

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ET TECHNIQUE OUTRE MER (ORSTOM)
LABORATOIRE DE BIOLOGIE DES SOLS DE L'ORSTOM
B.P. 1386 - DAKAR (Sénégal)

DOMMERGUES (Y.)

avec la collaboration de :

DREYFUS (B.), RINAUDO (G.), GAUTHIER (D.)
ROGER (P.), REYNAUD (P.), GERMANI (G.)

La compétition en tant que facteur limitant la
fixation de N_2 par les Rhizobium, les diazotrophes
rhizosphériques et les Cyanobactéries

Compte rendu de fin d'étude d'une
recherche financée par la Délégation
Générale à la Recherche Scientifique
et Technique.

Action concertée : fixation biologique
de l'azote

Juin 1980.

Décision d'aide n° 78.7.0450

RESUME SIGNALÉTIQUE

La fixation de N_2 in situ peut être réduite, souvent considérablement, par l'intervention de processus de compétition.

Dans le cas des légumineuses la compétition entre Rhizobium introduits et Rhizobium natifs dépend à la fois de l'espèce ou du cultivar de la légumineuse considérée et de la nature des souches natives. Les actinomycètes antagonistes des Rhizobium ne semblent pas jouer un rôle important au champ. Par contre, les nématodes pathogènes peuvent handicaper considérablement la nodulation et fixation de N_2 , annulant pratiquement l'effet de l'inoculation par le Rhizobium.

Dans le cas de la fixation rhizosphérique de N_2 dans la rhizosphère du riz (ARFA) deux types d'organismes peuvent entrer en compétition : les actinomycètes et les nématodes.

La fixation de N_2 par les Cyanobactéries dans les rizières est souvent réduite ou inhibée (1) par le développement d'algues non fixatrices (stimulé par l'application d'engrais azoté), par l'intervention de prédateurs (Gastropodes notamment; Ostracodes) et la prolifération de plantes aquatiques adventices.

En conclusion, on a suggéré des approches susceptibles de réduire l'impact de ces processus de compétition en vue d'améliorer la fixation de N_2 au champ.

TABLE DES MATIERES

Chapitre I.	Introduction.....	1
Chapitre II.	Conduite de la recherche.....	2
Chapitre III.	Analyse des résultats, Interprétation.....	4
Chapitre IV .	Conclusion.....	10
V.	Publications scientifiques.....	13
	Brevets.....	14 bis
Annexe I .	Compétition entre <u>Rhizobium</u> chez les légumi- neuses.....	15
Annexe II.	Processus de compétition dans la rhizosphère dans le cas de l'AREA - Riz.....	24
Annexe III.	Compétition entre les Cyanobactéries fixatrices de N ₂ et certains autres organismes du biotope rizière.....	31

CHAPITRE I

INTRODUCTION

Les études que nous avons effectuées au champ en milieu tropical (Sénégal) depuis plus de trois ans nous ont montré que de nombreux facteurs environnementaux pouvaient réduire parfois considérablement l'activité des systèmes biologiques fixateurs de N_2 . Ces facteurs sont de nature biologique, physique ou chimique. L'objectif de notre programme de recherche consistait (1) à mettre en évidence les processus de compétition susceptibles de réduire significativement la fixation de N_2 in situ. (2) à rechercher si possible des méthodes susceptibles d'éviter ou de réduire les effets néfastes de ces processus de compétition.

Les recherches entreprises ont porté simultanément sur trois types de systèmes : le système symbiotique légumineuse-Rhizobium; l'association rhizosphérique fixatrice d'azote ou ARFA dans le cas du riz; les Cyanobactéries fixatrices d'azote dans les sols de rizière.

Définitions

- Diazotrophe : Organisme fixateur d'azote atmosphérique
- Compétition (sensu lato) : Ensemble des processus d'antagonisme qui ont pour effet de limiter l'installation et/ou le fonctionnement de système fixateurs d'azote efficients
- Aptitude compétitive : Aptitude d'une souche microbienne donnée à coloniser un milieu non stérile et à fixer l'azote activement
- ARFA : Association Rhizosphérique Fixatrice d'Azote; c'est le système d'association lâche constitué par les bactéries diazotrophes rhizosphériques et une plante
- ARA : Activité Réductrice d'Acétylène; c'est une mesure indirecte de la fixation biologique de l'azote.

CHAPITRE II

CONDUITE DE LA RECHERCHE

Une partie de la première année, a été consacrée à effectuer un inventaire des manifestations des processus de compétition susceptibles d'influencer défavorablement la fixation de N_2 . Nous avons ensuite retenu, pour une étude approfondie, les cas de compétition qui nous paraissaient les plus importants sur le plan appliqué (c'est à dire ceux qui étaient les plus nuisibles au champ) ou les plus intéressants sur le plan fondamental. Le tableau ci-dessus indique les cas qui ont retenu notre attention.

Système fixateur de N_2 considéré	Organismes impliqués dans les processus de compétition
Légumineuse (légumineuses du groupe <u>Vigna; Soja; Acacia</u>)	<u>Rhizobium</u> Actinomycètes Nématodes
Association fixatrice de N_2 chez le riz (ARFA - riz)	Actinomycètes Nématodes
Cyanobactéries fixatrices de N_2	Algues non fixatrices de N_2 Prédateurs des algues (Gastropodes et Ostracodes) Plantes aquatiques adventices

L'étude des processus de compétition est compliquée par le fait que les interactions entre le système fixateur de N_2 et l'organisme qui entre en compétition sont elles-mêmes sous la dépendance de facteurs environnementaux, édaphiques ou climatiques. Sauf exception, il est nécessaire de prendre en compte ces facteurs pour interpréter correctement les résultats expérimentaux.

Faute de temps, il n'a pas en général été possible d'atteindre l'objectif final (d'ailleurs ambitieux), qui consistait à proposer des méthodes susceptibles d'éliminer les effets néfastes de la compétition sur la fixation de N_2 . Mais certains des résultats obtenus ouvrent la voie à des méthodes susceptibles d'applications ultérieures ou suggèrent les orientations qu'ils seraient nécessaire d'adopter à l'avenir.

Toutes les recherches rapportées ici ont été conduites au Centre ORSTOM de Dakar à l'exception des recherches sur les Cyanobactéries fixatrices de N_2 qui ont été développées simultanément à l'ORSTOM, Dakar et à l'International Rice Research Institute (IRRI) aux Philippines, dans le cadre d'un accord de coopération entre ces deux instituts de recherche.

CHAPITRE III

ANALYSE DES RESULTATS. INTERPRETATION

1. CAS DES LEGUMINEUSES

1.1. Compétition entre Rhizobium

L'inoculation d'une légumineuse donnée par un Rhizobium sélectionné à haute efficacité (RI) peut se heurter au fait que ce sol renferme déjà des souches natives compétentes, mais moins ou peu efficaces. Si ces dernières souches sont dotées d'une forte aptitude compétitive, elles risquent de supplanter la souche RI que l'on désire introduire.

Nous avons étudié ce processus de compétition dans trois cas :

- compétition entre Rhizobium Vigna (cow-pea)
- compétition entre Rhizobium japonicum et Rhizobium Vigna
- compétition entre Rhizobium des Acacia.

