

Étude de la fixation de N₂ par les cyanobactéries dans une rizière soudano-sahélienne

Thaïrou M. TRAORE

Ecole Normale Supérieure, BP 241, Bamako, Mali

Pierre-Armand ROGER et Pierre-Adrien REYNAUD

*Laboratoire de Microbiologie du Sol,
ORSTOM, BP 1386, Dakar, Sénégal.*

Albert SASSON

Division des Sciences Ecologiques, Unesco, Paris

RÉSUMÉ

L'étude des variations de l'activité réductrice d'acétylène au cours de deux cycles culturaux dans une rizière malienne permet d'estimer la fixation algale à 50-80 kg d'azote par hectare et par cycle.

MOTS-CLÉS : Fixation de N₂ — Cyanobactéries — A.R.A. — Riz — Mali.

ABSTRACT

N₂-FIXATION BY BLUE-GREEN ALGAE IN PADDY FIELD IN MALI.

A.R.A. variations during two cultivation cycles in a paddy field in Mali (West Africa) were studied. A fixation of 50-80 kg N₂ per cycle and per ha. by blue-green algae was estimated.

KEY WORDS: N₂ — Fixation — Cyanobacteria — A.R.A. — Rice — Mali.

INTRODUCTION

Les Cyanobactéries ont un rôle important dans l'équilibre azoté des sols de rizière. Ce rôle devient prépondérant en l'absence de fertilisation minérale (Venkataraman, 1972).

En Afrique, où l'on constate un accroissement continu des surfaces cultivées en riz, l'étude de la fixation algale est une nécessité agronomique, en raison de la rareté et du coût des engrais azotés. Un certain nombre de travaux portant sur l'écologie des Cyanobactéries ont déjà été réalisés en Egypte (Taha, 1963), en Ouganda (Horne et Viner, 1971), au Sénégal (Roger et Reynaud, 1976; Reynaud et Roger, 1978), au Maroc (Renaut et coll., 1975) et au Mali (Traore et coll., 1975). Par contre les estimations quantitatives de la fixation au cours du cycle cultural du riz sont peu nombreuses et font appel à des méthodes indirectes (Roger et Reynaud, 1977).

Cet article présente les résultats d'une étude des variations de l'activité fixatrice de N₂ des Cyanobactéries dans une rizière du Mali au cours de deux saisons culturales consécutives (1976-1977).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

FACTEURS ABIOTIQUES ET PRATIQUES CULTURALES

La rizière étudiée est située à proximité du laboratoire de microbiologie, E.N.S. Bamako (Mali). Les conditions climatiques sont celles des régions soudano-sahéliennes : une saison sèche comprenant une période fraîche (22°C) de décembre à mai, et une saison chaude (30°C) et humide (1 000 mm) de juin à octobre.

L'analyse physico-chimique de l'horizon de surface (tabl. I) montre qu'il s'agit d'un sol limono-argilo-sableux, riche en carbone organique, de pH neutre. La

somme des cations échangeables et la teneur en P_2O_5 sont satisfaisantes. Toutefois la forte teneur en fer pourrait produire des phénomènes de toxicité dans ce sol hydromorphe.

TABLEAU I

Caractéristiques physico-chimiques de l'horizon de surface du sol étudié.

TEXTURE.

Argile	22,5 %
Limon fin	17,6 %
Limon grossier	8,2 %
Sable fin	17,4 %
Sable grossier	23,6 %

pH (eau/sol = 1,5) au début du cycle cultural : 6,8
à la fin du cycle cultural : 8,0

MATIÈRE ORGANIQUE : 81,23 %

C organique : 47,12 %; N organique : 2,3 %; C/N : 20,5.

PHOSPHORE ASSIMILABLE : 6,12 %.

BASES ÉCHANGEABLES (en mé./100 g):

Ca : 13,6; Mg : 4,2; K : 1,0; Na : 0,7.

La rizière est du type pluvial, sans maîtrise de l'eau. La préparation du sol, suivie du semis commence en juin après les premières pluies. Aucun apport d'engrais n'est effectué. La récolte a lieu en novembre.

