the heterocyst the site of nitrogen fixation in blue-green Algae ? Nature 220-5169 : 810-812.
- FLEMING H. & HASELKORN R. (1973). Differentiation in Nostoc muscorum: nitrogenase is synthetised in heterocysts. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 70: 2727- 2731.

FOGG G.E. & STEWART W.D.P. (1968). In situ determinations of biological nitrogen fixation in Antarctica, Brit. Antarct. Survey Bull. 15: 39-46.

FOGG G.E. , STEWART W.D.P., FAY P. & WALSBY A.E. (1973). The blue-green algae. Academic Press, London and New-York: 459 p.

FOOTE B.A. (1981). Biology and Immature stages of Lytogaster excavata, a grazer of blue-green algae (Diptera: ephydridae). Proc. Entomol. Soc. Wash. 83 (2): 305-315.

FRIEDMANN E.I. (1982) Cyanophycota - In McGraw Hill synopsis and classification of living organisms. Mc Graw Hill Book Company, Inc: 45-52.

FRIEDMANN E.I. & BOROWITZKA L.J. (1982). The symposium on taxonomic concepts in blue-green algae: towards a compromise with the bacteriological code? Taxon 31 (4): 673-683.

FRITSCH F.E. (1907). The subaerial and freshwater algal flora of the tropics. A phytogeographical and ecological study. Ann. Bot. (Old series) 21: 235-275.

GALLON J.R., LARUE A. & KURZ W.G.W. (1974). Photosynthesis and nitrogen activity in the blue-green algae Gloeocapsa. Can. J. Microbiol. 20,12: 1633 - 1637.

GANRY F., ROGER P.A. & DOMMERGUES Y. (1978). A propos de l'enfouissement de pailles dans les sols sableux tropicaux du Sénégal. CR. Acad. Agri., p.v. 15 mars 1978 : 445-454.

GARCIA J-L., RAIMBAULT M., JACQ V., RINAUDO G. & ROGER P. (1973). Activités microbiennes dans les sols de rizières du Sénégal : relations avec les caractéristiques physico-chimiques et influence de la rhizosphère. Rev. Ecol. Biol. Sol. 11 : 169-185.

GEITLER L. (1979). Einige kritische Bemerkungen zu neuen zusammenfassenden Darstellungen der Morphologie und Systematik der Cyanophyceen. Pl. Syst. Evol. 132 : 153-160.

GHABBOUR S.I., EL-AYOUTY E.Y., KHADR M.S. & EL-TONSI A.M.S. (1980). Grazing by microfauna and productivity of heterocystous nitrogen-fixing blue-green algae in desert soils. Oikos 34 : 209-218.

- GLADE R. (1914). Zur kenntnis der Gattung Cylindrospermum. Beitr. Biol. Pfl. 12 : 295-344.
- GOMONT M. (1892). Monographie des Oscillariées. Ann. Sc. Nat., Sér. 7, Bot. 15-16 (réédition Cramer, 1962).
- GOTTO J.W., TABITA F.R. & VAN BAALEN C. (1979) Isolation and characterisation of rapidly-growing, marine, nitrogen-fixing strains of blue-green algae. Arch. Microbiol. 121 : 155-159.
- GRANHALL U. & HENRIKSSON E. (1969). Nitrogen-fixing blue-green algae in Swedish soils. Oikos 20 : 175-178.
- GRANHALL U. (1975). Nitrogen fixation by blue-green algae in temperate soils. In "Nitrogen fixation by free-living microorganisms"; W.D.P. Stewart ed. I.B.P. Vol. 6, Cambridge University Press ; 12 : 189-197.
- HALLER W.T., SUTTON D.L. & BARLOWE W.C. (1974). Effects of salinity on the growth of several aquatic macrophytes. Ecology 55 : 891-894.
- HARDER R. (1917). Ernährungs physiologische Untersuchungen an Cyanophyceen, hauptsächlich dem endophytischen Nostoc punctiforme. Z. Bot. 9 : 145-245.
- HASELKORN R. (1978). Heterocysts. Ann. Rev. Plant Physiol. 29 : 319-344.
- HAYSTEAD A. & STEWART W.D.P. (1972). Characteristics of the nitrogenase system from the blue-green alga Anabaena cylindrica. Arch. Mikrobiol. 82: 325-336.
- HEALEY F.P. (1973). Inorganic nutrient uptake and deficiency in algae. C.R.C. Crit. Rev. Microbiol. 3 : 69-113.
- HELLEBUST J.A. (1974). Extracellular products. In "Algal Physiology and biochemistry". Stewart W.D.P. ed. Bot. Monogra. Blackwell New York vol. 10 pp : 838-863.
- HENRIKSSON E., HENRIKSSON L.E. & PEJLER B. (1972). Nitrogen fixation by blue-green algae on the island Surtsey, Iceland. Surtsey Research Progress Report 6 : 66-68.
- HILL D. (1975). The pattern of development of Anabaena in the Azolla-Anabaena symbiosis. Planta (Berl.), 122; 179-184.
- HILL D.J. (1977). The role of Anabaena in the Azolla-Anabaena symbiosis. New Phytol., 78 : 611-616.

- HOOD T. & KIKUBA J.G. (1983). Neem (Azadiracta indica A. Juss) products for control of rice stem borers. IRRN 8,5: 15-16.
- HOLLIS J.P. (1957). Cultural studies with Dorylaimus ettersbergensis. Phytopathology 47: 468-473.
- HOLM-HANSEN O. (1968). Ecology, physiology and biochemistry of blue-green algae. Ann. Rev. Microbiol. 22: 47-70.
- HOLST R.W. (1977). Anthocyanins of Azolla. Am. Fern. J., 67, (4): 99-100.
- HOLST L.W. & YOPP J.H. (1979). Studies of the Azolla-Anabaena symbiosis using Azolla mexicana, 1. Growth in Nature and Laboratory. American Fern Journal: 69 (1): 17-25.
- HU N.T., THIEL T., GIDDINGS T.H. & WOLK C.P. (1981). New Anabeana and Nostoc cyanophages from sewage settling ponds. Virology, 114 : 236-246.
- HUANG T.C., ZUMFT W.G. & MORTENSON L.E. (1973). Structure of the Molybdoferredoxin complex from Clostridium pasteurianum and isolation of its subunits. J. of Bact.; 884-890.
- ILTIS A. (1973). Algues des eaux natronées du Kanem (Tchad), 2^e partie. Cah. O.R.S.T.O.M., ser. Hydrobiol. Vol 7,1 : 25-54.
- Institut de Recherches Agronomiques Tropicales (1975). Relations eau-sol-plante. Biochimotologie. Irrigation. In Agronomie Tropicale, 30. 2 : 118-127.
- International Rice Research Institute (1979). International Bibliography on Azolla. 66 p.
- International Rice research Institute (1980). Report on the first trial of Azolla use to rice INSFERR (1980). Los Banos, Laguna, Philippines.
- International Rice Research Institute (1981). Report on the second trials of Azolla use to rice, INSFFER (1980). Los Banos, Laguna, Philippines.
- International Rice Research Institute (1982). Report on the third trials of Azolla use in rice, INSFFER (1981). Los Banos, Laguna, Philippines.

- ISICHEI A.O. (1980). Nitrogen fixation by blue-green algal soil crusts in Nigerian savana. In "Nitrogen cycling in West African Ecosystems". T. Rosswall ed.: 191-198.
- ITO O. & WATANABE I. (1983). The relationship between combined nitrogen uptakes and nitrogen fixation in Azolla-Anabaena symbiosis. *New Phytol.* 95: 647-654.
- JANYA J.D. & MOODY K. (1981). Suppression of weeds in transplanted rice (Oryza sativa L.) with Azolla pinnata R. Br. 12 annual Conf. of the pest control Council of the Philippines 13-15 May 1981, UPLB, Laguna, Philippines.
- JOHNSON G.V., MAYEUX P.A. & EVANS H.J. (1966). A cobalt requirement for symbiotic growth of Azolla filiculoides in the absence of combined nitrogen. *Plant. Physiol.*, 41: 852-855.
- JONES K. (1977). The effect of temperature on acetylen reduction by mats of blue-green algae in subtropical grassland. *New Phytol.* 78: 433-436.
- JONES K. & STEWART W.D.P. (1969). Nitrogen turn-over in marine and brackish habitats II. The production of extra cellular nitrogen by Calothrix scopulorum. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 49: 474-488.
- KALLAS T. & CASTENHOLZ R.W. (1982). Rapid transient growth at low pH in the cyanobacterium Synechococcus sp. *J. Bact.* 149: 237-246.
- KATANYUKUL W. (1983). Chemical control of Azolla insects. *IRRN*, 8: 1,14.
- KING D.L. (1970). The role of carbon in eutrophication. *J. Water Pollut. Control.*, 42: 2035-2051.
- KOCH B. & EVANS H.J. (1966). Reduction of acetylene to ethylene by soybean root nodules. *Plant Physiol.*, 41: 1748- 1750.
- KONDRATYEVA N.V. (1982). On difference of opinions of phycologists and Bacteriologists concerning the nomenclature of Cyanophyta. *Arch. Protistenk.* 126: 247-259.
- KREPSKI W.J. & WALTON T.J. (1983). Biosynthesis of the envelope glycolipids during heterocyst Development in Anabaena cylindrica. *J. Gen. Microbiol.* 129 : 105-110.

KULASOORIYA S.A., HIRIMBUREGAMA W.K. & DE SILVA R.S. (1980). Effect of light, temperature and phosphorus on the growth and nitrogen fixation in Azolla pinnata native to Sri Lanka. *Acta Oecologica, Oecol. Plant.* 1 (15) : 4, 355-365.

KULASOORIYA S.A. & DE SILVA R.S.Y. (1981). Multivariate interpretation of the distribution of nitrogen-fixing blue-green algae in rice soils in central Sri Lanka. *Ann. Bot.* 47 : 31-52.

KUHL A. (1974). Phosphorus. In W.D.P. Stewart ed. "Algal physiology and biochemistry". *Bot. Monogr.* Vol 10, Blackwell. New York : 636-654.

