

Cyanobactéries et riziculture

par Pierre A. ROGER

Antenne ORSTOM, International Rice research Institute,
PoBox 933, Manille, Philippines

Résumé.— Les cyanobactéries fixatrices d'azote sont ubiquistes dans les sols propres à la riziculture. Leur abondance augmente avec le pH et la teneur en phosphore assimilable des sols. Les deux principaux facteurs de l'environnement gouvernant leur développement sont l'intensité lumineuse, en relation avec les variations climatiques saisonnières, et la prédation par les invertébrés aquatiques. Parmi les facteurs culturaux, l'épandage d'engrais azoté à la surface du sol est inhibiteur et celui d'engrais phosphaté bénéfique.

Le potentiel agronomique des cyanobactéries fixatrices d'azote est de l'ordre de 30 kg N.ha⁻¹ par cycle cultural ; on ne peut donc obtenir de rendements élevés en riz par leur seule utilisation. Ce potentiel modéré peut être exploité soit pour augmenter les rendements de quelques centaines de kilogrammes par hectare dans des systèmes rizicoles à faibles intrants et faible productivité, soit comme composant de la fertilisation azotée dans des systèmes à moyenne ou forte productivité.

Actuellement, la seule technologie offerte aux riziculteurs est une méthode d'inoculation dont l'adoption est négligeable. Le principe même de l'inoculation est à revoir à la lumière d'études récentes qui montrent, d'une part, que les souches autochtones fixatrices de N₂ sont présentes dans les sols propres à la riziculture à des densités le plus souvent largement supérieures à celles des propagules apportées par un inoculum, et d'autre part, que les souches non autochtones ne s'établissent que rarement dans les sols inoculés.

Depuis plus de trente ans, les recherches sur l'inoculation pratique des cyanobactéries en riziculture ont mis l'accent sur l'inoculation de souches sélectionnées *in vitro*. Ces recherches gagneraient à être orientées sur l'étude des pratiques culturales qui favorisent le développement des souches autochtones. Au moins trois techniques semblent utilisables, séparément ou en association : 1/ l'enfouissement de l'engrais azoté et l'application en surface de l'engrais phosphaté ; 2/ le contrôle des populations de prédateurs par des pesticides bon marché, d'origine végétale ; 3/ l'inoculation avec des souches autochtones. Les expériences *in situ* évaluant l'effet de ces pratiques culturales sur la biomasse photosynthétique fixatrice de N₂ et son activité sont encore trop peu nombreuses pour que l'on puisse tirer des conclusions définitives sur les méthodes d'utilisation des cyanobactéries en riziculture et leur valeur économique.

Summary.— N₂-fixing cyanobacteria are ubiquitous in suitable fields for rice culture. Their abundance increases with PH and assimilable phosphorous soil content. The two main environmental factors governing their growth are light intensity in relation with seasonal climatic variations, and grazing by aquatic invertebrates. Among cultural factors, nitrogen fertilizers are inhibitory, while phosphate compounds are beneficial.

Agronomic potential of N₂-fixing cyanobacteria is about 30 kg N.ha⁻¹ for a cultural cycle. This is not sufficient to obtain high rice yields. Nevertheless, this moderate potential can be used to increase yields in rice fields with weak productivity, or as a part of nitrogen fertilization in systems with medium to high productivity.

At this time, the only possible technology is an inoculation method very rarely used. But it has been clearly shown in recent studies that indigenous N₂-fixing strains are found in potential rice fields at densities largely above those brought up by inoculation, and that non-indigenous strains generally do not persist in inoculated soils.

Since more than thirty years, researches on practical utilization of cyanobacteria in rice culture have been directed towards *in vitro* selected strains. Attention should therefore be given to agricultural practices that

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 30.885 ex 1

Cote : B 11 p20

07 NOV. 1990

enhance the growth of indigenous strains. Three techniques seem to be used, separately or associated : 1/ burying of nitrogen fertilizer, and application at the field surface of phosphate compounds ; 2/ control of grazing populations by low cost pesticides from vegetal origin and, 3/ inoculation with indigenous. *In situ* experiments for quantification of N_2 -fixing photosynthetic biomasses, and measurements of their activities, are not so numerous to give definitive conclusions about cyanobacterial utilization in rice field culture and its economic value.