Au cours de la période de croissance végétative du riz, on observe l'apparition de phanérogames adventices essentiellement représentées par des Graminées (*Oryza sativa*) et des Cyperacées (*Heliocharis plantaginea*).

DÉNOMBREMENT DES CYANOBACTÉRIES

Il est effectué par la méthode des suspensions-dilutions avec étalement sur boîtes de milieux gélosés sélectifs pour algues procaryotes et pour algues fixatrices de N_2 (REYNAUD et ROGER, 1977). L'incubation des boîtes de Pétri est faite à la température du laboratoire (28°C) sous un éclairage de 1 000 lux environ (tubes au néon type lumière du jour, Mazda TFR 40 W). La lecture est effectuée sous microscope stéréoscopique après 21 jours d'incubation.

ACTIVITÉ NITROGÉNASIQUE

L'activité nitrogénasique est évaluée par l'activité réductrice d'acétylène (A.R.A.). La méthode utilisée est dérivée de celle de Balandreau et Dommergues (1971).

Les mesures sont effectuées dans des cylindres de chlorure de polyvinyle (opaque) fermés à la partie supérieure par un disque d'Altuglas (transparent); un bouchon en caoutchouc permet injections et prélèvements. L'acétylène est injecté à la seringue en quantité connue suffisante pour obtenir une concentration voisine de 10 %; 0,2 ml de propane sont injectés aussitôt après, comme traceur. Les prélèvements sont faits au moyen de tubes « Vacutainer », au temps zéro (injection de C_2H_2) et après 30 minutes d'incubation.

Les mêmes échantillons sont utilisés pour l'établissement des cycles journaliers; la validité de ce réemploi a été précédemment démontrée (Traore et coll., 1977).

Parallèlement aux mesures d'A.R.A., nous avons enregistré les variations journalières :

— de la température dans le premier centimètre du sol,

— de l'intensité lumineuse incidente, mesurée perpendiculairement au sol au moyen d'un luxmètre.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

VARIATION DE LA MICROFLORE FIXATRICE AU COURS DES CYCLES CULTURAUX

Les dénombrements ont débuté tardivement lors du premier cycle cultural (23 jours après le semis). Le second cycle cultural a été écourté, par suite d'un arrêt précoce des pluies trois semaines avant la fin du cycle végétatif normal de la variété cultivée. Ces deux cycles ne sont donc pas superposables. Les résultats des dénombrements (tabl. II) montrent que les algues fixatrices atteignent leur développement maximal en fin de cycle au cours de la première année. Lors de la seconde année la densité maximale est observée en début de cycle et l'amorce d'une remontée se manifeste en fin de cycle.

Ces résultats laissent supposer l'existence de deux pics de développement des Cyanobactéries fixatrices au cours du cycle végétatif du riz; un premier au tallage, caractérisé par la dominance d'*Anabaena* sp., et un second en fin de cycle avec dominance de *Cylindrospermum* sp. Un développement tardif et abondant de ce dernier genre a été également signalé dans les rizières du Sénégal (Reynaud et Roger, 1978 a).

VARIATIONS JOURNALIÈRES DE L'A.R.A.

Deux types de courbes (fig. 1) peuvent être distingués :

Courbes à deux pics, le premier en milieu de matinée et le second en milieu d'après-midi (fig. 1 a, 1 b). Ce

TABLEAU II

Observations et mesures faites sur la rizière au cours de deux cycles végétatifs du riz (1976, 1977).