KURASAWA H. (1956). The weekly succession in the standing crop of plankton and zoobenthos in the paddy field. Part 1 and 2. *Bull. Res. Sci. Japan* 41-42 (4) : 86-98 and 45 (4) : 73-84.

LAM C.W.Y. (1979). Phosphate requirement of Anabaena oscillarioides and its ecological implications. *Hydrobio.* 67 1: 89-96.

LANDSBERG H.E., LIFFMAN H., LETTEN K.H. & TROLL C. (1963). Die jahreszeitenklimate des Erde. Heildelberg Akad. der Wissenschaften, E. Rodenwaldt & H.J. Jusatz eds. Springer Verlag.

LAWALREE A. (1976). Flore d'Afrique Centrale (Zaïre, Ruanda, Burundi) Ptéridophytes Azollaceae. *Jardin Bot. Natl. Belgique* : 1-5.

LEBART L. & FENELON J.P. (1971). *Statistiques et informatique appliquée*, Dunod. 426 p.

LEBART L., MORINEAU A. & TABARD N. (1977). *Techniques de la description statistique, méthodes et logiciel pour l'analyse des grands tableaux*. Dunod, Bordas, Paris. 351 p.

LEBRUN J.P. (1973). *Enumeration des plantes vasculaires du Sénégal*. I.E.M.V.T. (Maisons-Alfort, France) Botanical, study. N° 2. pp : 209.

LE VAN KAN & SOBOCHKIN A.A. (1963). The problems of the utilisation of Azolla as a green manure in the Democratic Republic of Vietnam. *Timuiyazev Moscou-Agric. Acad.* 94 : 93-97.

LI FANG (1980). Developing Azolla imbricata production : broadening the source of green fodders. *Jiangxi Nongye Keji* 4 : 15.

LIU CHUNG CHU (1979). Use of azolla in rice production in China. In : "Nitrogen and Rice". IRRI - Los Banos : 375-394.

- LOWENDORF H.S. (1980). Biological nitrogen fixation in flooded rice. Agronomy paper n° 1305. Dpt. of Agronomy. Cornell Univ. ITHACA 14853.
- LOWRY O.H., ROSENBROUGH N.J., FARR A.L. & RANDALL R.J. (1951). Protein measurement with the Folin-phenol reagent. J. Biol. Chem. 193 : 265-275.
- LOYER J.Y., JACQ V.A. & REYNAUD P.A. (1982). Variations physico-chimiques dans un sol de rizière inondée et évolutions de la biomasse algale et des populations microbiennes du cycle du soufre. Cah. ORSTOM. Sér. Biol. 45 : 53-72.
- LU S.K., CHEN K., A. SHEN & GE S. (1963). Rice paddy green manure studies on the biological characteristics of Red Azolla. Zhongguo Nongye Kexue (Chinese Agricultural Science) 11 : 35-40.
- LUCAS R.C. & DUCKETT J.G. (1980). Cytological study of the male and female sporocarps of the heterosporous fern Azolla filiculoides Lam. New Phytol. 85 : 409-418.
- LUMPKIN T.A. & PLUCKNETT D.L. (1980). Azolla : Botany, Physiology and use as a green manure. Economic Botany 34 (2) : 111-153.
- LUMPKIN T.A. & PLUCKNETT D.L. (1982). Azolla as a Green Manure : Use and Management in crop production. Westview Tropical Agriculture N° 5. Boulder, Colorado 230 pp.
- MAGUE T.H. (1977). Ecological aspects of dinitrogen fixation by blue-green algae in : "A treatise on dinitrogen fixation" sec. 4 : Agronomy and Ecology. Hardy R.W.F. & Gibson A.H. eds. Pub. John Wiley & Sons, inc. 3 : 85-139.
- MARATHE K.V. (1966). A study of the subterranean algal flora of some mangrove swamps. J. Indian. Soc. Soil. Sci. 13 (2) : 81-84.
- MARATHE K.V. (1967). Studies on soil algae of India. I. Soil algae from the cultivated fields of Dhulia (Maharashtra state). J. Univ. Bombay, Vol. 35, 5 : 100-105.
- MARATHE K.V. & ANANTANI Y.S. (1972). Observations on the algae of some Indian arid soils. The botanique, 3 : 13-20.
- MARIAPPAN V., SAXENA R.C. & LING K.C. (1982). Effect of custard-apple oil and neem oil on the life span of and rice tungro virus transmission by Nephotettix virescens. IRRN 7,3 : 13-14.

- MAZUR B.J., RICE D. & HASELKORN R. (1980). Identification of blue-green algal nitrogen fixation genes by using heterologous DNA hybridization probes. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 77 : 186-190.
- MITRA A.K. (1951). The algal flora of certain Indian soils. *Indian J. Agr. Sci.* 21 : 357-373.
- MONOD J. (1942). Recherches sur la croissance des cultures bactériennes. Thèse 210 p. Hermann, Paris.
- MOORE A.W. (1969). Azolla ; biology and agronomic significance. *Bot. Rev.* 35 : 17-34.
- MOORE A.W., FRENCH J.E., DIXON H.M. (1980). Bibliography of Azolla discussion at the Workshop on Nitrogen cycling in South East Asian Wet Monsoonal Ecosystems - SCOPE/UNEP International Nitrogen Unit - Chiang Mai, Thailand.
- MORTENSON L.E. (1964). Ferredoxin, requirement for nitrogen fixation by extracts of Clostridium pasteurianum. *Biochem. Biophys. Acta* 81, 473-478.
- MORTENSON L.E. & THORNELEY R.N.F. (1979). Structure and function of nitrogenase. *Annu. Rev. Biochem.* 48 : 387-418.
- MULLER J.P. & GAVAUD M. (1976). Conception et réalisation d'une carte d'aptitudes culturales, à propos de la cartographie des sols de la vallée de la Bénoué au Cameroun. *Cah. ORSTOM. Série Pédologie.* 17-2 : 131-160.
- NAYACK D.N., PALASU I.C. & RAJARAMAMOHAN RAO V. (1980). Influence of natural and synthetic insecticides on nitrogen fixation (C₂H₂ reduction) in the rice rhizosphere. *Curr. Sci.*, 49,3: 118-119.
- NEALE J.W. (1977). Ostracods from the rice fields of Sri Lanka (Ceylan), in "Aspects of ecology and zoogeography of Recent and Fossil Ostracods". Löffler & Danielopol D. eds. Junk bW the Hague; pp : 271-283.
- NEWTON J.W. & HERDMAN A.I. (1979). Isolation of cyanobacteria from the aquatic fern Azolla. *Arch. Microbiol.* 120 : 161-165.
- NEWTON J.W. & SELKE E.S. (1981). Assimilation of Ammonia by the Azolla-Anabaena symbiosis. *J. of Plant Nutrition*, 3 (5) : 803-811.

- NGUYEN-CONG-TIEU (1930). L'azolle cultivée comme engrais vert. Bull. Econ. Indochine. B, 33: 335-350.
- OKUDA A. & YAMAGUCHI M. (1953). Algae and atmospheric nitrogen fixation in paddy soils II: relation between the growth of blue-green algae and physical or chemical properties and soil and effect of soil treatments and inoculation on the nitrogen fixation. Mem. Res. Inst. Food Sci. 4: 1-11.
- OKUDA A. & YAMAGUCHI M. (1956). Nitrogen fixing microorganisms in paddy soils. II: Distribution of blue-green algae in paddy soils and the relations between the growth of them and soil properties. Soil and plant Food 2: 4-7.
- O.R.G.A.T.E.C. Société Africaine d'Etudes Techniques (Dakar Sénégal). Gannett Fleming Cordry and Carpenter, Inc. U.S.A. (1979). Evaluation des effets sur l'environnement des aménagements prévus dans le bassin du fleuve Sénégal. Rapport partiel sur flore aquatique. O.M.V.S. Dakar.
- OSA-AFIANA L.O. & ALEXANDER M. (1981). Factors affecting predation by a microcrustacean (cypris sp.) on nitrogen-fixing blue-green algae. Soil Biochem. 13: 27-32.
- PAICHENG C. (1980). Méthodes d'analyses utilisées au laboratoire commun de Dakar. Doc. Ronéo ORSTOM: 104 p.
- PEARSON H.W., HOWSLEY R., KJELDSSEN C.K. & WALSBY A.E. (1979). Aerobic nitrogenase activity associated with a non heterocystous filamentous cyanobacterium. FEMS. Microbiology Letters 5 : 163-167.
- PETERS G.A., EVANS W.R. & TOIA R.E. (1976). Azolla-Anabaena azollae relationship 4. Photosynthetically driven nitrogenase catalyzed H₂ production. Pl. Physiol. 58 : 119-126.
- PETERS G.A., TOIA R.E. Jr. & LOUGH S.M. (1977). The Azolla-Anabaena azollae Relationship. V ¹⁵N₂ fixation, Acetylene Reduction and H₂ production. Plant Physiol. 59 : 1021-1025.
- PETERS G.A., TOIA R.E. Jr., EVANS W.R., CRIST D.K., MAYNE B.C. & POOLE R.E. (1980). Characterization and comparisons of five N₂-fixing Azolla-Anabaena associations, I. Optimization of growth conditions for biomass increase and N content in a controlled environment. Plant, Cell and Environment, 3 : 261-269.