Key words : cyanobacteria - nitrogen fixation - rice culture - inoculation.

*
* *

INTRODUCTION

Les cyanobactéries possèdent, entant que microorganismes procaryotes photosynthétiques fixateurs d'azote, une indépendance trophique qui leur confère un intérêt certain comme source d'azote dans les écosystèmes naturels et cultivés. En particulier, les rizières tropicales constituent un environnement favorable à leur développement (Watanabe et Roger, 1984).

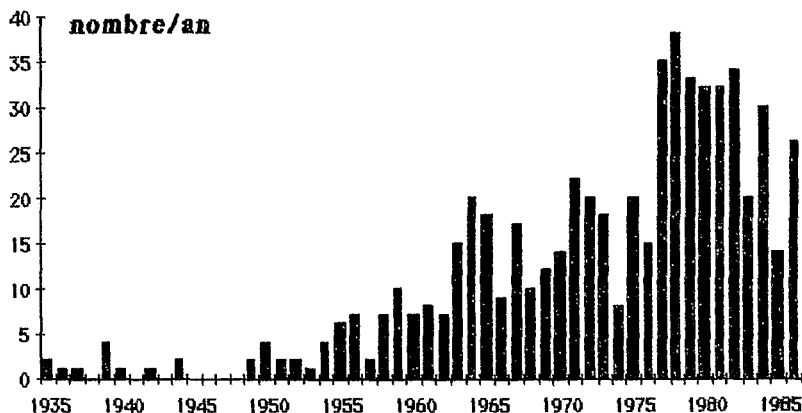


Fig. 1.- Evolution annuelle du nombre d'articles sur les cyanobactéries et la riziculture depuis 1935

La possibilité d'utiliser les cyanobactéries comme source d'azote en riziculture a été mentionnée il y a maintenant 50 ans (De, 1936). Depuis, plus de 600 articles scientifiques ou de vulgarisation ont été publiés sur ce sujet (Fig. 1). Cet intérêt s'explique en grande partie par les caractéristiques économiques de la riziculture. Le riz est la troisième céréale mondiale en termes de volume de production (260×10^6 t/an), mais la première en termes de consommation humaine. Il constitue la base du régime alimentaire de près de la moitié de la population mondiale. Par contre, moins de 10 % de la production rizicole mondiale est commercialisée sur le marché international. Le riz, cultivé principalement dans des pays où le rapport entre le prix du kilo de riz et celui du kilo d'engrais est très bas, n'est généralement pas une culture de rapport. Cela explique que plus de 65 % des rizières ne reçoivent pas d'engrais azoté et que la recherche de sources azotées bon marché soit une préoccupation constante des pays rizicoles. L'utilisation d'engrais verts fixateurs d'azote, connue depuis fort longtemps en riziculture, est limitée entre autres, par des problèmes d'occupation des sols et d'enfouissement

(Roger et Watanabe, 1986). l'idée de n'avoir qu'à appliquer un inoculum de cyanobactéries pour bénéficier d'un apport d'azote quasiment gratuit grâce à sa fixation biologique est évidemment très attrayante et explique le succès de ce sujet de recherche dans les pays rizicoles.

Cet article résume les résultats récents obtenus principalement à l'Internationale Rice Research Institute (IRRI), en abordant successivement : les aspects majeurs de l'écologie des cyanobactéries dans les rizières submergées, l'évaluation de leur potentiel comme source d'azote, la disponibilité de cet azote pour le riz et les pratiques culturales favorisant leur développement.