Date	10-7-76		3-8-76	24-8-76		6-10-76	10-11-76	24-11-76	
Cyanobactéries Fixatrices (nb. g ⁻¹ sol sec)			4,1.10 ³	6,6.10 ⁵		2,2.10 ⁶		2,4.10 ⁵	
Espèces dominantes							Cylindro- spermum	Cylindro- spermum	
Age et stade de développe- ment du riz	0 j semis		23 j tallage	44 j tallage		86 j épiaison	120 j récolte		
Etat du sol	humide	humide	engorgé	engorgé	engorgé	humide	humide	sec	
ARA $\frac{\text{nmoles C}_2\text{H}_4}{\text{m}^2 \times \text{j}}$			567	468		564	1 335	94	
Date	30-6-77	14-7-77	26-7-77	16-8-77	1-9-77	13-9-77	29-9-77	12-10-77	18-10-77
Cyanobactéries totales (nb.g ⁻¹ sol sec)		3,2.10 ⁵	7,3.10 ⁵	9,3.10 ⁵	7,5.10 ⁵	3,3.10 ⁶	2,5.10 ⁶	4,5.10 ⁶	—
Cyanobactéries Fixatrices (nb.g ⁻¹ sol sec)		2,3.10 ⁴	5,7.10 ⁵	5,6.10 ⁵	6,6.10 ⁴	8,3.10 ⁴	1,6.10 ⁶	9,6.10 ⁵	—
Espèces dominantes		<i>Anabaena</i>	<i>Anabaena</i>	<i>Lyngbia Oscillatoria</i>	<i>Lyngbia Oscillatoria</i>	<i>Lyngbia Oscillatoria</i>	<i>Anabaena Cylindro- spermum</i>	<i>Cylindro- spermum</i>	<i>Cylindro- spermum</i>
Age et stade de développement du riz	0 j semis	14 j	26 j tallage	46 j tallage	60 j montaison	73 j épiaison	89 j	102 j récolte	
pH du sol		6,0	6,8	7,2	7,45	7,5	7,55	8,0	
Etat du sol	humide	humide	humide	engorgé	submergé	submergé	submergé	humide	sec
ARA $\frac{\text{nmoles C}_2\text{H}_4}{\text{m}^2 \times \text{j}}$	—	580	2 373	767	52*	654	669	749	—

type de courbe est caractéristique d'intensités lumineuses incidentes élevées et d'un couvert végétal moyen à faible. La température toujours inférieure à 36 °C ne semble pas être un facteur limitant.

Courbes en cloche avec un maximum généralement en milieu d'après-midi (fig. 1 c, 1 d). Ce type de courbe s'observe avec des intensités lumineuses incidentes moyennes à peu élevées et/ou un couvert végétal dense.

Des variations identiques de l'A.R.A. ont été observées au Maroc (Renaut et coll., 1975) et au Sénégal.

Elles sont à mettre en relation avec un effet inhibiteur des hautes intensités lumineuses sur les Cyanobactéries fixatrices de N₂ (Reynaud et Roger, 1978 a).

VARIATIONS DE L'A.R.A. AU COURS DES CYCLES CULTURAUX

Chaque valeur journalière de l'A.R.A. est calculée par intégration d'un cycle journalier, obtenu à partir de 8 mesures à dix répétitions.

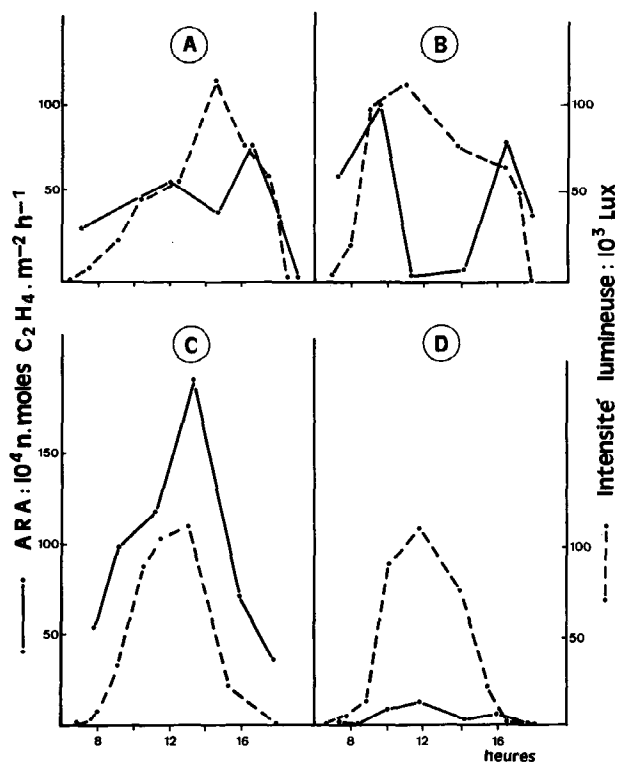


FIG. 1. — Variations journalières de l'A.R.A. et de l'intensité lumineuse incidente.