1.1.1. Compétition entre Rhizobium Vigna

L'expérimentation a consisté à étudier un modèle simple utilisant un mélange de deux ou trois souches de Rhizobium Vigna (Rhizobium à croissance lente) apporté à six plantes hôtes (Macroptilium purpureum; Vigna unguiculata; Vigna radiata Vigna mungo; Stylosanthes humilis; Lab-lab purpureum) susceptible de noduler avec ces souches.

On a déterminé pour ces différents systèmes l'importance de la nodulation et de la fixation de N_2 . Le marquage des souches pour leur identification a été effectué en utilisant trois méthodes de marquage : méthode sérologique ; résistance aux antibiotiques de mutants; résistance naturelle à une large gamme d'antibiotiques.

Les résultats détaillés de cette étude sont exposés dans l'annexe I. Nous analyserons ici seulement le cas de la compétition entre deux souches : la souche 61 B9, très effective sur Macroptilium

atropurpureum (Siratro) et effective sur Vigna unguiculata (cow-pea); la souche QA 922, peu effective sur M. atropurpureum et non effective sur Vigna unguiculata. L'inoculation de Vigna unguiculata avec le mélange des deux souches donne une plante identique au témoin non inoculé. Ce résultat est dû au fait que seule la souche QA 922, qui est non effective sur Vigna, a éliminé par compétition la souche 61 B9; l'identification des Rhizobium dans les nodules révèle qu'aucun d'entre eux ne contient la souche 61 B9.

D'un autre côté lors de l'inoculation de M. atropurpureum par le même mélange de souches, la souche 61 B9 n'est pas éliminée par la souche QA 922.

Ainsi la compétition entre Rhizobium du même groupe apparaît comme un processus complexe, lié (1) à la nature des souches en présence (2) à la nature de la plante hôte.

Nous avons cherché à élucider l'origine du caractère compétitif d'une souche donnée.

1) La théorie qui veut qu'une souche A produisant une bactériocine active contre une souche B a été parfois invoquée à juste titre pour expliquer la compétitivité de cette souche A. En fait la souche 61 B9, qui produit une bactériocine active contre QA 922, ne présente aucune supériorité compétitive, bien au contraire, puisqu'elle est éliminée par QA 922 dans le système Vigna unguiculata.

2) La vitesse de nodulation (caractère différent de la vitesse de croissance) semble par contre jouer un rôle important dans la compétition par la nodulation.

1.1.2. Compétition Rhizobium japonicum et Rhizobium Vigna

Il a été montré que certaines souches de Rhizobium Vigna peuvent noduler le soja (souches RVS). Etant donné que la plupart des sols tropicaux renferment de nombreuses souches de Rhizobium Vigna dont certaines sont susceptibles de noduler le soja (souches RVS), on peut craindre que l'introduction de la culture du soja dans ces sols ne se heurtent au fait que des souches RVS entrent en compétition avec les souches de Rhizobium japonicum que l'on cherche à introduire en même temps avec le soja.

Les recherches préliminaires entreprises ont montré clairement que cette crainte était justifiée. C'est ainsi que les souches de Rhizobium Vigna ORS 405 et 407 réduisent significativement la nodulation par Rh. japonicum (USDA 130) ainsi que le rendement du soja, quelque soit le cultivar considéré, Jupiter ou Malayan (cf Annexe I).

1.1.3. Compétition entre Rhizobium des Acacia

Une étude systématique des populations de Rhizobium nodulant les Acacia a révélé que certaines espèces d'Acacia, notamment A. seyal pouvaient être nodulées à la fois par des Rhizobium à croissance rapide et par des Rhizobium à croissance lente. Ces Acacia constituent donc un modèle de choix pour tester l'hypothèse suivant laquelle la compétition d'une souche pourrait résulter de son aptitude à croître plus vite qu'une autre.

Une expérimentation fondée sur l'utilisation d'A. seyal a montré qu'il n'en était rien. Pour plus de détails concernant la compétition Rhizobium-Rhizobium, on se reportera à l'annexe I.

1.2. Compétition Rhizobium-actinomycètes

Etant donné que l'on accuse parfois les actinomycètes d'être à l'origine d'une nodulation défectueuse des légumineuses, nous avons cherché à vérifier cette hypothèse dans le cas de l'arachide qui, dans les sols du centre Sénégal, présente des chloroses consécutives à une nodulation insuffisante non attribuable à des attaques de nématodes. Dans un premier temps, on a été amené à construire un modèle expérimental simple "arachide + Rhizobium + actinomycète" qui a permis in vitro de vérifier la validité de l'hypothèse envisagée. Mais une étude in situ, fondée sur l'utilisation d'une méthode de comptage originale (Panthier et al., 1979) a montré qu'il n'y avait aucune différence significative entre les populations (d'ailleurs très faibles) d'actinomycètes antagonistes des Rhizobium dans les sols où l'arachide nodulait mal et dans les sols adjacents où elle nodulait de façon satisfaisante. Il semble donc que ce type d'antagonisme, tout au moins dans le cas de l'arachide au Sénégal, ne présente pas une

grande signification lorsqu'on se trouve placé dans les conditions complexes que l'on rencontre au champ.

1.3. Compétition avec les nématodes

Diverses études effectuées au champ ont montré que l'infestation des légumineuses par les nématodes réduisait considérablement la fixation de N_2 . L'effet de cette infestation est double : (1) il diminue le nombre des nodules, (2) il réduit parfois considérablement l'activité fixatrice de N_2 des nodules (ARA spécifique). La baisse de rendement consécutive à l'attaque des nématodes pathogènes et d'autant plus marquée que le sol considéré est pauvre en azote. C'est ainsi que Pratylenchus sefaensis réduit la nodulation du soja de 20 à 30%, la fixation de N_2 de plus de 50% et les rendements en graines d'au moins 50%.

La comparaison du comportement de différents cultivars d'arachide a montré clairement que certains d'entre eux pouvaient continuer à fixer l'azote même dans un sol fortement infesté par les nématodes. Par contre d'autres cultivars ne fixent pratiquement plus N_2 , dès que leur système racinaire est infesté.

Dans de très nombreux sols de l'Ouest Africain, il est apparu que l'inoculation au champ du soja avec le Rhizobium japonicum spécifique, était sans effet ou presque sans effet sur la fixation de N_2 , si, au préalable, on n'avait pas pris soin d'éliminer les nématodes du sol. En d'autres termes, dans les conditions climatiques et édaphiques de l'Ouest Africain, l'infestation par les nématodes constitue un facteur limitant majeur de la fixation de N_2 dans le cas des plantes sensibles à ces pathogènes (ce qui est le cas de la plupart des plantes cultivées telles que Vigna, arachide, soja). Pour plus de détails concernant ce problème on pourra se reporter aux deux notes de Germani, et al (1980 dont les références figurant sur la liste des publications jointes à ce rapport).