ECOLOGIE DES CYANOBACTERIES DANS LES RIZIERES SUBMERGEES

Présence et abondance dans les sols de rizières

Une étude quantitative de la flore algale dans plus de 200 sols de rizières de l'Inde, de Madagascar, de Malaisie, des Philippines, de Thaïlande, du Portugal et du Sénégal a permis d'estimer les populations d'algues et de cyanobactéries dans un échantillon représentatif des différents types de sol de rizières (Roger et coll., 1985a, 1987b).

Des Cyanobactéries hétérocystées ont été trouvées dans tous les sols étudiés. Leur densité varie entre 10^2 et 8×10^6 propagules/cm² dans le premier centimètre du sol (médiane : 6×10^4). Elles constituent en moyenne 9 % des algues totales estimées sur milieu BG11 avec azote (Rippka et coll., 1979). Leur abondance montre des corrélations positives avec le pH et la teneur en phosphore assimilable des sols (Tableau 1). La corrélation avec le pH est maximale pour les pH inférieurs à 6 (Fig. 2). *Nostoc*, *Anabaena* et *Calothrix* (définis suivant Rippka et coll., 1979) sont présents dans 60 % ou plus des sols étudiés. *Nostoc* est dominant dans la majorité des sols (Tableau 2). Les résultats indiquent également qu'il n'existe que peu de spécificité de l'environnement pour les cyanobactéries des sols de rizières.

Tableau 1.- Corrélations entre les propriétés physicochimiques du sol et l'abondance des cyanobactéries hétérocystées dans 102 sols de rizière^a (coefficient de Pearson) (d'après Roger et coll., 1987b).

	N	C : N	P	CEC	pH	Tot ^b	Hcy. ^c	Tot./Hcy.
Carbone	++	ns	ns	ns	ns	++	ns	++
Azote		ns	ns	ns	ns	++	ns	+
C : N			--	ns	ns	ns	-	+
P assimilable (Olsen)				ns	ns	ns	++	ns
CEC					++	ns	++	ns
pH						ns	++	--

^a : +, ++ : corrélations positives significatives respectivement à 5 et 1 %.

--, - : corrélations négatives significatives respectivement à 5 et 1 %.

^b : Tot. = algues totales. ^c : Hcy. = cyanobactéries hétérocystées.

Un certain nombre d'études écologiques antérieures à 1980, principalement des études qualitatives, ont conclu à l'absence de cyanobactéries hétérocystées dans un pourcentage parfois élevé des sols de rizière (Watanabe et Yamamoto, 1971 ; Venkataraman, 1975). Nos résultats montrent au contraire une ubiquité des formes hétérocystées dans les sols propres à la riziculture.

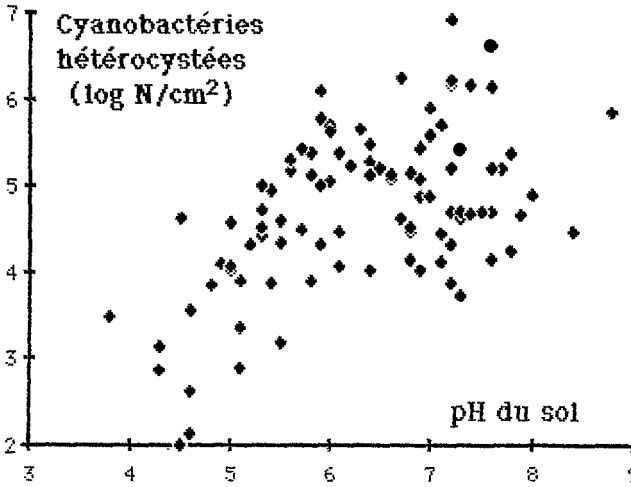


Fig. 2.- Abondance des cyanobactéries hétérocystées dans 102 sols de rizières en fonction du pH du sol (d'après Roger et coll., 1987b).

Tableau 2.- Abondance relative des principaux taxa de cyanobactéries hétérocystées dans 102 sols de rizières de cinq pays rizicoles^a (d'après Roger et coll., 1987b).