A : le 3.8.76, riz au tallage - sol engorgé. B : le 6.10.76, riz au début de l'épiaison sol humide. C : le 10.11.76, riz à maturité sol humide. D : le 24.11.76, riz récolté (chaumes en place) sol en voie de dessiccation.

Au cours de la première année l'A.R.A. reste relativement stable ($\approx 5 \cdot 10^6$ nmoles C_2H_4 $m^{-2} \cdot j^{-1}$) entre le tallage et la montaison puis augmente nettement en fin de cycle (fig. 2 a).

Au cours de la seconde année, l'A.R.A. maximale s'observe au début du tallage; en fin de cycle on constate une légère remontée (fig. 2 b).

La valeur très faible enregistrée le 1/9/1977 est due à une perturbation importante du biotope, à la suite de fortes précipitations la veille de la mesure. Ces résultats sont en accord avec ceux des dénombrements et, comme eux, laissent supposer l'existence de deux pics d'activité au cours du cycle.

L'extrapolation des valeurs de l'A.R.A. permet d'évaluer l'azote fixé au cours du cycle cultural : avec un facteur de correspondance éthylène-azote égal à 3, on trouve une fixation de $56 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ au cours de la première année et de $78 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$ au cours de la seconde.

Ces valeurs sont relativement élevées par rapport à celles trouvées jusqu'à présent en Afrique (Roger et Reynaud, 1977) par contre elles sont de l'ordre de grandeur des estimations faites en Asie (Watanabe et coll., 1977).

La cinétique du phénomène est en accord avec les observations de Watanabe (1975); par contre le développement précoce des Cyanobactéries au cours du cycle est en contradiction avec les observations faites au Sénégal, dans des conditions climatiques voisines. Cette précocité est à mettre en rapport avec l'existence de conditions favorables au développement des Cyanobactéries, dès le début du cycle, dans ce biotope :

— un pH élevé du sol et une teneur en phosphore élevée;

— un sol humide non submergé dans lequel les mécanismes physiques de protection des Cyanobactéries contre les hautes intensités lumineuses peuvent se manifester (Reynaud et Roger, 1978 b);

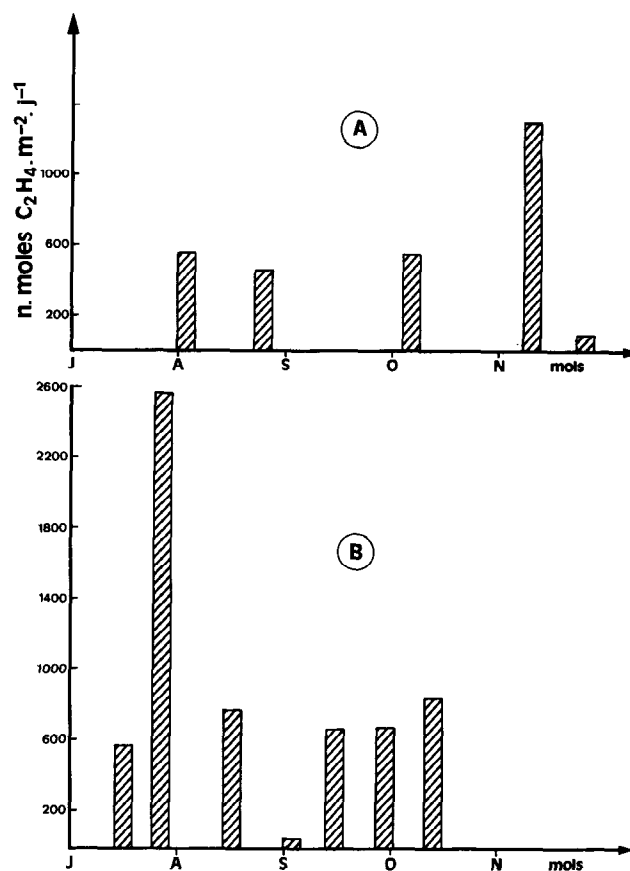


FIG. 2. — Variations de l'A.R.A. au cours du cycle cultural en 1976 (A) et 1977 (B).