- PETERS G.A., CALVERT H.E., KAPLAN D., ITO O. & TOIA R.E. Jr. (1982). The Azolla-Anabaena symbiosis : morphology, physiology and use. Israel J. Botany 31 : 305-323.
- PETERSON R.B. & WOLK C.P. (1978). High recovery of nitrogenase activity and of ^{55}Fe -labeled nitrogenase in heterocysts isolated from Anabaena variabilis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75, 12 : 6271-6275.
- PIENKOS P.T., BODMER S. & TABITA F.R. (1983). Oxygen inactivation and Recovery of Nitrogenase activity in cyanobacteria. J. Bacteriol 153-1 : 182-190.
- PIETERSE A.H., DE LANGE L. & VAN VLIET J.P. (1977). A comparative study of Azolla in the Netherlands. Acta Bot. Neerl. 26 (6) : 433-449.
- PFEIFFER W.M. (1907). Differentiation of sporocarps in Azolla. Bot. Gaz. 44 : 445-454.
- POSTGATE J.R. (1982). Biological nitrogen fixation fundamentals Phil. Trans. R. Soc. London. B 296 : 375-385.
- PRASAD B.N., MEHROTRA R.K. & SINGH Y. (1978). On pH tolerance of some soil blue-green algae. Acta Bot. Indica 6 : 130-138.
- PUYMALY de M.A. (1957). Les hétérocystes des algues bleues : leur nature et leur rôle. Le Botaniste Français 41 (1-6) : 209-270.
- RAGHU K. & MACRAE I.C. (1967). The effect of the gamma-isomer of benzene hexachloride upon the microflora of submerged rice soils. I. Effect upon algae. Canadian J. Microbiol. 13 : 173-180.
- RAINS D.W. & TALLEY S.N. (1978). Use of Azolla as a source of nitrogen for temperature zone rice culture. Proceeding : 2^d Review Meeting increasing Productivity Under Tight Supplies, Honolulu, Hawaii : 167-173.
- RAO T.R. (1978). Blue-green algae boost rice yields. Intensive Agric. 16 : 19-20.
- REDDY P.M. (1983) Changes in Polyphosphate Bodies during Sporulation and Spore Germination in Cyanobacteria. Biochem. Physiol. Pflanzen 178 : 77-79.

- REIZER C. (1974). Définition d'une politique d'aménagement des ressources halieutiques d'un écosystème aquatique complexe par l'étude de son environnement abiotique, biotique et anthropique. 1 Environnement abiotique. Dissertation Fondation Universitaire Luxembourgeoise. Arlon : 129 p.
- RENAUT J. & SASSON A. (1970). Les cyanophycées du Maroc: Etude préliminaire de quelques biotopes de la région de Rabat. Soc. Sci. Nat. & Phys. du Maroc 50, 1-2: 37-52.
- RENAUT J., SASSON A., PEARSON H.W. & STEWART W.D.P. (1975). Nitrogen-fixing algae in Morocco. Pages 229-246 in W.D.P. Stewart, ed. "Nitrogen fixation by free-living microorganisms". Cambridge University Press. Cambridge.
- REYNAUD P. (1977) Purification de l'enzyme nitrogénase d'Anabaena sp. Cah. ORSTOM, ser. Biol. 12,2 : 109-116.
- REYNAUD P. & ROGER P. (1977). Milieux sélectifs pour la numération des algues eucaryotes procaryotes et fixatrices d'azote. Rev. Ecol. Biol. Sol 14 (3): 421-428.
- REYNAUD P. (1978). La nitrogénase des Cyanobactéries : comparaison de l'activité in vivo et in vitro des formes hétérocystées, homocystées et unicellulaires. Cahiers ORSTOM. Sér. Biol. 13 (2):143-156.
- REYNAUD P. & ROGER P. (1978). N₂-fixing algal biomass in Senegal rice fields. Proc. Int. Symp. "Environmental role of N₂-fixing blue-green algae and asymbiotic bacteria". Ecol. Bull. (STOCKHOLM). 26 : 148-157.
- REYNAUD P. A. & ROGER P.A. (1979). Les hautes intensités lumineuses, facteur limitant l'activité fixatrice de N₂ des Cyanobactéries. C.R. Acad. Sci. 288, D, 999-1002.
- REYNAUD P.A., ROGER P.A. & WATANABE I. (1979). Select bibliography on Azolla with special emphasis on its role in agriculture. Non symbiotic Nitrogen Fixation Newsletter, 7 (2): 7-20.
- REYNAUD P.A. (1981). Devenir d'inoculum de cyanobactéries pendant les deux premiers mois du cycle du riz sur un sol engorgé. Cah. ORSTOM, sér. Biol. 43: 53-60.
- REYNAUD P.A. & ROGER P.A. (1981a). Variations saisonnières de la flore algale et de l'activité fixatrice d'azote dans un sol engorgé de bas de dune. Rev. Ecol. Biol. Sol, 18 (1) :9-27.

- REYNAUD P.A. & ROGER P.A. (1981b). Distribution verticale des algues et de l'activité fixatrice d'azote dans un tapis algal. Cah. ORSTOM, sér. Biol. 43 :67-74.
- REYNAUD P.A. & PAYCHENG C. (1981). Essai d'inoculation d'Azolla africana dans un milieu peuplé de Lebistes reticulatus. Cah. ORSTOM, sér. Biol. 43 :61-66.
- REYNAUD P.A. (1982a). Fixation d'azote chez les cyanobactéries libres ou en symbiose (Azolla) : possibilités d'utilisation agromique en Afrique Tropicale. Bull. Pédol. F.A.O., 47 : 64-79.
- REYNAUD P.A. (1982b). The use of Azolla in West Africa. in "Biological Nitrogen Fixation Technology for Tropical Agriculture" - Cali, Colombia. Graham, P.H. & Harris S.C. eds., 768 pp : 565-566.
- REYNAUD P.A. (1983). Azolla pinnata var. africana : background, ecophysiology, plots assays. Proceeding on first international Workshop on practical application of Azolla for rice production. 17-19 novembre 1982. Mayaguez Porto-Rico.
- REYNAUD P.A. (1986). Control of the azolla pest Limnea natalensis with molluscicides of plant origin. IRRN 11 3: 27-28.
- REYNOLDS C.S. & WALSBY A.E. (1975). Water-blooms. Biol. Rev. 50: 437-481;
- RICHARDS F.A. & THOMPSON T.G. (1952). The estimation and characterisation of plankton populations by pigment analysis; part II. Jour. Marine Res. 11 2: 156-172.
- RIPPKA R., NEILSON A., KUNISAWA R. & COHEN-BAZIRE G. (1971). Nitrogen fixation by unicellular blue-green algae. Arch. Mikrob. 76: 341-348.
- RIPPKA R. & WATERBURY J.B. (1977). The synthesis of nitrogenase by non-heterocystous cyanobacteria. FEMS Microbiol. Letters 2: 83-86.
- RIPPKA R., DERUELLES J., WATERBURY J.B., HERDMAN M. & STANIER R.Y. (1979). Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria; J. Gen. Microbiol. 111: 1-61.
- RIPPKA R., WATERBURY J.B. & STANIER R.Y. (1981). Isolation and purification of cyanobacteria: Some general principles. The Pro-caryotes, vol 1, chap 8:212-220.
- RODGERS G.A. (1977). Nitrogenase activity in Nostoc muscorum; recovery from dessiccation. Plant and Soil 46: 671-674.

ROGER P. & REYNAUD P. (1976). Dynamique de la population algale au cours d'un cycle de culture dans une rizière sahélienne. Rev. Ecol. Biol. Sol 13 (4): 545-560.

ROGER P. & REYNAUD P. (1976). Dynamique de la population algale au cours d'un cycle de culture dans une rizière sahélienne. Rev. Ecol. Biol. Sol 13 (4): 545-560.

ROGER P. & REYNAUD P. (1977 a). La biomasse algale dans les rizières du Sénégal, importance relative des cyanophycées fixatrices de N₂. Rev. Eco. Biol. Sol 14 (4): 519-530.

ROGER P. & REYNAUD P. (1977 b). Les méthodes d'isolement et de purification des cyanophycées. Cah. ORSTOM Sér. Biologie, Vol. XII 2: 121-128.

ROGER P. & REYNAUD P. (1977 c). Correction de la diffusion pour l'établissement de spectres d'absorption par des cultures d'algues microscopiques. Cahiers ORSTOM Série Biol. Vol. XII 2: 129-132.

ROGER P., REYNAUD P., DUCERF P., TRAORE T. & RINAUDO G. (1977). Mise en évidence de la distribution log-normale de l'activité réductrice d'acétylène in situ; Cah. ORSTOM Sér. Biol., Vol. XII 2: 133-140.

ROGER P. & REYNAUD P. (1978). La numération des Algues en sol submergé: Loi de distribution et problèmes d'échantillonnage. Rev. Ecol. Biol. Sol 15 (2): 229-244.

ROGER P., REYNAUD P. & MONNIAUX G. (1978). Normalisation des données et calcul de la précision des mesures en microbiologie du sol. Cahiers ORSTOM Sér. Biol. Vol. XII 2: 171-180.

ROGER P.A. & REYNAUD P.A. (1979 a). Premières données sur l'écologie d'Azolla africana en zone sahélienne. Oecol. Plant. 14 (1) 75-94.

ROGER P.A. & REYNAUD P.A. (1979 b). Ecology of blue-green algae in rice fields. In "Nitrogen and Rice". IRRI, Los Banos pp 289-309.

ROGER P.A. & KULASOORIYA S.A (1980). Blue-green algae and rice. The international Rice Research Institute. Los Banos, Philippines 112 p.

- ROGER P.A., KULASOORIYA S.A., TIROL A.C. & CRASWELL E.T. (1980). Deep placement: a method of nitrogen fertilizer application compatible with algal nitrogen fixation in wetland rice soils. *Plant and soil* 57: 137-142.
- ROGER P.A., TIROL A., GRANTI. & WATANABE I. (1982). Effect of surface application of straw on phototrophic nitrogen fixation. *I.R.R.N.* 7 (3): 16-17.
- ROGER P.A. & REYNAUD P.A. (1982). Free-living blue-green algae in tropical Soils. In "Microbiology of Tropical Soils and Plant Productivity". Y.R. Dommergues & Diem eds. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk publ.; the Hague, Boston, Londres. *Developments in Plant and Soils Sciences*. Vol 5, 328 pp.: 147-168.
- SCHÖLLHORN R. & BURRIS R.H. (1966). Study of intermediates in nitrogen fixation. *Fed. Proc.*, 25: 710.
- SCHWARTZ D. (1969). Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes 3eme edit. Flammarion Médecine-Sciences:318 pp.
- SHAPIRO J. (1973). Blue-green algae : Why they become dominant. *Science*, 179 : 382 -384.
- SHARMA V.K. & KUMAR H.P. (1975). Influence of pH and Concentration of phosphate ions on Growth and Nitrogen fixation in a blue-green alga, Cylindrospermum majus. *Experientia*, 31 : 182-183.
- SHETNA Y.I., WILSON P.W. & BIENERT H. (1966). Purification of a non-hemo iron protein and other electron-transport components from Azotobacter extracts. *Biochim. Biophys. Acta* 113 : 225-234.
- SHTINA E.A. (1960). Zonality in the distribution of soil algae communities. 7th Inter. Congress of Soil Science, Madison. Wis. USA. 3(24) : 630-634.
- SHUBERT L.E. & STARKS T.L. (1980). Soil-algal relationships from surface mined soils. *Br. phycol. J.* 15 : 417-428.
- SINGH R.N. (1961). Rôle of blue-green algae in nitrogen economy of indian agriculture. Indian Council of Agricultural Research. New-Delhi: 17 pp.