Taxon	Abondance relative (%)	% des sols où le taxon est			
		dominant	2ème dominant	présent non dominant	présent (total)
Unicellulaire	18,5	18	13	22	53
<i>Anabaena</i>	8,5	5	29	44	78
<i>Nostoc</i>	61,6	74	22	3	99
<i>Scytonema</i>	0,4	0	1	13	14
<i>Calothrix</i>	6,8	3	22	35	60
<i>Gloeotrichia</i>	0,3	0	1	21	22
<i>Fischerella</i>	2,9	0	11	30	41

^a (Philippines, Inde, Malaisie, Thaïlande, Portugal)

Principaux facteurs de l'environnement

En climat tropical, les successions algales dans les rizières sont gouvernées principalement par l'intensité lumineuse en relation avec la saison, des effets d'antagonisme, de compétition et de prédation, et la fertilisation des sols (Roger et Kulasooriya, 1980).

Intensité lumineuse en relation avec la saison

Les premières études quantitatives *in situ* de l'écologie des cyanobactéries des rizières ont été effectuées au Sénégal (Roger et Reynaud, 1977). Ces études ont conclu à un effet inhibiteur des hautes intensités lumineuses sur le développement et l'activité fixatrices des cyanobactéries (Reynaud et Roger, 1978). Toutefois, les conditions climatiques de l'ouest africain sont fort différentes de celles rencontrées dans la majorité des pays rizicoles où l'on observe souvent l'alternance d'une saison humide, avec un niveau de précipitation moyen ou élevé (mousson), et d'une saison sèche avec un niveau de précipitation faible ou moyen. En Asie, l'intensité lumineuse durant la saison des pluies est généralement très faible sous le couvert végétal et limite le développement des cyanobactéries fixatrices de N₂.

Les pluies abondantes ont également un effet défavorable en provoquant des changements brutaux du pH et en augmentant la turbidité de l'eau de submersion. Le développement de fleurs d'eau à cyanobactéries fixatrices de N_2 est nettement plus fréquent durant la saison sèche. D'une manière générale, l'activité fixatrice de N_2 photodépendante dans les rizières tropicales est plus souvent limitée par des intensités lumineuses faibles que par des intensités lumineuses excessives.

Prédation

Les cyanobactéries constituent une source nutritionnelle pour de nombreux invertébrés aquatiques. Les prédateurs les plus fréquemment observés dans les rizières sont des ostracodes et des gastéropodes (Roger et Kulasoorya, 1980 ; Wilson et coll., 1980b ; Roger et coll., 1985a ; Grant et coll., 1986). Les populations de gastéropodes du genre *Limnea* peuvent atteindre des densités de l'ordre de 2000 individus/m² (Grant et coll., 1985) et des biomasses supérieures à 2t/ha⁻¹ de poids frais (Roger et Kulasoorya, 1980). Les populations d'ostracodes du genre *Cypris* peuvent atteindre des densités de l'ordre de 15000 individus/m² (Grant et coll., 1985).

Les cyanobactéries formant des colonies mucilagineuses de forme définie (*Nostoc*, *Gloetrichia*, *Aphanothece*, ...) sont plus résistantes à la prédation que les genres non coloniaux (*Anabaena*, *Tolypothrix*, ...). Cela explique partiellement leur dominance dans les rizières ainsi que certains aspects de la dynamique des populations de cyanobactéries au cours du cycle cultural. En Asie, dans les rizières non fertilisées, on observe fréquemment, en début de cycle cultural, le développement d'une fleur d'eau à *Anabaena sp.* qui présente une activité fixatrice de N_2 élevée pouvant atteindre 2 kg N/ha⁻¹ par jour. Cette fleur d'eau apparaît et disparaît en l'espace de quelques jours par suite du développement rapide des ostracodes. Quelques semaines plus tard, une seconde fleur d'eau fixatrice de N_2 , composée de colonies mucilagineuses de *Nostoc*, *Gloetrichia* et *Aphanothece*, dans des proportions variables, s'établit et peut persister jusqu'à la fin du cycle. Cette fleur d'eau a une productivité et une activité fixatrice de N_2 faibles (Roger et coll., 1985b ; Grant et coll., 1985). Ainsi, l'activité des prédateurs favorise l'établissement de souches mucilagineuses peu efficaces sur le plan agronomique.