- une absence totale de fertilisation azotée;
- la culture d'un riz de grande taille fournissant très rapidement un couvert végétal dense;
- une température optimale (26° - 35 °C).

Le haut niveau de fixation mesuré explique les rendements satisfaisants de cette parcelle (2-3 T/ha) en l'absence de fertilisation azotée.

Manuscrit reçu au Service des Publications de l'ORSTOM le 27 avril 1978.

BIBLIOGRAPHIE

- BALANDREAU (J.), DOMMERCUES (Y), 1971. — Mesure *in situ* de l'activité nitrogénasique. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 273 : 2020-2023.
- HORNE (A.J.T.), VINER (A.B.), 1971. — Nitrogen fixation and its significance in tropical lake George-Uganda. *Nature*, 232 : 417-418.
- RENAUT (J.), SASSON (A.), PEARSON (H.W.), STEWART (W.D.P.), 1975. — Nitrogen fixing algae in Morocco; In « Nitrogen fixation by free-living microorganisms », 229-246. Stewart éd. Cambridge University press. IBP, vol. 6.
- REYNAUD (P.A.), ROGER (P.A.), 1977. — Milieux sélectifs pour la numération des algues eucaryotes, procaryotes et fixatrices d'azote. *Rev. Ecol. Biol. Sol* (14) 3 : 421-428.
- REYNAUD (P.A.), ROGER (P.A.), 1978 a. — N₂ fixing algal biomass in Senegal rice fields. Proc. Int. Symp. « Environmental role of N₂ fixing blue-green algae and asymbiotic bacteria ». (Uppsala 20-24 septembre 1976), *Ecol. Bull.* (Stockholm), 26 : 148-157.
- REYNAUD (P.A.), ROGER (P.A.), 1978 b. — Vertical distribution of algae and acetylene reducing activity in an algal mat on a sandy waterlogged tropical soil. C. R. « Int. Symp. on the limitations and potentials of biological N₂ Fixation in the tropics ». Brasilia. July 18-22 1977 (J. Dobereiner ed.).
- ROGER (P.A.), REYNAUD (P.A.), 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.A.), REYNAUD (P.A.), 1977. — La biomasse algale dans les rizières du Sénégal; importance relative des Cyanophycées fixatrices de N₂. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 14 (4) : 519-530.
- TAHA (M.S.), 1963. — On the nitrogen fixation by Egyptian blue-green algae. *Z. Allg. Mikrobiol.*, 3 : 382-388.
- TRAORE (K.), SASSON (A.), RENAUT (J.), 1975. — Contribution à l'étude floristique des Cyanophytes du Mali. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, 12 (3) : 567-578.
- TRAORE (T.), REYNAUD (P.), ROGER (P.), 1977. — Note sur le réemploi d'un même échantillon pour les mesures journalières de réduction de l'acétylène par les Cyanophycées. *Cah. ORSTOM, sér. Biol.*, vol. XII n° 2 : 141-144.
- VENKATARAMAN (G.S.), 1972. — Algal biofertilizers and rice cultivation. Today and Tomorrow's Print. and Pub., pp. 75. 22 B/5 Original Road. Karol Bagh. New Delhi. 5.
- WATANABE (I.), 1975. — Non-symbiotic nitrogen fixation in rice and rice paddies; In : « Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics (Ayanaba, A. and Dart, P., eds) (J. Wiley, pub.).
- WATANABE (I.), LEE (K.K.), ALIMAGNO (B.V.), SATO (M.), DEL ROSARIO (D.C.), GUZMAN (M.R. de), 1977. — Biological nitrogen fixation in paddy field studied by *in situ* acetylene-reduction assays. IRRI Research paper series n° 3, 1.1977, 16 p.