Afin de mieux appréhender l'impact de l'infestation des nématodes pathogènes sur l'activité fixatrice de N_2 par les légumineuses,

nous avons été amené à construire (en liaison avec un mathématicien de l'ENS, J. Meyer, chargé de recherche au CNRS) un modèle mathématique prédictif s'appliquant au Soja et à l'Arachide. Les résultats correspondants seront publiés à la fin de l'année 1980 dans "Agronomie Tropicale".

2. CAS DE L'ARFA - RIZ.

2.1. Compétition entre les bactéries fixatrices de N_2 et les actinomycètes dans la rhizosphère du riz

L'irrégularité de la fixation de N_2 (ARA) dans la rhizosphère du riz a pu, dans certains cas, être attribuée à l'intervention des actinomycètes, relativement abondants dans la rhizosphère. Ces actinomycètes peuvent avoir un effet inhibiteur (compétition par antibiotisme) ou au contraire stimulant vis à vis des bactéries fixatrices de N_2 .

2.2. Compétition entre les bactéries fixatrices de N_2 et les nématodes dans la rhizosphère du riz.

De même que les nématodes des pathogènes peuvent réduire, parfois considérablement, la fixation symbiotique de N_2 chez les légumineuses non résistantes à ces pathogènes, de même la fixation de N_2 par les bactéries associées de la rhizosphère peut diminuer très fortement sous l'effet de l'infestation par les nématodes. Pour plus de détails concernant ces problèmes, on se reportera à l'Annexe II.

3. CAS DES CYANOBACTERIES FIXATRICES DE N_2

3.1. Compétition entre Cyanobactéries fixatrices de N_2 et flore algale non fixatrices

Il existe une vive compétition entre les Cyanobactéries fixatrices de N_2 et les autres algues non fixatrices. Cette compétition est aggravée par la fertilisation. C'est ainsi que l'épandage en

surface d'urée ou de sulfate d'ammoniaque élimine pratiquement toutes les Cyanobactéries fixatrices de N_2 (répression de la N_2 ase des Cyanobactéries et stimulation de la compétition par les algues non fixatrices). Dans ces conditions l'apport d'engrais azoté apparaît comme incompatible avec la fixation biologique de N_2 par les Cyanobactéries.

Or cette fixation, lorsqu'elle peut avoir lieu n'est pas négligeable, puisqu'elle peut atteindre une trentaine de kg d'azote par ha et par récolte de riz. Afin de conserver l'apport de N_2 par voie biologique, tout en maintenant la fertilisation azotée, indispensable à l'obtention de rendements élevés, on a proposé une méthode simple, qui consiste à placer l'engrais azoté en profondeur. Cette méthode a donné des résultats très satisfaisants.

3.2. Compétition entre Cyanobactéries fixatrices de N_2 et prédateurs

Au champ (IRRI) il a été montré que deux types de prédateurs pouvaient limiter l'activité fixatrice de N_2 par les Cyanobactéries : Ostracodes (microcrustacés) et Gastropodes (Limnea), ces derniers pouvant constituer des biomasses considérables (1,5 tonne, poids frais par ha). Deux mécanismes interviennent pour limiter le développement des Cyanobactéries fixatrices de N_2 : broutage des Cyanobactéries; accroissement de la turbidité de l'eau, d'où diminution de la profondeur de la zone photique.

L'application de pesticides a pour effet d'accélérer indirectement la disparition des Cyanobactéries fixatrices de N_2 . En effet les pesticides éliminent les parasites des Ostracodes et Gastropodes et favorisent ainsi la prolifération de ces prédateurs des Cyanobactéries fixatrices de N_2 . Il s'agit là d'un nouvel exemple de perturbation d'un équilibre biologique par l'emploi de pesticides.

3.3. Compétition entre Cyanobactéries fixatrices de N_2 et plantes aquatiques adventices

Le développement des Cyanobactéries fixatrices de N_2 est handicapé par la flore aquatique adventice, la compétition se faisant au niveau de la nutrition (CO_2 , éléments nutritifs) et de l'espace.

CHAPITRE IV

CONCLUSION

En guise de conclusion, nous indiquerons ci-dessous les méthodes pratiques et les voies de recherche qu'il conviendrait d'explorer à l'avenir pour accroître la fixation biologique de N_2 dans le cas des trois systèmes considérés : légumineuses, ARFA, Cyanobactéries.

1. CAS DES LEGUMINEUSES

1.1. Compétition Rhizobium-Rhizobium

Il est difficile de préconiser une méthode générale permettant d'éliminer ce type de compétition, étant donné que ce processus dépend en grande partie de la composition des populations rhizobiennes du sol, composition qui varie considérablement d'un type de sol à l'autre. Toutefois, dans l'état actuel de nos connaissances, il y a lieu de recommander d'une part le développement de la sélection de cultivars appropriés, d'autre part d'inoculation massive de souches de Rhizobium susceptibles de donner avec les cultivars considérés des systèmes hautement fixateurs. En ce qui concerne la méthode d'inoculation, nous préconisons l'emploi de Rhizobium inclus dans des gels de polymères (Brevet 77-10254 du 5.04.1977).

1.2. Compétition avec les nématodes

L'élimination des nématodes pathogènes partout où ils existent est une condition sine qua non du succès de la nodulation et de la fixation de N_2 par les légumineuses, que les Rhizobium compétents préexistent dans le sol ou qu'ils soient apportés par inoculation.

L'emploi de nématicides est actuellement la seule méthode dont nous disposons. Il serait souhaitable que des recherches soient activement entreprises pour mettre au point d'autres méthodes de lutte contre ces pathogènes : lutte intégrée ou lutte biologique.

2. CAS DES ARFA

Contrairement aux légumineuses dont le potentiel fixateur de N_2 peut être considérable (plusieurs centaines de kg de N_2 fixé par récolte dans le cas des légumineuses à haut pouvoir fixateur), la contribution des ARFA (associations fixatrices d'azote dans la rhizosphère des graminées) à l'enrichissement des agrosystèmes en azote est beaucoup plus modeste (maximum 5 à 10 kg/ha/récolte) et ne présente pas une signification agronomique considérable. Toutefois, il pourrait, dans certains cas, être intéressant, de tenter d'accroître cet apport d'azote. Nos travaux ont montré que deux approches pouvaient être adoptées pour atteindre ce but : (1) manipulation conjointe des bactéries fixatrices de N_2 et des actinomycètes rhizosphériques, et sélection de plante-hôtes favorables à la prolifération de ces microorganismes dans leur rhizosphère (2) élimination des nématodes (voir à ce sujet les recommandations formulées au paragraphe 1.2 ci-dessus).

3. CAS DES CYANOBACTERIES FIXATRICES DE N_2

Le potentiel fixateur des Cyanobactéries en rizière est de l'ordre de 30 à 50 kg N_2 fixé par ha et par récolte. Il est donc intéressant de l'exploiter au maximum en éliminant notamment la compétition avec les algues non fixatrices et la compétition avec les prédateurs.

3.1. Compétition avec les algues non fixatrices

On a déjà indiqué que de meilleurs techniques d'application des engrais azotés (par ex. : placement en profondeur) pouvaient préserver l'activité fixatrice de N_2 des Cyanobactéries. D'autres méthodes pourraient être développées, notamment mise au point d'engrais compatibles (ne reprimant pas la nitrogénase des Cyanobactéries).