Tableau 3.- Composition d'échantillons de cyanobactéries hétérocystées cultivées ou récoltées *in situ* (d'après Roger et coll., 1986)

	Cultures			Echantillons <i>in situ</i>		
	Moyenne	Minimum	Maximum	Moyenne	Minimum	Maximum
Matière sèche (% poids frais)	3,8	0,3	14,0	4,0	0,9	7,0
Cendres (% ps)	7,0	5,6	11,8	45	26,7	71,3
Azote (% ps sans cendres)	6,0	1,9	11,8	5,1	3,8	7,4
Carbone (% ps sans cendres)	45,1	34,3	72,0	41,2	36,6	45,4
C/N	7,0	4,8	13,0	7,7	5,3	11,6
Phosphore (% ps sans cendres)	0,7	0,2	2,0	0,2	0,05	0,39

ps = poids sec

Fertilisation des sols

L'épandage d'engrais azoté a un effet inhibiteur sur le développement et l'activité des cyanobactéries fixatrices de N_2 , mis en évidence par des comptages de populations (Roger et coll., 1984) et des mesures sur l'activité fixatrice de N_2 photodépendante (Roger et coll., 1980).

La fertilisation phosphatée est connue pour favoriser le développement des cyanobactéries fixatrices de N_2 (Roger et Kulasooriya, 1980).

COMPOSITION ET PRODUCTIVITE DES CYANOBACTERIES DANS LES RIZIERES SUBMERGEES

Composition des cyanobactéries fixatrices de N_2

L'analyse de 70 échantillons de cyanobactéries hétérocystées cultivées ou récoltées *in situ* (Roger et coll., 1986), a montré que :

- leur composition est plus influencée par l'état physiologique de la souche que par sa position taxonomique ;
- les échantillons naturels ont des teneurs très élevées en cendre et sont déficitaires en phosphore (Tableau 3) ;
- la teneur en azote montre une corrélation positive avec la teneur en phosphore (Fig. 3). cette dernière est faible dans les échantillons prélevés *in situ*, ce qui confirme que le phosphore est un facteur prépondérant de la productivité des cyanobactéries dans les rizières ;
- la grande variabilité des teneurs en matière sèche et en cendres (Tableau 3) rend le poids frais ou sec d'une biomasse de cyanobactéries peu indicatif de sa valeur agronomique, due principalement à l'azote qu'elle contient.

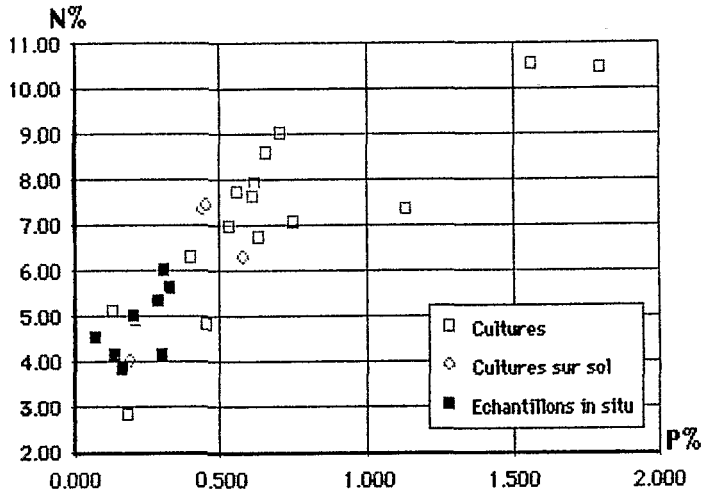


Fig. 3.- Comparaison de la teneur en azote et en phosphore de cultures et d'échantillons de cyanobactéries prélevés *in situ*. (d'après Roger et coll., 1986)

Productivité et potentiel agronomique

Trois méthodes permettent d'estimer de façon indirecte le potentiel (kg N/ha⁻¹ par cycle cultural) des cyanobactéries fixatrices de N₂ dans les rizières submergées : les mesures de l'activité fixatrice de N₂, les mesures de biomasse et les expériences d'inoculation.