- SINGH P.K. (1973). Occurrence and distribution of Cyanophages in ponds, sewage, and rice fields. Arch. Mikrobiol. 89: 169-172.
- SINGH P.K. (1979). Use of Azolla in rice production in India. In "Nitrogen and Rice", IIRI, Los Banos, pp. 407-418.
- SINHA B.D. & KUMAR H.D. (1973). A mutational study of the nitrogen fixing blue-green alga Anabaena doliolum. Ann. Bot., 37: 673-679.
- SMITH R.V., NOY R.J. & EVANS R.V. (1971). Physiological electron donor systems to the nitrogenase of the blue-green alga Anabaena cylindrica. Biochim. Biophys. Acta, 253 : 104-109.
- SMITH A.J. (1983). Modes of cyanobacterial carbon metabolism. Ann. Microbiol. Inst. Pasteur 13 4B:93-113.
- SNEDECOR G.W. & COCHRAN W.G. (1957). Statistical methods. 6^{eme} édition, Iowa St. Univ. Press, 67, 21577, Ames, Iowa, USA.
- SOROKIN C. (1959). Tabular comparative data for the low and high temperature strain of Chlorella. Nature (London) 184: 613-614.
- STANGEL P.J. (1979). Nitrogen requirement and adequacy of supply for rice production. in "Nitrogen and rice". IRRI, Los Banos.
- STANIER R.Y. (1974). The relationships between nitrogen fixation and photosynthesis. AJEBAK 52 (Pt 1) : 3-20.
- STANIER R.Y. & COHEN-BAZIRE G. (1977). Phototrophic Prokaryotes: the Cyanobacteria. Ann. Rev. Microbiol. 31: 225-274.
- STANIER R.Y. & coll. (1978). Proposal to place the nomenclature of the Cyanobacteria (Blue-green algae) under the rules of the international Code of Nomenclature of Bacteria. Inst. J. Syst. Bacteriol. 28: 335-336.
- STANIER R.Y. (1980). The journey, not the arrival, matters. Ann. Rev. Microbiol. 34: 1-48.

STARKS T.L., SHUBERT L.E. & TRAINOR F.R. (1981). Ecology of soil algae : a review. *Phycologia*, 20, 1 : 65-80.

STEWART W.D.P., FITZGERALD G.P. & BURRIS R. (1968). Acetylene reduction by nitrogen-fixing blue-green algae. *Arch. Mikrobiol.* 62 : 336-348.

STEWART W.D.P. & LEX M. (1970). Nitrogenase activity in the blue-green alga Plectonema boryanum strain 594. *Arch. Mikrobiol.* 73 : 250-260.

STEWART W.D.P. & ALEXANDER G. (1971). Phosphorus availability and nitrogenase activity in aquatic blue-green algae. *Freshwat. Biol.* 1 : 389-404.

STEWART W.D.P. & DAFTM, J. (1976). Algal-lysing agents of fresh water habitats. in "Microbiology in Agriculture, Fisheries and Food"; Skinner F.A. & Carr J.G. (eds), Academic Press, London pp : 63-90.

STEWART W.D.P. (1977a). Present-day Nitrogen-fixing Plants. *Ambio* 6, 2-3 : 166-173.

STEWART W.D.P. (1977b). A botanical ramble among the blue-green algae. *Br. Phycol. J.* 12 : 89-115.

STEWART W.D.P., ROWELL P. & APTE S.K. (1977). Cellular Physiology and the Ecology of N₂-fixing Blue-green Algae. in "Recent Developments in Nitrogen fixation", Newton W.E. et coll. (eds) Academic Press, London pp : 287-307.

STEWART W.D.P. (1978). Nitrogen fixing Cyanobacteria and association with eukaryotic plants. *Endeavour* 2 : 170-179.

STEWART W.D.P., SAMPAIO M.J., ISICHEI A.O. & SILVESTER-BRADLEY R. (1978). Nitrogen fixation by soil algae of temperate and tropical soils. In "Limitation and potential for biological nitrogen fixation in the tropics". Döbereiner J. et coll. (eds.) Plenum Press, New-York & London pp : 41-63.

STEWART W.D.P., ROWELL P., LADHA J.K. & SAMPAIO M.J.A.M. (1979). Blue-green algae (Cyanobacteria). Some aspects related to their role as sources of fixed nitrogen in paddy soils. In "Nitrogen and Rice", IRRI, Los Banos pp:263-285.

- STEWART W.D.P. (1980). Systems involving Blue-green algae (Cyanobacteria). In "Methods for evaluating Biological Nitrogen Fixation" F.J. Bergeren, Ed. John Wiley and sons Ltd; 5: 584-635.
- STEWART W.D.P., ROWEL P. & RAI A.N. (1983). Cyanobacteria-eukariotic plant symbiosis. Ann. Microbiol.(Inst. Pasteur) 134 B: 205-228.
- SUBBA RAJU N. (1972). The blue-green algae from the soils of India. In "Taxonomy and biology of blue-green algae". T.V. Desikachary ed. Univ. de Madras: 332-352.
- SUBRAHMANYAN R., MANNA G.B. & PATNAIK S. (1965). Preliminary observations on the interaction of different rice soil types to inoculation of blue-green algae in relation to rice culture. Proc. Indian Acad. Sci. Sect. B 62 (4): 171-175.
- SUBRAMANYAN R., RELWANI L.L. & MANNA G.B.(1965b). Nitrogen enrichment of rice soils by blue-green algae and its effect on the yield of paddy. Proc. Natl. Acad. Sci. India 35: 382-386.
- SUBUDHI B.P.R. & SINGH P.K.(1978). Nutritive value of the water fern Azolla pinnata for chicks. Poult. Sci. 57 2: 378-380.
- SUBUDHI B.P.R. & WATANABE I.(1981). Differential Phosphorus requirement of Azolla species and strains in phosphorus limited continuous culture. Soil Sci. Plant Nutr. 27 2: 237-247.
- SUZUKI T.(1967). Characteristics of microorganisms in paddy field soils; J.A.R.Q. 2 1:8-12.
- SWAMINATHAN M.(1984).. Le riz "pour la Science"; Scient; American 77: 24-35.
- TALLEY S.N.,TALLEY B.J.& RAINS D.W.(1977). Nitrogen fixation by Azolla in rice fields; Alexander Hollaender eds. Genetic eng. for Nitrogen Fixation; Plenum Press, New york pp: 259-281.
- TALLEY S.N. & RAINS D.W.(1980). Azolla filiculoides Lam. as a fallow season green manure for rice in temperate climate. Agronomy J. 72: 11-18.
- TALLING J.F.& DRIVER D.(1963). Some problems in the estimation of chlorophyll a in phytoplankton. Proc. Conference of Primary Productivity measurment, Marine and Freshwater, Hawaii, 1961; U.S. Atomic Energy Comm. TID-7633: 142-146.

- TAN-CHUAN-CHIEH(1942). Study on the natural enemies of culicid larvae and their role in mosquito control. *Sinensia* 13: 69-88.
- TCHAN Y.T. (1953). Study of soil algae I. Fluorescence microscopy for the study of soil algae. *Proc. Limn. Soc. N.S.W.* 77: 265-269.
- TCHAN Y.T. & BEADLE N.C.(1955). Nitrogen economy in semi-arid plant communities. The non-symbiotic nitrogen fixing organisms. *Proc. Limn. Soc. N.S.W.* 80: 97-104.
- TEL-OR E. (1980). Response of N_2 -Fixing Cyanobacteria to Salt. *Appl. & Environ. Microbiol.* 40,4 : 689-693.
- TEL-OR E., SANDOVSKY T., KOBILER D., ARAD H. & WEINBERG R. (1984). The unique properties of the symbiotic Anabaena azollae in the water fern Azolla : Metabolism and intercellular recognition.in "Advances in Nitrogen Fixation Research". Veeger C. et Newton W.E. eds. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk publishers. pp : 461-465.
- THOMAS J., MEEKS J.C., WOLK C.P., SHAFFER P.W., AUSTIN S.M. & CHIEN W.S. (1977). Formation of glutamine from (N^{13}) ammonia, (N^{13}) dinitrogen and (C^{14}) glutamate)by heterocysts isolated from Anabaena cylindrica. *J. Bacteriol.* 129 : 1545-1555.
- THOMAS J. (1978). Dinitrogen fixation by blue-green algae from paddy fields : isotopes in biological dinitrogen fixation. International Atomic Agency, Vienna : 89-103.
- TON THAN TRINH(1980). Introductory notes on Azolla africana and atmospheric nitrogen. *Int. Rice Comm. Newsl.* 29 20: 23-27.
- TRAINOR F.R.(1970). Survival of algae in desiccated soil. *Phycologia* 9 2: 111-113.
- TRAN QUANG THUYET & DAO THE TUAN(1973). Azolla: a green compost. in "Vietnamese Studies" 38, Agric; Problems, Agron Data 4: 119-127.
- TRAORE T.M., ROGER P.A., REYNAUD P.A. & SASSON A.(1978). Etude de la fixation de N_2 par les cyanobactéries dans une rizière soudano-sahélienne. *Cah. ORSTOM, Sér Biol*; 13 2: 181-185.