Une autre approche pourrait résider dans l'introduction en rizière de cyanobactéries dotées d'une forte aptitude compétitive telle que Gloetrichia.

3.2. Compétition avec les prédateurs

Les prédateurs (Gastropodes, Ostracodes) des Cyanobactéries sont, indiscutablement, responsables des faibles taux de fixation de N_2 observés en rizière. Leur élimination est donc une nécessité. Il semble possible de concevoir une méthode de lutte biologique fondée sur la multiplication d'algues antagonistes des prédateurs. Bien entendu l'usage des pesticides qui éliminent les prédateurs, devrait être très rigoureusement contrôlé.

CONCLUSION GENERALE

Il serait possible d'accroître considérablement l'activité des systèmes fixateurs de N_2 in situ, si l'on parvenait à mettre au point des méthodes, directes ou indirectes, permettant de réduire ou d'éliminer le processus de compétition les plus nuisibles. Cette conclusion est bien entendu valable non seulement pour les systèmes fixateurs actuellement connus mais aussi pour ceux que l'on pourrait construire à l'avenir.

PUBLICATIONS SCIENTIFIQUES

1. SYMBIOSE LEGUMINEUSE-RHIZOBIUM

- DOMMARGUES (Y.R.), DIEM (H.G.) and GANRY (F.). 1979.
The effect of soil microorganisms on plant productivity In : Soil Research in Agroforestry (H.O. MONGI and P.A. HUXLEY Eds) ICRAF, Nairobi, 20(-241).
- PANTHIER (J.J.), DIEM (H.G.) and DOMMARGUES (Y.R.). 1979.
Rapid method to enumerate and isolate soil actinomycetes antagonistic towards rhizobia. Soil Biol. Biochem. 11, 443-445.
- GERMANI (G.) MUGNIER (J.) DOMMARGUES (Y.R.) and HAM (G.). 1980.
Influence of nematode infestation on N₂-fixation and yield of Soybean. Agronomy Journal (soumis)
- DREYFUS (B.L.) and DOMMARGUES (Y.R.).
Fast- and slow- growing tropical Rhizobium nodulating Acacia species. ASM 80th Annual Meeting 11. 16 May 1980; 165.
- BREYFUS (B.L.) and DOMMARGUES (Y.R.).
Nodulation of Acacia species by fast- and slow- growing tropical strains of Rhizobium. Applied Envir. Microbiol (soumis).
- GERMANI (G.), DIEM (H.G.) and DOMMARGUES (Y.R.). 1980.
Influence of 1,2 dibromo-3-chloropropane fumigation on nematode population, mycorrhizal infection, N₂-fixation and yield of yield-grown groundnut. Rev. Nématologie. 3, 75-78.

2. A R F A

- DOMMARGUES (Y.R.) and RINAUDO (G.). 1979.
Factors affecting N₂-fixation in the rice rhizosphere. In : International Rice Research Institute. Nitrogen and Rice, Los Banos. 241-260.
- RINAUDO (G.) GAUTHIER (D.) and DOMMARGUES (Y.R.). 1979.
Enhancement of associative N₂-fixation through manipulation of the rhizosphere microflora - International Workshop on Associative N₂-fixation, Piracicaba (sous presse).

- RINAUDO (G.) and GERMANI (G.). Effect of the nematode Hirschmanniella spinicaudata on nitrogen fixation in the rice rhizosphere. Cahiers ORSTOM, Nématologie (soumis).
- GAUTHIER (D.) et RINAUDO (G.). 1980. Etude de diverses souches d'Azospirillum isolées au Sénégal. Effet de l'inoculation par les souches d'un système "Sol-Riz" non stérile. Cahiers de l'ORSTOM, Biologie (sous presse).
- ROUSSOS GARCIA (J.-L.) RINAUDO (G.) and GAUTHIER (D.) 1980. Distribution de la microflore hétérotrophe aérobie et en particulier des bactéries dénitrifiantes et fixatrices d'azote libres dans la rhizosphère du riz. Ann. Microbi (soumis)

3. CYANOBACTÉRIES FIXATRICES DE N₂.

- ROGER (P.A.) and REYNAUD (P.A.) 1979. Ecology of blue-green algae in paddy fields. In : International Rice Research Institute Nitrogen and Rice. Los Banos, 289-309.
- KULASOORIYA (S.A.) ROGER (P.A.) and WATANABE, (I.) 1980. Relationship between the growth of blue-green algae and standing crop in wetland rice fields. International Rice Research Newsletter 5, 18-19.
- REYNAUD (P.A.) 1980. Devenir d'inoculum de Cyanobactéries pendant les deux premiers mois du cycle du riz sur un sol engorgé. Cahiers de l'ORSTOM Biologie (soumis).
- ROGER (P.A.) KULASOORIYA (S.A.) TIROL (A.) and CRASWELL (E.T.) 1980. Deep placement : a method of nitrogen fertilizer application compatible with algal nitrogen fixation in wetland rice soils. (soumis).

BREVETS

Action concertée (Comité Scientifique) : Fixation biologique de l'azote.

(ou Action complémentaire coordonnée) :

N° de la décision d'aide : 73.7.0450

Organisme bénéficiaire : O.R.S.T.O.M.

Laboratoire : Laboratoire de Biologie des Sols de l'ORSTOM

B.P. 1.386 Dakar, Sénégal

Responsable Scientifique : Y. DOMMERGUES

Objet de la Décision : Etude de la compétition en tant que facteur limitant la fixation de N_2 par les Rhizobium, les diazotrophes rhizosphériques et les Cyanobactéries.

ANNEXE I.COMPETITION ENTRE RHIZOBIUM CHEZ LES LEGUMINEUSES

par

B. DREYFUS, P. JARA et Y. DOMMARGUES

Les essais d'inoculation des légumineuses par un Rhizobium sélectionné en vue d'un accroissement de la production, se sont souvent heurtés aux problèmes de compétition de la souche introduite avec les souches natives peu fixatrices d'azote, surtout si celles-ci appartiennent au même groupe de nodulation. En effet, l'établissement, la survie de la souche introduite, son aptitude à coloniser et à noduler la plante hôte dans un sol déjà peuplé de Rhizobium natifs, sont autant de facteurs dont dépend le succès de l'inoculation.

Ce problème est encore plus important dans les pays tropicaux où les souches natives adaptées à des conditions extrêmes de température, d'humidité ou de pH du sol, risquent d'être beaucoup plus compétitives qu'une souche sélectionnée en laboratoire pour sa capacité à fixer l'azote.

Nous avons étudié (1) la compétition entre souches de Rhizobium Vigna (cow pea) qui constituent le groupe de Rhizobium dominant dans les sols tropicaux, (2) la compétition pour la nodulation du soja entre Rhizobium japonicum et certaines souches du Rhizobium Vigna, (3) la compétition entre souches de Rhizobium d'Acacia.

1. COMPETITION ENTRE RHIZOBIUM DU GROUPE VIGNA.1.1. Etudes préliminaires

Les travaux ont porté sur la compétition Rhizobium-Rhizobium à partir d'un modèle simple utilisant des mélanges de deux ou trois souches de Rhizobium tropicaux sur six plantes hôtes.