Mesure de la fixation de N₂

La méthode la plus fréquemment utilisée a été la méthode de réduction de l'acétylène qui est cependant connue pour son imprécision, le rapport entre l'acétylène et l'azote réduits pouvant varier dans de larges limites. Les valeurs estimées sont comprises entre 0 et 80 kg N/ha⁻¹ par cycle cultural. La moyenne de 38 valeurs publiées par différents auteurs est de 27 kg/ha⁻¹ d'azote par cycle cultural (Roger et Kulasooriya, 1980).

Mesures de biomasse

La biomasse aquatique photosynthétique présente dans les rizières varie entre quelques kilogrammes et quelques centaines de kg/ha⁻¹ de poids sec. Celle des cyanobactéries hétérocystées varie dans les mêmes limites (Roger, 1986). La valeur moyenne de 350 kg de poids sec (Tableau 4) et une teneur moyenne en azote de l'ordre de 3 % du poids sec avec cendres correspondent à environ 10 kg N/ha⁻¹. L'étude de fleurs d'eau produites en microparcelles ou récoltées *in situ* et de croûtes algales prélevées dans des rizières asséchées a confirmé cette extrapolation en montrant que, dans la majorité des cas, la biomasse des cyanobactéries hétérocystées correspond à moins de 10 kg N/ha⁻¹. Une fleur d'eau particulièrement dense peut correspondre à 10-20 kg N/ha⁻¹ (Roger et coll., 1985b). Des valeurs supérieures (20-45 kg N/ha⁻¹) ont été mesurées uniquement dans des conditions

Tableau 4.- Estimations de la biomasse photosynthétique aquatique dans des rizières (kg/ha⁻¹)
(D'après Roger, 1986)

Nature	Poids frais	Poids sec	Pays	Référence
<i>Aulosira sp.</i>	12000 ^a	480	Inde	Singh, 1976 ^c
<i>Gloeotrichia sp.</i>	24000	117	Philippines	Watanabe et coll., 1977 ^c
Cyanobactéries	7500	375 ^a	Chine	Acad. Sinica... 1958 ^c
Cyanobactéries	800 ^a	32	Inde	Mahapatra et coll., 1971 ^c
Cyanobactéries	2/2300	0/92 ^a	Sénégal	Reynaud et Roger, 1978 ^c
Cyanobactéries	50/2850 ^a	2/114	Philippines	Saito et Watanabe, 1978 ^c
Cyanobactéries	125/2625 ^a	5/105	Inde	Srinivasan, 1979 ^c
Algues vertes	60/6000 ^a	3/300	Inde	Mahapatra et coll., 1971 ^c
Biomasse algale	16000	640 ^a	URSS	Muzafarov, 1953 ^c
Biomasse algale	2/6000	0/240 ^a	Sénégal	Reynaud et Roger, 1978 ^c
<i>Chara sp.</i>	9000/15000	720/1200 ^b	Inde	Misra et coll., 1976 ^d
<i>Chara, Nitella</i>	5000/10000	400/800 ^b	Inde	Mukherjy et Laha, 1969 ^d
<i>Najas, Chara</i>	5000b	400	Philippines	Saito et Watanabe, 1978 ^d
<i>Chara spp.</i>	2500/7500 ^b	200/600	France	Vaquer, 1984 ^d
<i>Marsilea</i>	25000	2000 ^b	Inde	Srinivasan, 1982 ^d
Biomasse totale				
jachère	1000/3000	80/240 ^b	Philippines	Kulasooriya et coll., 1981 ^d
rizière plantée	7500	600 ^b	Philippines	Kulasooriya et coll., 1981 ^d
jachère	1250/2500 ^b	100/200	Philippines	Inubushi et Watanabe
rizière plantée	1250/6250 ^b	100/500	Philippines	(sous presse)
Moyenne	6000	350		