VANCE B.D. (1965), Composition and succession of Cyanophycean water-blooms. J. Physiol. 1 : 81-86.

VENKATARAMAN G.S. (1961). The role of blue-green algae in agriculture. Sci. Cult. 27 : 9-13.

VENKATARAMAN G.S. & GOYAL S.K. (1969). Effect of nitrogen-fixing blue-green algae on some cultivated plants. Mikrobiologiya 38 : 709-713.

VENKATARAMAN G.S. (1972). Algal biofertilizers and rice cultivation. Today & to morrow's Printers & Publishers, Faridabad (Haryana) ; pp : 75.

VENKATARAMAN G.S. (1979). Algal inoculation in rice fields. In "Nitrogen and Rice", IRRI, Los Banos pp:311-321.

VENKATARAMAN G.S. (1981) Blue-green algae : a possible remedy to nitrogen scarcity. Curr. Sci. 50(6) : 253-256.

WATANABE A., ITO R. & SASA T. (1955). Micro-algae as a source of nutrients for daphnids. J. Gen. Appl. Microbiol. 1 : 137-141.

WATANABE A. (1962) Effect of nitrogen-fixing blue-green algae Tolythrix tenuis on the nitrogenous fertility of paddy soil and on the crop yield of rice plant. J. Gen. Appl. Microbiol. 8,2 : 85-91.

WATANABE I., ESPINAS C.R., BERJA N.S. & ALIMAGNO B.V. (1977). Utilization of the Azolla-Anabaena complexe as nitrogen fertilizer for rice. Int. Rice Res. Inst. Res. Paper Ser. N°11 : 15 p.

WATANABE I., SUBUHDI B.P.R. & AZIZ T. (1981). Effect of neem cake on the population and nitrogen fixing activity of blue-green algae in flooded soil. Current Science 50(21) : 937-939.

WATANABE I., KE-ZHI BAI, BERJA N.S., ESPINAS C.R., ITO O. & SUBUDHI B.P.R. (1981). The Azolla-Anabaena complex and its use in rice culture. I.R.P.S. 69 pp : 1-11.

WATANABE I. (1982). Azolla-Anabaena Symbiosis - its physiology and use in Tropical Agriculture. In "Microbiology of Tropical soils and Plant Productivity" - Y.R. Dommergues & H.G. Diem edts. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk publishers - 5: 169-186.

- WATANABE I. & BERJA N.S. (1983). The growth of four species of Azolla as affected by temperature. *Aquatic Botany*, 15: 175-185.
- WETSELAAR R. (1981). Nitrogen inputs and outputs of an unfertilized paddy field. In: "Terrestrial Nitrogen Cycles", *Ecol. Bull.* (Stockholm) 33: 573-583.
- WHITFORD L.A. (1960). Ecological distribution of freshwater algae. Pp. 2-10 in C.A. Tryon, Jr. and R.T. Hartman eds. "The ecology of algae"; Pymatuning symp. 1959. Edwards Bros.
- WINKENBACH F., WOLK C.P. & JOST M. (1972). Lipids of membranes and of cell envelope in heterocysts of a blue-green alga. *Planta* 107 : 69-80.
- WINSTON P.W. & BATES D.H. (1960). Saturated solutions for the control of humidity in biological research. *Ecology* 41,1 : 232-237.
- WOLDEN DORP J.W. (1972). Nutrients limiting algal growth. *Stickstoff* 15: 16-25.
- WRIGHT S.L.J., REDHEAD K. & MAUDSLEY H. (1981). Acanthamoeba castellanii, a predator of cyanobacteria. *J. Gen. Microbio.* 125: 293-300.
- WYATT J.T. & SILVEY J.H.G. (1969). Nitrogen fixation by Gloeocapsa. *Science* (Washington) 165: 908-909.
- YATAZAWA M., TOMOMATSU N., HOSODA N. & NUNOME k. (1980). Nitrogen fixation in Azolla-Anabaena symbiosis as affected by mineral nutrient status. *Soil Sci. Plant Nutr.* 26 (3): 415-426.
- YU L.K. (1979). Preliminary observations on sexual reproduction of Azolla. *Zhejiang Nongye Kexue*. 4: 19-22.
- ZUMFT W.G. & MORTENSON L.E. (1975). The nitrogen-fixing complex of bacteria. *Biochem. & Biophys. Acta*, 416: 1-52.

A N N E X E I.

Inventaire des Cyanobactéries identifiées dans les biotopes de la zone tropicale sèche Ouest-Africaine.

1: Zones humides toute l'année; berges du lac Retba, mares perennes
 2: Zones humides lors des prélèvements; rizières, mares temporaires, canaux

3: Zones sèches, croutes algales dunaires, rizières asséchées.

I: Espèces identifiées par A. ILTIS dans les eaux natronées du Kanem (Tchad)

F: Espèces identifiées par P. FREMY en Afrique Equatoriale.

Ouvrages consultés:

BOURRELLY P. (1970). Les algues d'eau douce III. Les algues bleues et rouges. Boubée, Paris, 512 p.

DESIKACHARY T.V. (1959). Cyanophyta. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, 686 p.

FREMY P. (1929-1930). Les Myxophycées de l'Afrique Equatoriale Française. Arch. de Bot. Caen, 3: Mémoire N°2 507 p.

GEITLER L. (1930-1932). Cyanophyceae in Rabenhorts's Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz: Akad. Verl. Leipzig. Vol. 14, 1196 p.

ILTIS A. (1974). Le phytoplancton des eaux natronées du Kanem (Tchad) Influence de la teneur en sels dissous sur le peuplement algal. Thèse Université Paris 6, 271 p.

Je remercie Monsieur le Professeur P. Bourrelly, Pierre Roger et Karongo Traoré pour leur aide précieuse lors de ces identifications.

FORMES UNICELLULAIRES

		1	2	3
<i>Aphanocapsa grevillei</i> (Hass.) Rabenh.	F	+		
<i>roeseana</i> De Barry		+		
<i>Aphanothece castagnei</i> (Breb.) Rabenh.			+	+
<i>microscopica</i> Näg.	F	+		
<i>naegeli</i> Wartm.	F	+		
<i>saxicola</i> Näg.	F	+		+
<i>Chroococciopsis indica</i> sp.				
<i>Chroococcus coharens</i> (Breb.) Näg.	F		+	+
<i>minor</i> (Kütz) Näg.	F	+		
<i>minutus</i> (Kütz) Näg.	I	F	+	+
<i>turgidus</i> (Kütz) Näg.	I	F	+	
<i>Dermocarpa</i> sp.				+
<i>Glaeothece goeppertiana</i> (Hilse) Forti		+		
<i>membranacea</i> (Rabenh.) Born.			+	+
<i>rupestris</i> (Lyngb.) Born	F	+		
<i>samoensis</i> v. <i>major</i> Wille		-	+	+
<i>Microcystis aeruginosa</i> Kütz.	I	F	+	+
<i>Myxosarcina burmensis</i> Skuja			+	
<i>Synechococcus cedrorum</i> Sauv.			+	+
<i>elongatus</i> Näg.	I		+	+
<i>Synechocystis aquatilis</i> Sauv.	I		+	+
<i>pevalekii</i> Eroeg.			+	+

FORMES FILAMENTEUSES HOMOCYSTEES

<i>Lyngbya aesturarii</i> Liebm.	F	+		
<i>allorgei</i> Freymy	F		+	+
<i>borgerti</i> Lemn.			+	
<i>digueti</i> Gom.	F		+	
<i>hieronymusii</i> Lemn.	F		+	+
<i>limnetica</i> Lemn.	I	F	+	+
<i>martensiana</i> Menegh.	I	F	+	+
<i>perelegans</i> Lemn.	F		+	
<i>Microcoleus acutissimus</i> Gardner			+	
<i>brasiliensis</i> Borge			+	+
<i>lacustris</i> (Rabenh.) Farlow	F	+	+	

<i>Oscillatoria acuminata</i> Gom.	I	F		+	
<i>acuta</i> Geitler				+	+
<i>amphibia</i> Ag.	I	F	+	+	
<i>angusta</i> Koppe	I		+		
<i>brevis</i> (Kütz) Gom.	I	F	+		
<i>cortiana</i> Menegh.		F	+		
<i>foreaui</i> Frémy					+
<i>limnetica</i> Lemm.		F	+	+	
<i>limosa</i> Ag.		F		+	+
<i>mougeotii</i> Kütz			+		
<i>princeps</i> Vaucher		F	+	+	
<i>subbrevis</i> Schmidle		F	+		
<i>subuliformis</i> Kütz.			+		
<i>Phormidium ambiguum</i> Gom.		F			+
<i>ambiguum</i> var. <i>major</i> Lemm.					+
<i>jenkelianum</i> Schmid, G.					+
<i>laminosum</i> Gom		F	+		
<i>Plectonema notatum</i> Schmidle			+	+	
<i>Pseudanabaena catenata</i> Lauterb.	I		+	+	+
<i>galeata</i>			+		
<i>Spirulina labyrinthiformis</i> (Menegh.) Gom		F		+	
<i>major</i> Kütz		F	+		
<i>subsalsa</i> Oerstd.		F	+		

FORMES FILAMENTEUSES HETEROCYSTEES NON RAMIFIEES

<i>Anabaena ambigua</i>				+	+
<i>fertilissima</i> Rao, C.B.				+	
<i>flos-aquae</i> (Lyngb.) Bréb.		F	+		
<i>iyengarii</i> Bharadw.				+	+
<i>khannae</i> Skuya			+	+	
<i>laxa</i> (Rabenh.) A. Br.		F	+	+	
<i>oryzae</i> Fritsch				+	+
<i>sphaerica</i> B. et F.		F		+	+
<i>spiroides</i> Kleb.	I	F		+	
<i>torulosa</i> (Carm.) Lagerh.		F		+	+
<i>vaginicola</i> Fritsch et Rich				+	+
<i>Calothrix brevissima</i> West, G.S.		F			+
<i>dolichomeres</i> Skuja				+	
<i>marchica</i> V. <i>intermedia</i> Rao, C.B.				+	+
<i>scopulorum</i> (W. et M.) Ag.				+	