1.1.1. Capacités symbiotiques

Afin de pouvoir utiliser un large éventail de capacité symbiotique, 20 souches de Rhizobium appartenant au groupe Rhizobium tropicaux à croissance lente Vigna (cow pea), ont été testées pour leur capacité à noduler et à fixer l'azote atmosphérique sur six plantes hôtes :

Macroptilium atropurpureum (Siratro)

Vigna unguiculata (Cowpea)

Vigna radiata

Vigna mungo

Stylosanthes humilis

Lab-Lab purpureus.

Les capacités symbiotiques de ces souches ont été testées en tubes de Gibson pour Siratro et Stylosanthes, en pots pour les autres plantes. Les résultats sont schématisés à la Figure I qui montre l'effectivité relative de 9 souches de Rhizobium sur chacune des six plantes.

1.1.2. Production de bactériocines

Nous avons pensé que la production de bactériocines pouvait jouer un rôle important dans la compétition inter-Rhizobium. Les 20 souches ont donc été testées pour leur capacité à synthétiser des bactériocines contre les 19 autres ou pour leur sensibilité à ces bactériocines. Sur les 20 souches testées, 10 souches ont produit des bactériocines ou des molécules de type bactériocine. Il a été possible de démontrer la production de trois types de molécules différenciées essentiellement par leur poids moléculaires (PM).

- 2 souches ont produit une molécule de PM supérieur à 14000 et dont la production est inductible par ultra-violet. Il s'agit sans doute de phages défectifs (pas de plaques sur Rhizobium sensibles).
- 7 souches ont produit une molécule de taille moyenne; PM: environ 10000. La zone de lyse peut atteindre dans ce cas 3cm de diamètre autour de la colonie productrice lorsqu'on emploie la méthode de la souche sensible en couche de gélose molle.
- 1 souche a produit une molécule de très petite taille : PM : 5000. Il s'agit sans doute d'un antibiotique.

Contrairement aux Rhizobium des régions tempérées, il n'a pas été possible d'obtenir de production de bactériocines en milieu liquide, ni en milieu solide lorsque le Rhizobium producteur n'est pas en contact direct avec le Rhizobium sensible. Ces propriétés qui distinguent les Rhizobium tropicaux des autres Rhizobium devront faire l'objet d'autres études.

Enfin, il n'a pas été possible chez les Rhizobium tropicaux de relier la production de bactériocines à un quelconque avantage compétitif comme ce fut le cas chez certains Rhizobium à croissance rapide.

1.1.3. Identification des souches

L'identification des souches responsables de la nodulation à partir d'un mélange de Rhizobium peut se faire par plusieurs méthodes :

a) Méthode sérologique : Nous avons produit du sérum de lapin contre six souches nous paraissant particulièrement intéressantes pour l'étude de la compétition;

b) Mutants résistants aux antibiotiques : A partir des souches sélectionnées pour la compétition, de nombreux mutants résistants à six différents antibiotiques

(chaque mutant n'étant résistant qu'à un seul antibiotique) ont été isolés puis testés pour leur capacité symbiotique par rapport aux parents. Or, il s'est avéré que 98% des mutants ainsi testés étaient moins effectifs que les parents et ne pouvaient ainsi être utilisés dans l'étude de la compétition. Nous nous sommes alors tournés vers une méthode originale utilisant la résistance naturelle des Rhizobium aux antibiotiques;

c) Résistance naturelle des Rhizobium tropicaux aux antibiotiques : application à l'identification des souches : Les 20 souches de Rhizobium tropicaux testées contre une dizaine d'antibiotiques montrent une très grande variation dans leur résistance naturelle (ou intrinsèque) à un même antibiotique. Ainsi, le Tableau I montre que pour la spectinomycine par exemple, la résistance intrinsèque varie suivant les souches de 10 à 500 mg/ml d'antibiotique (les Rhizobium des régions tempérées ont un niveau de résistance aux antibiotiques beaucoup plus faible). Nous avons donc utilisé ces propriétés des Rhizobium tropicaux

pour identifier les souches. En utilisant 4 ou 5 antibiotiques, il est en effet possible de distinguer entre les souches, chacune donnant une "empreinte" (fingerprint) de résistance caractéristique de la souche. Certains cas particulier, ^{comme} CB756 et 32HI (Tableau I), ne peuvent être résolus par cette méthode; il n'est d'ailleurs pas possible de distinguer ces deux souches par la méthode sérologique.

Pour ce qui est des mélanges de deux souches, il nous a été possible d'identifier chacune d'elles en utilisant, dans la plupart des cas, deux antibiotiques. Ainsi CB 1015 et CB 1024 peuvent être facilement distingués par la spectinomycine et par l'ampicilline. Cette méthode peut s'avérer très utile pour l'étude de la compétition dans le sol où interviennent de très nombreuses souches.

1.2. Etude de la compétition proprement dite.

Le Tableau II donne un aperçu des résultats concernant la compétition entre deux souches. Les résultats sont exprimés en poids sec de la partie aérienne de la plante hôte, dans les cas de Siratro et Cowpea. Sur 20 répétitions, l'erreur standard est de 15,7mg pour Siratro (Macroptilium atropurpureum) et de 0,5 g pour Cowpea (Vigna unguiculata) au seuil de 0,05. L'exemple de la souche USDA 61B9 en mélange avec la souche QA922 est intéressant (Tableau II) .

QA922 fixe peu l'azote sur Siratro (peu effective) et ne fixe pas d'azote sur Cowpea (non effective); USDA 61B9 est très effective sur Siratro, effective sur Cowpea.

Sur Cowpea le mélange 61B9 X QA922 donne une plante équivalente au témoin inoculé avec QA922. Lorsqu'on isole les Rhizobium à partir des nodules d'une telle plante, aucun nodule ne contient 61B9. La souche QA922 non effective a donc inhibé la nodulation de 61B9, souche effective sur Cowpea. 61B9 n'est pas affectée par QA922 sur Siratro.

Ainsi la compétition apparaît comme un phénomène complexe dépendant de la nature des souches en présence, de la plante hôte et même du cultivar. Signalons que la souche 61B9 produit une bactériocine active contre QA922. Dans le cas de Cowpea, l'effet de la bactériocine ne semble donc jouer aucun rôle puisque c'est QA922 qui inhibe la nodulation de 61B9.

Par contre la vitesse de nodulation de la souche utilisée semble jouer un rôle important dans la compétition.

2. COMPETITION RHIZOBIUM JAPONICUM ET RHIZOBIUM DU GROUPE VIGNA.

En Afrique de l'Ouest l'introduction d'une nouvelle légumineuse comme le Soja pose le problème de son inoculation par Rhizobium. En effet, le Soja est nodulé par le groupe Rh. japonicum, spécifique de cette légumineuse dont les Rhizobium appartiennent au groupe des Rh. à croissance lente. Or des études faites dans notre laboratoire ont montré que certains Rhizobium Vigna (groupe de Rh. à croissance lente comprenant la quasi totalité des Rhizobium tropicaux) peuvent aussi noduler le Soja (cv. 44A73 et cv. Malayan).

Il nous a donc paru intéressant d'étudier la compétition entre de telles souches et les Rhizobium japonicum pour savoir si la souche Rh. japonicum introduite par inoculation est compétitive vis à vis de souches de Rhizobium Vigna préexistant dans le sol.

Le Tableau III montre qu'une inoculation mixte du Soja cv. Malayan, provoque une baisse du nombre de nodules et du poids frais de la partie aérienne. Ces résultats montrent qu'il existe dans les sols du Sénégal des souches natives qui sont capables de noduler certaines variétés de Soja et que ces souches peuvent entrer en compétition avec les Rhizobium japonicum en provoquant une baisse importante de la production végétale liée à une diminution de la fixation de N_2 .

Ces résultats ont été obtenus au laboratoire et il est difficile de les extrapoler au champ. Toutefois on peut prédire que l'importance de l'effet des antagonismes susceptibles de se manifester in situ dépend à la fois de la nature des souches natives de Rhizobium présents dans le sol et du cultivar considéré.

Dans l'état actuel de nos connaissances, il semble que l'approche du problème consiste dans la sélection de cultivars appropriés et dans l'inoculation massive de souches de Rhizobium japonicum susceptibles de s'associer à ces cultivars pour donner les systèmes fixateurs de N_2 les plus efficaces.

3. COMPETITION ENTRE RHIZOBIUM D'ACACIA

Les études menées dans notre laboratoire ont montré qu'il est possible de distinguer trois groupes d'Acacia sur la base de leur nodulation par les Rhizobium tropicaux à croissance lente (Vigna) et les Rhizobium tropicaux à croissance rapide. Le premier groupe est nodulé par les Rhizobium à croissance lente, le second groupe par les Rhizobium à croissance rapide, le troisième groupe par les deux types de Rhizobium. Les Rhizobium à croissance rapide et les Rhizobium à croissance lente étant directement identifiables sur boîtes de Pétri, la nodulation des Acacia constitue un matériel de choix pour l'étude de la compétition entre Rhizobium. Le mélange de deux souches, l'une à croissance rapide, l'autre à croissance lente n'a cependant donné aucune différence significative par rapport au témoin inoculé avec la souche la plus fixatrice des deux; la plante hôte semble "sélectionner" la souche la plus efficiente.

En conclusion, le caractère vitesse de croissance⁽¹⁾ ne constitue nullement un critère de compétitivité.

(1) Ce caractère est différent du caractère "vitesse de nodulation" évoqué plus haut.

Tableau I. Résistance de 11 souches de Rhizobium Vigna à quelques antibiotiques.
 Les chiffres donnent la concentration minimum d'antibiotique
 inhibitrice de la croissance (M.I.C.) en µg/ml.

	<u>Spectinomycine</u>	<u>Streptomycine</u>	<u>Rifampicine</u>	<u>Acide Nalidixique</u>	<u>Ampicilline</u>	<u>Carbenicilline</u>	<u>Kanamycine</u>
CB756	20	10	200	200	10	100	100
32HI	20	10	200	200	10	100	100
CC405	20	5	200	150	10	20	20
CC403	20	20	100	150	10	20	20
USDA61B9	500	100	200	150	150	>500	100
CB751	50	10	50	300	100	500	20
CB746	50	20	100	300	100	>500	10
QA922	500	20	200	150	300	>500	20
CC493	100	20	20	200	200	100	50
CB1015	10	5	5	200	150	50	200
CB1024	100	20	200	200	5	50	200

Tableau II. Compétition entre 10 souches de Rhizobium Vigna inoculées par paires. Les résultats sont exprimés en poids sec de la partie aérienne de la plante hôte. Moyennes de 20 répétitions.

A. Siratro (Macroptilium atropurpureum)

mg de poids sec par plante

	<u>756</u>	<u>61B9</u>	<u>QA922</u>	<u>1024</u>
756	93	110	87	115
61B9		107	108	123
QA922			82	115
1024				107

- Erreur standard pour Siratro 15,7 au seuil de 0,05

- Poids de la plante témoin (non inoculée) : 80

B. Cowpea (Vigna unguiculata)

g de poids sec par plante.

	<u>756</u>	<u>61B9</u>	<u>QA922</u>	<u>1024</u>	<u>1015</u>
756	3,0	3,3	2,9	2,7	3,2
61B9		2,7	0,6	3,1	3,0
QA922			0,4	2,9	3,1
1024				3,3	2,9
1015					2,7

- Erreur standard pour Cowpea 0,5 au seuil de 0,05.

- Poids de la plante témoin non inoculée : 0,4.

Tableau III. Compétition entre une souche de Rhizobium japonicum (USDA 135) et deux souches de Rhizobium Vigna (ORS 405 et ORS 407) employées en inoculation mixte pour l'inoculation du Soja.

	Nombre de nodules	Poids frais des nodules (g)	Poids frais de la partie aérienne (g)
<u>Soja cultivar Malayan</u>			
USDA 135 Sp. (G ₂ Sp)	126	4	51
ORS 405	0	0	26
ORS 407	94	2,8	44
ORS 405 x USDA 135	52	2,9	37
ORS 407 x USDA 135	79	2,5	32
Témoin	0	0	27
<u>Soja cultivar Jupiter</u>	<u>Nombre de nodules</u>	<u>Poids frais des nodules (g)</u>	
USDA 135 Sp.	93	2,5	
ORS 405	0	0	
ORS 407	62	1,7	
ORS 405 x USDA 135	28	1	
ORS 407 x USDA 135	33	1	
Témoin	0	0	

Moyennes de 10 répétitions. Récolte à 6 semaines.

ANNEXE II

PROCESSUS DE COMPETITION DANS LA RHIZOSPHERE DANS LE CAS DE L'ARFA RIZ

par G. RINAUDO et D. GAUTHIER

1. COMPLEXITE DU SYSTEME SOL-RIZ.

Les fixateurs d'azote de la rhizosphère du riz sont étroitement dépendants de la plante hôte qui fournit l'énergie nécessaire à leur activité. D'autre part le niveau de l'activité fixatrice du système sol-riz dépend étroitement du sol, dont les caractères physico-chimiques conditionnent à la fois la croissance de la plante et la composition de la microflore rhizosphérique, donc les interactions plante-microorganismes. Les exemples qui suivent nous paraissent bien illustrer la complexité d'un tel système.

1 - Les fixations de N_2 (C_2H_2) mesurées au stade plantule de 3 semaines dans la rhizosphère du riz (cv. Séfa 319 G) cultivé sur un sol de la Région du Fleuve Sénégal (Boundoum) et un sol de Camargue (Mas Adrien, Arles), ont été respectivement de 168 et 5420 nmoles C_2H_4 /g racines/h (Dommergues et Rinaudo, 1979).