<i>Cylindrospermum</i> sp.		+	+	
<i>Gloeotrichia</i> sp.			+	
<i>Microchaete tenera</i> Thuret			+	
<i>Nodularia</i> sp.			+	
<i>Nostoc carneum</i> Ag.	F		+	
<i>coeruleum</i> Lyngb.		+		
<i>ellipso sporum</i> (Desm.) Rabenh.	F	+		
<i>humifusum</i> Carm.	F	+		
<i>linckia</i> (Roth) B. et F.	F		+	
<i>microscopicum</i> Carm	F		+	+
<i>muscorum</i> Ag.	F	+	+	+
<i>paludosum</i> Kütz	I F		+	
<i>piscinale</i> Kütz	F	+		
<i>punctiforme</i> (Kütz) Hariot	F	+	+	+
<i>rivulare</i> Kütz			+	
<i>sphaericum</i> Vaucher	F		+	
<i>spongiaeforme</i> Ag.	F	+	+	
<i>Wollea</i> sp.		+	+	

FORMES FILAMENTEUSES HETEROCYSTEES RAMIFIEES

<i>Hapalosiphon</i> sp.			+	
<i>Scytonema bohneri</i> Schmidle	F		+	
<i>millei</i> Born.	F			+
<i>pseudopunctatum</i> Skuja			+	
<i>schmidlei</i> De Toni			+	+
<i>schmidtii</i> Gom.	F	+	+	+
<i>Tolypothrix</i> sp.			+	+
<i>Westiellopsis prolifica</i> Janet		+	+	+

A N N E X E 2.

Données de base pour les analyses biométriques du chapitre 1.

Tableau 1. Stations des prélèvements.

Numérotées comme sur la figure 1-1. Elles sont classées par région et par culture. Le lieu-dit est mentionné ainsi que quelques observations écologiques: couvert végétal, stade de développement du riz, humidification.

Figure 1. Histogrammes de répartition des variables physico-chimiques et biologiques sur l'ensemble des stations décrites au tableau 1. Les unités de mesure sont mentionnées chapitre 1, au paragraphe 2.4. dans le tableau 1-1 pour les analyses physico-chimiques, dans le tableau 1-5 pour les variables biologiques.

Tableau 1. Stations des prélèvements étudiés pour les analyses statistiques

Région	N°	Situation, Caractéristiques
1. Sénégal		
Oriental	1	Etiolo - herbes denses, sol humide
	2	Etiolo riz stade 2 feuilles, sol humide
	3	Ngopou riz stade 2 feuilles, sol engorgé
	4	Ndibou riz stade 3 feuilles, 2cm d'eau
	5	Kédougou-Samékouta km6 - riz stade 3 feuilles, plateau sol humide
	6	Kédougou-Samékouta Km3 - riz stade 3 feuilles, bas fond, 5cm d'eau
	7	Kédougou-Ibel km3, jachère, 1-5cm d'eau
	8	Tiabedji: marigot avec des algues filamenteuses en bordure et à l'ombre
	9	Ethioir: croûtes algales autour des cases du village beudik
	10	Kédougou-Bandarasi riz montaison 5-10cm d'eau au centre de la rizière
	11	Kédougou-Bandarasi riz montaison, 2-4 d'eau, en bordure
	12	Dienoun Diala - riz montaison, croûtes algales, sol humide.
2a. Casamance		
riz-pluvial		
	15	Sakar - riz stade 2 feuilles sol humide
	18	Sitaba - riz stade 2 feuilles sol humide
	21	Ndiama-Kandiadiou - riz stade 2-3 feuilles, 2cm d'eau
	31	Boukiling - rizière début de cycle, 10cm d'eau
	32	Nari - riz grain pâteux, dense, sol humide
	33	Oulempane riz + carex, zone oxydée, 1cm d'eau, spirogyra
	34	Silinkine riz montaison, algues vertes en bloom, 10cm d'eau
	35	Bignona riz au tallage, très clairsemé, billons, 10cm d'eau
	46	Banganga riz 3 feuilles, bloom important, 2cm d'eau
	47	Saré-Bakari riz grain laiteux, bloom, 5cm d'eau
	48	Diana-Malari riz début épiaison, grande taille 20cm d'eau boueuse
	49	Marandan riz grain laiteux, couvert végétal moyen, 3cm d'eau
	50	Salikénié rizière non plantée, sphaignes, 5cm d'eau
2b. Casamance		
rizières irriguées		
	36	Djibélor Ancienne Station E1 riz maturité, 13-15 talles par pied, 3cm d'eau
	37	" " E5 riz grain pâteux, bloom à spirogyra, 1cm d'eau
	38	" " E3 riz grain pâteux, bloom à spirogyra, 10cm d'eau
	39	" " E9 riz récolté, repousses, 5cm d'eau
	40	" " E12 riz tallage, sol sableux, 25cm d'eau
	41	" " E7 riz maturité 16 talles par pied, sol humide
	42	" Nouvelle Station P37, riz peu développé en billon sur mangrove 30cm d'eau
	43	" Mangrove - carex
	44	" Nouvelle Station P13, riz récolté, repousses, bloom d'algues, 2cm d'eau
	45	" " " P 4 collection de riz, bloom très important, 8cm d'eau
3a. Fleuve		
rizières irriguées		
	26	Boundoum nord - riz montaison, 20cm d'eau avec nénuphars
	27	Kassac sud - riz au tallage, 15cm d'eau

Suite tableau 1

Région	N°	Situation	Caractéristiques
3a. Fleuve			
rizières irriguées			
	28	Richard-Toll, Canal D, riz à l'épiaison, couvert végétal dense, 15cm d'eau	
	29	Ndiael, grande digue riz au tallage, bloom, 20-25cm d'eau	
	30	Savoigne riz à l'épiaison, espacé, 20cm d'eau	
	57	Ross-Béthio D1, riz à maturité, 10cm d'eau	
	69	Fanaye - ADRAO, riz à maturité 5cm d'eau	
	70	Fanaye - ADRAO, riz récolté, sol humide	
	71	Fanaye - ADRAO, riz à maturité, sol humide, fort couvert-végétal	
	72	Diowguel - riz à maturité, sol humide	
	73	Sébou riz coupé sol humide	
	74	Diowguel riz à maturité prélèvement en bordure de rizière	
	75	Tiali riz à maturité sol humide	
	76	Tiali riz coupé, croûtes algales, sol sec	
	77	Barmétial riz coupé, croûtes noires, sol humide	
	78	Gouriki riz coupé, croûtes gris foncées, sol sec	
	79	Gouriki jachère, croûtes noires sous couvert végétal	
	80	Ganguel Soulé riz coupé, croûtes noires, sols sec	
	81	Ganguel Soulé, riz aplati, sol sec	
	83	Yaféra riz épiaison, sol humide, croûtes noires	
	84	Balou, riz coupé, sol humide, croûtes gris clair	
	85	Saldel riz maturité, sol engorgé	
	86	Ouaoundé riz maturité, sol engorgé.	
3b: Delta du Fleuve:			
	52	Tilène 1 Croûtes sur sol sec, herbes sèches	
	53	Tilène 2 " "	
	54	Tilène 3 " "	
	55	Tilène 4 " "	
	56	Pont Gendarme " "	
3c: Zone pastorale sèche			
	58	Fété-Olé Croûtes algales sur sol sec, herbes sèches	
	59	Fété-Olé " "	
	60	Dara sud " "	
	61	Fété-Olé dune " "	
	62	Fété-Olé pente " "	
	63	Fété-Olé dune " "	
	64	Fété-Olé pente " "	
	65	Fété-Olé fond " "	
	66	Fété-Olé fond " "	
	82	Moudéri - brousse à épineux, croûte noire, sol sec	
4: Zones humides particulières			
Casamance :			
	14	Sakar, arachide sur plateau, sol humide	
	16	Bougnadou, arachide en billon, prélèvement dans les creux sur sol humide	
	17	Bougnadou, arachide sous mil, croûte algale sur sol humide	
	19	Sédhiou-Séfa, sous-bois, autour d'une mare d'hivernage	
	20	Séfa-Diendé station agronomique, croûte algale sous-bois, sol humide	
	22	Missira-Médinatorodo, sous-bois, mare d'hivernage	
Kaolack			
	23	Gandiaye: autour de la mare d'hivernage	
Thiès			
	24	Louli: autour de la mare d'hivernage	

suite et fin du tableau 1

4a. Zones humides
particulières

Cap-Vert	51 Thiaroye, riz grain pateux, 15cm d'eau recouverte de lentilles et de nénuphars.
Fleuve	67 Richard-Toll canal d'irrigation de canne à sucre, croûte algale, sol exondé
Fleuve	68 Fanaye - ADRAO, canal d'irrigation, croûte algale en bordure
Sénégal Oriental	13 Koumpentoum : autour de la mare d'hivernage
	25 Dar-Salam - flaque d'eau dans les rochers latéritiques