2 - Des études (effectuées en collaboration avec M. Marie, INRA, Montpellier) ont également montré que la fixation de N_2 rhizosphérique était fonction du génotype de la plante. Nous avons mesuré l'ARA de mutants du riz cv. Cigalon, cultivés sur 2 sols : sol de Camargue et sol gris de Casamance (Rinaudo, et coll., 1979). Les résultats obtenus (Tableau 1) montrent qu'il serait illusoire de vouloir classer des variétés de riz en fonction de l'activité fixatrice qu'elles induisent: ce classement dépend du type de sol.

3 - Les ARA dans la rhizosphère du riz cv. Morobérékan, mesurées sur sol Dior (Bel Air, Dakar) après inoculation par deux Azospirillum (DK 93 et BK 85) ont été respectivement de 9910 et 1150 nmoles C_2H_4 /g racines/h, alors que sol gris ces mêmes souches ont produit des effets inverses (660 et 1530 nmoles C_2H_4 respectivement).

Ces résultats montrent que la fixation de N_2 dans la rhizosphère du riz peut varier dans des proportions considérables en fonction du couple sol-riz utilisé, et dépend de facteurs qui échappent à notre contrôle, notamment de phénomènes de compétition.

2. MISE EN EVIDENCE D'UN ANTAGONISME ACTINOMYCETES - FIXATEURS D'AZOTE

2.1. Distribution de la microflore hétérotrophe aérobie dans la rhizosphère du riz.

Cette étude a été entreprise dans le cas du sol gris de Casamance en présence du riz cv. Morobérékan. Afin d'apprécier l'incidence de la plante sur la distribution de la microflore, les analyses ont été effectuées à trois niveaux: sol de la rhizosphère proche, rhizoplan, endorhizosphère (Roussos et coll., 1980).

Il est apparu (Tableau 2) que la proportion de fixateurs diminue régulièrement lorsque l'on passe du sol rhizosphérique (53%) à l'endorhizosphère (16%). Inversement, la densité en actinomycètes est plus forte dans l'endorhizosphère (7,2%) que dans le sol de la rhizosphère proche (1,7%). Cette observation est à rapprocher des résultats obtenus récemment par Dobereiner et Baldani (1979) qui ont montré dans le cas de la rhizosphère du maïs que la proportion de bactéries de l'endorhizosphère résistant à de faibles concentrations en streptomycine était de loin supérieure à celle de la population du sol. Il est donc vraisemblable que les actinomycètes, en raison de leur aptitude à produire des substances antibiotiques, provoquent une sélection au sein de la microflore et conditionnent ainsi la colonisation rhizosphérique.

2.2. Méthode permettant de tirer parti de l'antagonisme des actinomycètes vis à vis de la microflore rhizosphérique.

Nous avons choisi des microorganismes représentatifs de la microflore endorhizosphérique du système sol gris-riz cv. Morobérékan: deux actinomycètes A1 et A15 (non identifiés) et un fixateur d'azote F4 (appartenant à la famille des Vibrionaceae) sélectionné pour sa résistance aux actinomycètes A1 et A15.

Des expériences d'inoculation du système sol gris-riz cv. Morebérékan avec ces microorganismes ont été effectuées afin d'apprécier : (i) l'effet antagoniste des actinomycètes vis à vis de la microflore fixatrice, et (ii) l'effet de l'association actinomycètes - fixateurs résistants.

Les résultats obtenus (Tableau 3) montrent que : (i) l'inoculation du sol par les actinomycètes A1 et A15 provoque une diminution sensible (25% environ) de l'activité fixatrice, (ii) l'association actinomycètes A1 et A15 et fixateur F4, a pour effet d'accroître la fixation de N_2 d'environ 75% par rapport au système inoculé par F4 seul (Rinaudo et coll., 1979).

Les actinomycètes semblent donc exercer un certain contrôle de la colonisation de la rhizosphère du riz par la production de substances antibiotiques. Cette aptitude pourrait être mise à profit, en les associant à des fixateurs résistants.

3. ANTAGONISME NEMATODES-FIXATION DE N_2

Une étude préliminaire (effectuée en collaboration avec G. Germani ORSTOM), a montré que l'infestation du sol par Hirschmanniella spinicaudata, avait pour conséquence une réduction considérable de la fixation de N_2 (C_2H_2), avant même que les effets du nématode sur le développement végétatif du riz ne soient apparents (Tableau 4).

Les nématodes parasites du riz pourraient donc constituer un très sérieux facteur limitant de l'activité fixatrice.

Tableau 1. Activité réductrice d'acétylène (ARA) dans la rhizosphère du riz Cigalon (cv. originel) et de deux mutants Cigalon (Cigalon microaristé et Ciméjap haute tige), cultivés sur sol de Camargue (Mas Adrien, Arles) et un sol gris de Casamance (Dianaba) (plantules de 5 semaines).

	ARA : nmoles C ₂ H ₄ /h (± IC)	
	par plante	par g racines sèches
<u>Sol de Camargue</u>		
Cigalon (cv. originel)	151 ± 54	4079 ± 1389
Cigalon microaristé	28 ± 11	361 ± 456
Ciméjap haute tige	370 ± 80	7368 ± 1971
<u>Sol gris de Casamance</u>		
Cigalon (cv. originel)	34 ± 20	2589 ± 466
Cigalon microaristé	79 ± 27	3682 ± 1251
Ciméjap haute tige	82 ± 17	2330 ± 596

IC : Intervalle de confiance (12 répétitions).

Tableau 2. Distribution de la microflore hétérotrophe aérobie dans les trois compartiments de la rhizosphère du système sol gris-riz cv. Morobérékan. (nb de germes/g de sol sec (SR) ou de racines sèches (R et ER)).

Compartiment de la rhizosphère	Microflore totale (x 10 ⁸)	Fixateurs de N ₂ (x 10 ⁷)	Actinomycètes (x 10 ⁶)	% de la microflore totale	
				Fixateurs de N ₂	Actinomycètes
Sol rhizosphérique (SR)	2,0	10,6	3,3	53	1,7
Rhizoplan (R)	1,3	4,5	7,4	25	4,1
Endorhizosphère (ER)	1,2	1,9	8,6	16	7,2

Tableau 3. Inoculation du système sol gris-riz cv. Morobérékan, par une bactérie fixatrice d'azote (F4) et deux actinomycètes (A1 et A15) isolés de l'endorhizosphère de ce système. Mesure de l'activité réductrice d'acétylène (ARA) rhizosphérique au stade plantule de 3 semaines.

Inoculum	ARA : nmoles C_2H_4 / h (± IC)	
	par plante	par g racines sèches
<u>Expérience 1</u>		
Témoin	173 ± 23	4640 ± 900
A1 + A15	130 ± 33	3100 ± 1950
<u>Expérience 2</u>		
F4	132 ± 34	3100 ± 950
F4 + A1 + A15	234 ± 176	5690 ± 3850

IC : Intervalle de confiance (3 répétitions).

Tableau 4. Effet de l'infestation du sol avec Hirschmanniella spinicaudata sur l'activité réductrice d'acétylène (ARA) dans la rhizosphère du riz cv. Morobérékan (plantules de 3 semaines).

Traitement	ARA nmoles C ₂ H ₄ /h (± IC)		Développement végétatif (mg par plante)	
	par plante	par g racines sèches	Racines	Feuilles
Témoin	256 ± 95	5110 ± 1881	52 ± 9	80 ± 10
<u>H. spinicaudata</u>	22 ± 14	373 ± 207	56 ± 13	36 ± 18

IC : Intervalle de confiance (8 répétitions).