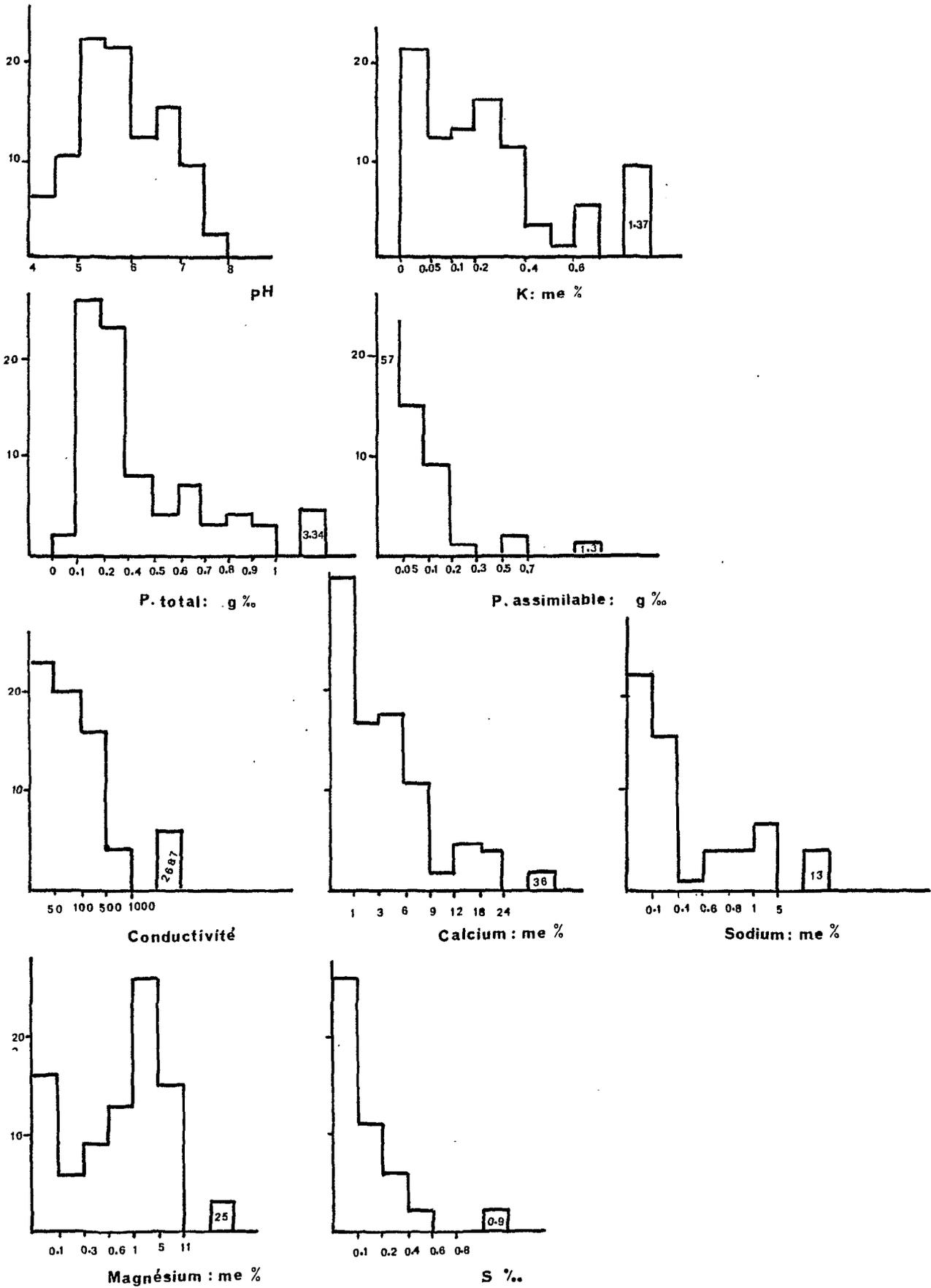


Figure 1 : Histogrammes de répartition des variables physico-chimiques décrites pour les analyses statistiques sur les 86 stations.

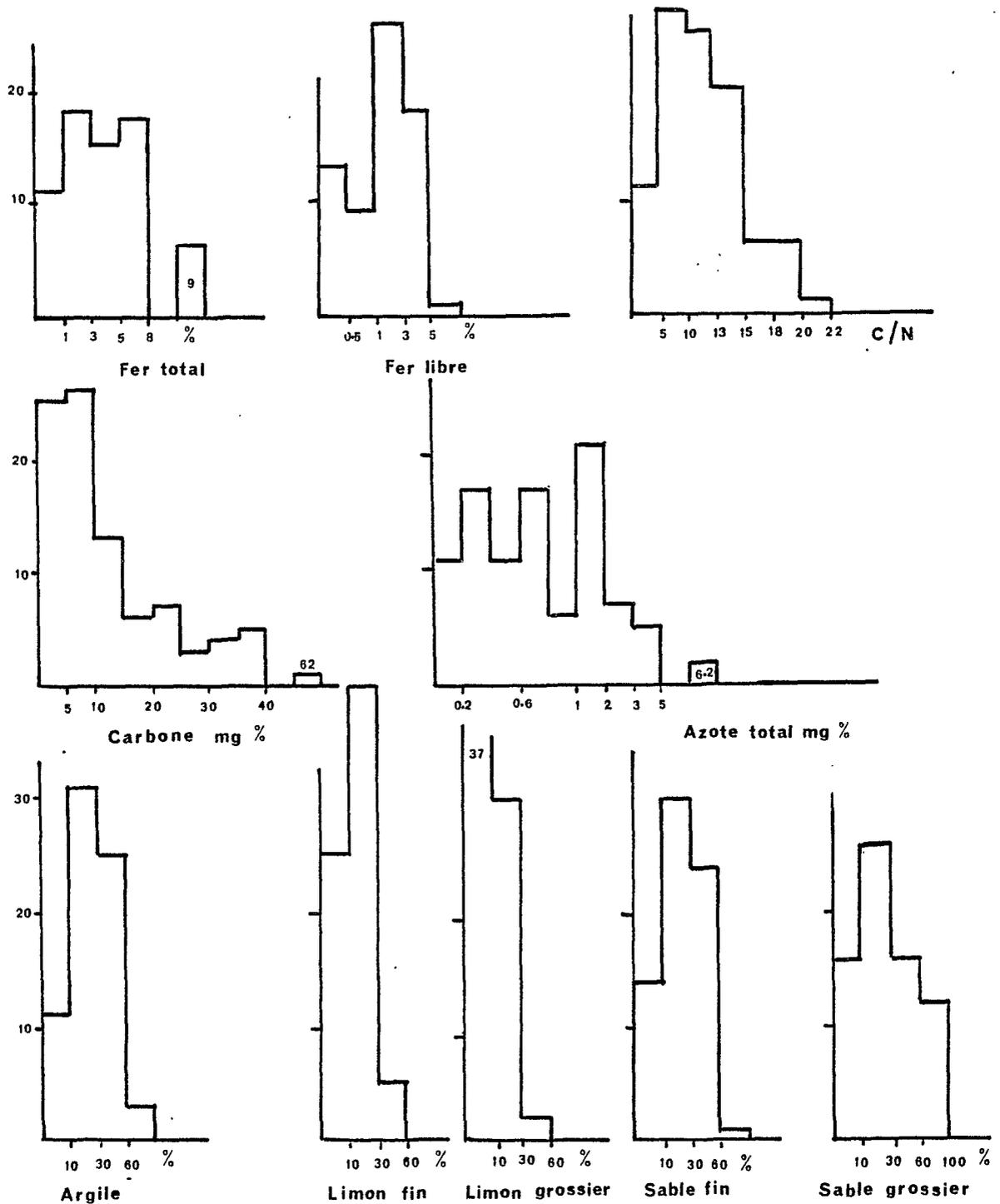


Figure 1 : Histogrammes de répartition des variables physico-chimiques décrites pour les analyses statistiques sur les 86 stations.

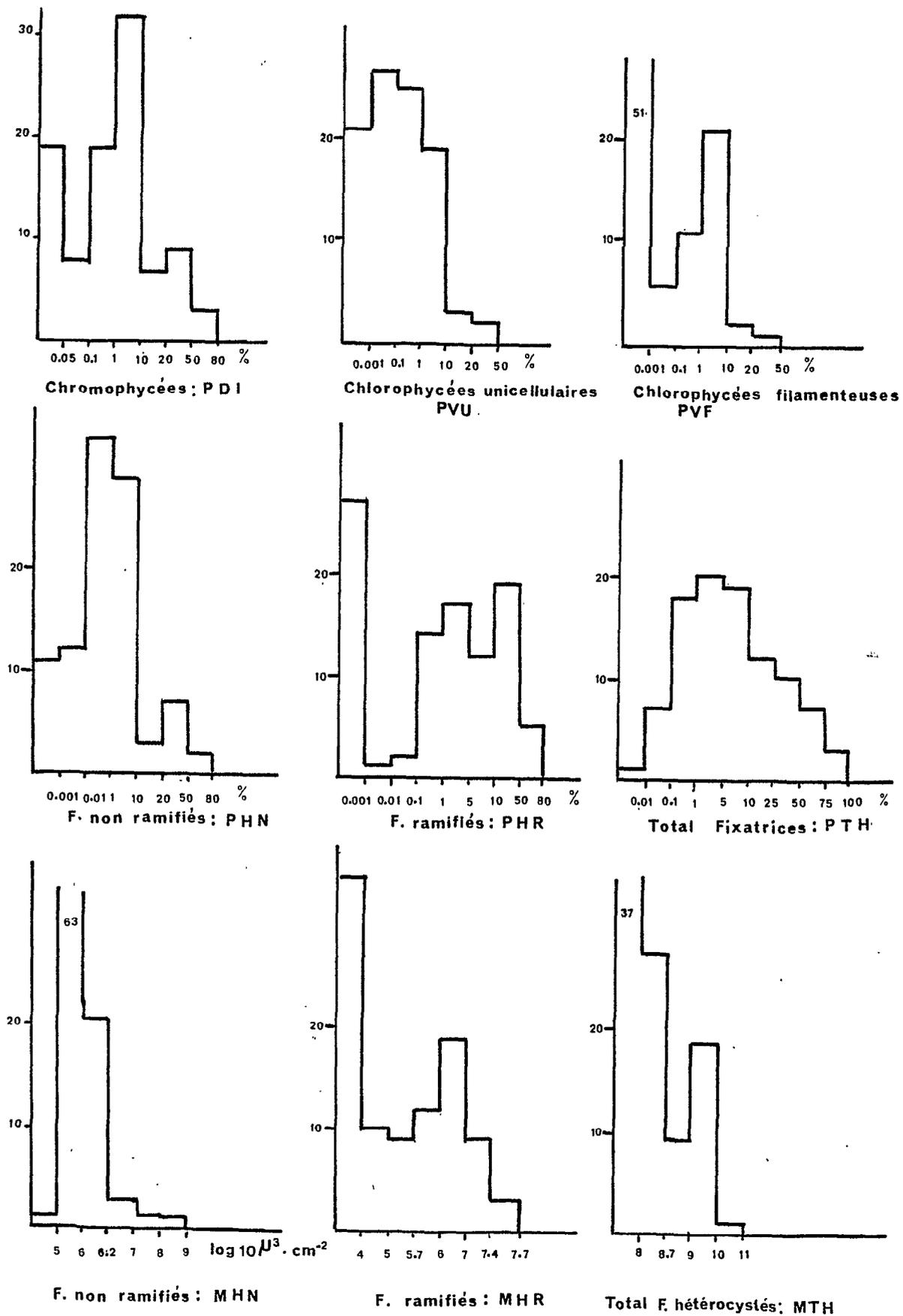


Figure 1 : Histogrammes de répartition des composantes de la flore algale décrites sur les 86 stations.

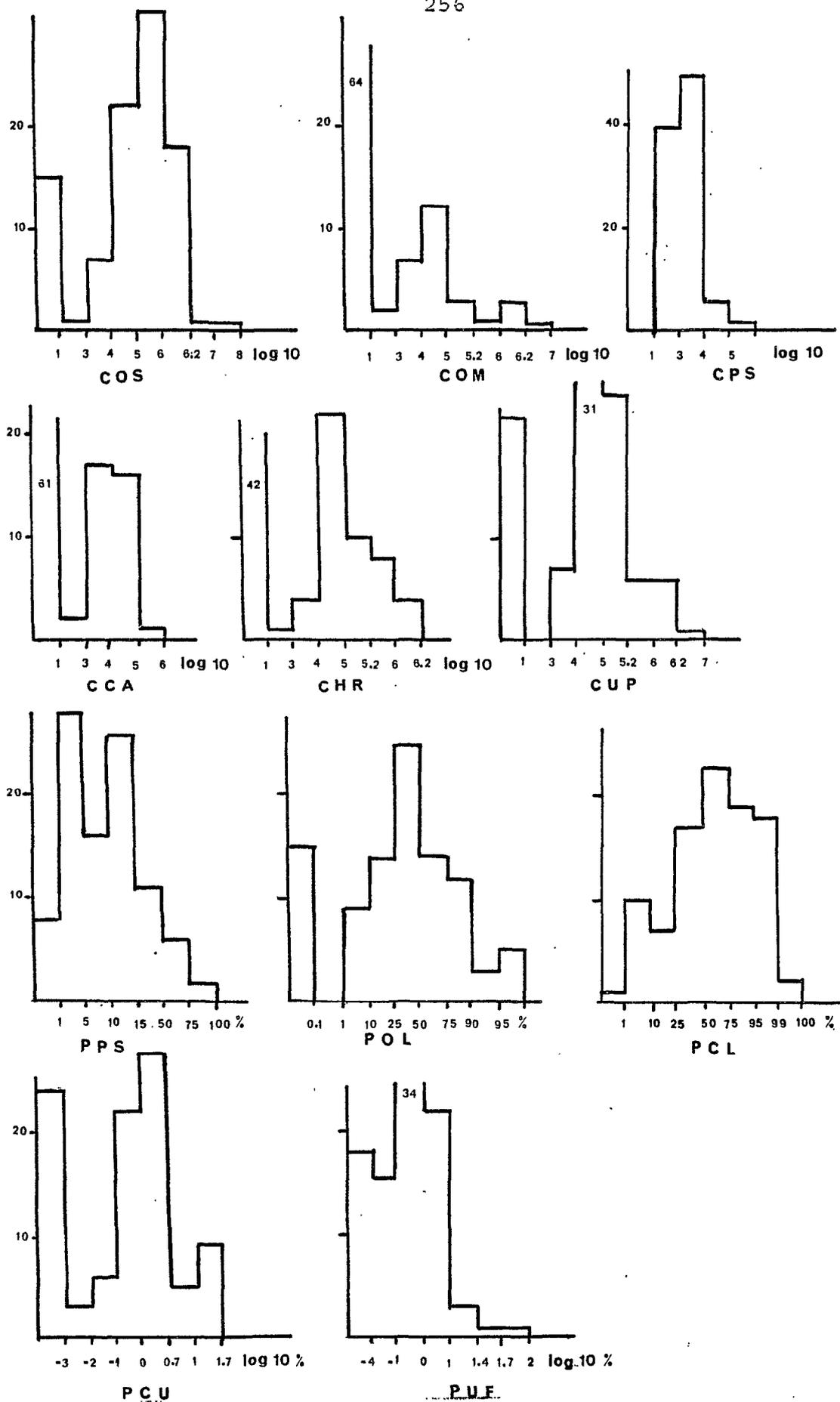


Figure 1 : Histogrammes de répartition des variables biologiques décrites sur les 86 stations : les sigles correspondent aux intitulés du tableau 1.

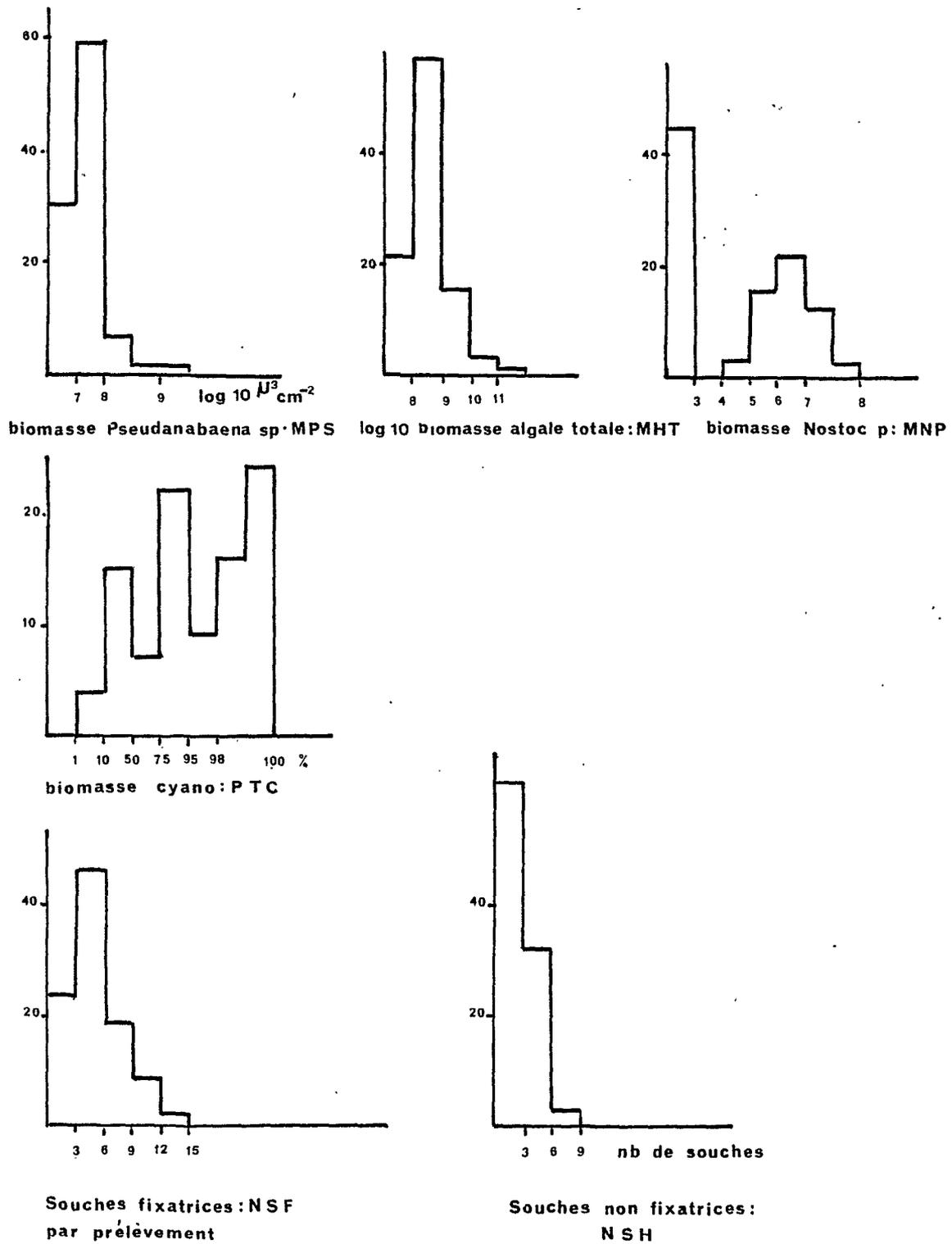


Figure 1 : Histogrammes de répartition des variables biologiques décrites sur les 86 stations.

RESUME :

Sous les conditions climatiques spécifiques à la zone tropicale sèche (hautes intensités lumineuses, longue période de sécheresse) les potentialités fixatrices d'azote atmosphérique par les cyanobactéries libres ou en symbiose avec la fougère aquatique Azolla sont analysées.

Les études écophysiologicals et les essais d'algalisation et d'azollisation ont mis en évidence: 1) les corrélations positives entre cyanobactéries fixatrices et pH, concentrations en C,N,Ca,P,K et sol sableux; 2) l'existence des populations algales sous trois états définis en fonction des potentialités fixatrices: sélectif, accumulatif ou évolutif; 3) des probabilités de réussites optimales si l'algalisation a lieu au début de l'état évolutif; 4) la complexité de la population algale, réponse aux conditions limitantes de l'environnement; 5) les caractéristiques principales de la croissance, de la fixation d'azote, de la reproduction sexuée d'Azolla pinnata var. africana; 6) une hiérarchisation des facteurs favorisant l'azollisation; 7) l'importance de l'effet retard qui permet d'estimer à 120 kg.N.ha^{-1} l'apport d'azote par l'azollisation sur un cycle végétatif du riz.

MOTS-CLES: Ecophysiology, Cyanobactérie, Azolla, Riz, Fixation biologique de l'azote, Afrique tropicale sèche.

KEY-WORDS: Ecophysiology, Cyanobacteria, Azolla, Rice, Biological nitrogen fixation, Agronomic trials, dry tropical Africa.