ANNEXE III

COMPETITION ENTRE LES CYANOBACTERIES FIXATRICES
DE N₂ ET CERTAINS AUTRES ORGANISMES
DU BIOTOPE RIZIERE

par P.A. REYNAUD et P.A. ROGER

Nos recherches ont porté sur les trois types de compétition suivants :

- Compétition entre Cyanobactéries fixatrices d'azote et algues non fixatrices en présence d'engrais azoté.
- Compétition entre Cyanobactéries fixatrices d'azote et prédateurs.
- Compétition entre Cyanobactéries fixatrices d'azote et adventices submergées.

Une Cyanobactérie fixatrice Gloeotrichia sp., dominante dans les champs expérimentaux de l'IRRI et trouvée en abondance en épiphyte des racines de Sesbania rostrata au Sénégal a donné lieu à des études plus spécifiques de compétitivité.

1. COMPETITION ENTRE CYANOBACTERIES FIXATRICES D'AZOTE ET ALGUES NON FIXATRICES.

1.1. Inoculation massive.

Une expérience en vase de végétation avec 2 types d'inoculum avec ou sans engrais azoté a été effectué à l'ORSTOM. Dans le cas de l'inoculum d'un mélange de 5 Cyanobactéries hétérocystées; on remarque une augmentation significative de la croissance du riz par rapport aux témoins. L'inoculum d'Oscillatoria sp. souche homocystée résistante aux hautes intensités lumineuses, disparaît rapidement et n'a aucune influence sur la croissance du riz.

Après 2 mois de culture, dans ces conditions non axéniques, la biomasse algale composée au départ seulement de l'inoculum a évolué vers un équilibre entre formes fixatrices et formes non fixatrices.

La prépondérance d'une flore fixatrice pourrait se produire après le tallage grâce à un ombrage et à des conditions physicochimiques plus favorables.

1.2. Influence de l'application d'engrais sur la compétition entre Cyanobactéries et autres algues.

1.2.1. De l'étude des variations qualitatives et quantitatives de la flore algale en parcelles lysimétriques pendant tout un cycle végétatif dans 5 traitements sur jachère, riz avec fumure de fond (27 kg N/ha), riz avec sulfur coated urea (S.C.U.) en surface ou enfouie (119 kg N/ha), riz avec urée (119 kg N/ha) on peut retenir les points suivants :

Le S.C.U. enfoui permet le développement le plus régulier et le plus important de la flore algale totale et c'est dans ce traitement que le rendement en grain est le meilleur.

Il n'existe cependant pas de différences significatives entre les structures des populations algales des trois traitements avec engrais azoté.

En fin de cycle végétatif, on note une forte augmentation du pourcentage de la biomasse de Cyanobactéries fixatrices. Il n'y a pas, tout au long du cycle de fixation significative d'azote.

1.2.2. Deux expériences, au champ et en vase de végétation ont été réalisés à l'IRRI pour tester l'influence des engrais azotés sur la flore algale 15 jours après l'application des engrais. L'application d'urée en surface inhibe la fixation d'azote et favorise la croissance des algues vertes. Au contraire le placement en profondeur de super granules d'urée n'arrête pas la croissance des Cyanobactéries fixatrices d'azote et permet une activité fixatrice en surface.

Ces deux types d'expérience (études sur un cycle complet et observations ponctuelles) démontrent clairement les avantages d'une application localisée et en profondeur des engrais azotés. Cette technique diminue de façon importante les pertes d'azote par volatilisation et permet le développement compétitif de la flore algale fixatrice.

2. COMPETITION ENTRE CYANOBACTERIES ET PREDATEURS

Des observations effectuées à intervalles réguliers dans les rizières expérimentales de l'IRRI et les microparcelles de l'ORSTOM ont montré que deux types de prédateurs des algues étaient susceptibles

de se développer avec une abondance suffisante pour limiter l'activité fixatrice de la flore algale: d'une part des Ostracodes, d'autre part des Gastéropodes appartenant principalement au genre Limnée. Deux études quantitatives préliminaires et une étude qualitative ont été effectuées pour mettre en évidence la potentialité qu'ont ces prédateurs de se comporter en facteurs limitants du développement de la biomasse algale.

L'activité de ces prédateurs est amplifiée lors de l'application de pesticides auxquels ils sont particulièrement résistants. En effet les pesticides détruisent les prédateurs des Gastéropodes et des Ostracodes de sorte que ces derniers prolifèrent anormalement. L'introduction d'une suspension d'Anabaena flos-aquae dans les cultures détruirait ces populations et, en outre, serait un facteur non négligeable de la fixation d'azote biologique.

3. COMPETITION ENTRE CYANOBACTERIES ET PLANTES AQUATIQUES ADVENTICES.

Les relations entre la biomasse algale fixatrice d'azote, et la biomasse des adventices submergées en présence d'une culture de riz et dans des sols en jachère ont été étudiées dans 24 microparcelles de 1,5m².

Les résultats indiquent d'une part une biomasse algale fixatrice d'azote supérieure dans les parcelles plantées, d'autre part une corrélation négative entre la biomasse des adventices submergées et celle des algues fixatrices d'azote.

La compétition entre les adventices submergées et les Cyanobactéries pourrait s'exercer au niveau de la nutrition (CO₂ et éléments nutritifs) et de l'espace.

4. CAS DE GLOEOTRICHIA sp.

Cette Cyanobactérie est dotée d'une aptitude compétitive particulièrement élevée.

Une observation systématique des champs expérimentaux de l'IRRI a montré que la majorité des blooms fixateurs d'azote qui se développent sont pratiquement unialgaux et constitués de globules de Gloeotrichia sp (natans ?).

Différentes observations permettent d'expliquer la compétitivité remarquable de cette souche qui peut développer des biomasses très élevées (24 t ha^{-1} , poids frais).

Il apparait que Gloeotrichia est une espèce particulièrement compétitive par suite de sa résistance relative aux hautes intensités lumineuses, de son aptitude à se développer en épiphyte, de son activité antagoniste vis à vis de certaines autres algues et de sa résistance à la prédation.

CONCLUSION GENERALE

Les expériences réalisées ont mis en évidence l'existence de compétition entre les composants biotiques de la rizière. Les Cyanobactéries fixatrices d'azote sont caractérisées par une absence de compétitivité en présence d'azote minéral, d'où l'intérêt d'un placement en profondeur de l'engrais azoté qui permet à la fois une nutrition satisfaisante du riz et un développement de la flore fixatrice.

Parmi les facteurs biologiques limitant le développement de la flore algale fixatrice, la prédation par le zooplancton et les populations de Gastéropodes est certainement l'un des plus importants.

Gloeotrichia sp espèce dominante dans les rizières de l'IRRI, fournit un exemple de souche compétitive qui démontre que le niveau d'activité fixatrice d'azote est loin d'être le seul facteur à prendre en considération dans la sélection de souches efficaces pour l'inoculation des rizières submergées.