^a : extrapolé sur la base de 4 % de matière sèche ; ^b : extrapolé sur la base de 8 % de matière sèche ; ^c : cité par Roger et Kulasooriya, 1980 ; ^d : cité par Roger et Watanabe, 1984. (d'après Roger, 1986).

artificielles telles que des microparcelles expérimentales ou des parcelles qui servent à la production d'inoculum et reçoivent des apports d'engrais phosphaté très élevés et des insecticides (Roger et coll., 1985a).

Etant donné qu'au cours d'un cycle cultural on observe rarement le développement de plus de deux fleurs d'eau, 20-30 kg N/ha⁻¹ par cycle cultural constitue une estimation raisonnable du potentiel des cyanobactéries.

La mesure de l'azote accumulé à la surface du sol au cours d'un cycle cultural (26 kg N/ha⁻¹) confirme cette estimation (Ono et Koga, 1984).

Expériences d'inoculation

Les expériences *in situ* montrent, lorsque l'inoculation est efficace, une augmentation de rendement de l'ordre de 450 kg/ha⁻¹ (Tableau 5), correspondant à l'application de 20-30 kg/ha⁻¹ d'engrais azoté (Roger et Kulasooriya, 1980).

Tableau 5.- Synthèse des expériences d'inoculation publiées avant 1980 (44 articles)
(d'après Roger et Kulasooriya, 1980)

Protocole expérimental	Nombre de données	Augmentation de rendement	
		(kg/ha ⁻¹)	(%)
Expériences en pot	64	-	42
Expériences <i>in situ</i>	102	475	14,5
sans engrais azoté	39	442	15
avec engrais azoté	44	488	14

Les méthodes d'estimation du potentiel azoté des cyanobactéries en riziculture sont indirectes et imprécises. Toutefois, les résultats convergent vers une valeur de l'ordre 30 kg N/ha⁻¹ par cycle cultural qui indique un potentiel modéré par comparaison avec celui d'*Azolla* ou des légumineuses utilisées en engrais vert (Roger et Watanabe, 1986).

RELATIONS ENTRE LES CYANOBACTERIES ET LE RIZ

Utilisation de l'azote des cyanobactéries par le riz

Les études avec des cultures marquées à ¹⁵N₂ ont montré que le pourcentage de l'azote des cyanobactéries retrouvé dans la plante, varie entre 13 et 50 %, en fonction de la nature du matériel algal (frais ou sec), des méthodes d'application (incorporation ou épandage) et de la présence ou de l'absence de population d'invertébrés dans le sol (Tableau 6). Le pourcentage le plus élevé a été obtenu avec du matériel frais incorporé dans un sol dans lequel il n'y avait pas d'invertébrés (Wilson et coll., 1980a). Le pourcentage le plus bas a été obtenu avec du matériel sec épandu à la surface d'un sol riche en tubificides (*Oligochaetes*) (Tiról et coll., 1982). Grant et Seegers (1985) ont montré que l'activité des tubificides réduisait le pourcentage de l'azote algal absorbé par le riz par suite d'une augmentation de la minéralisation de l'azote de la matière organique du sol.

Le rapport C/N des cyanobactéries étant faible (Roger et coll., 1986), leur azote est plus facilement minéralisé et absorbé que celui des macrophytes aquatiques. L'enfouissement favorise la minéralisation (Tableau 6).

Tableau 6.- Utilisation par le riz de l'azote de cyanobactéries et de plantes aquatiques appliquées à la surface du sol ou enfouies. (d'après Roger, 1986)

Matériel étudié		Faune ^a	Dispositif	N absorbé (%)		Références
Nature	Etat			Surf. incorp.		
Cyanobactéries	Frais	?	pot	37	52	Wilson et coll., 1980 ^a
Cyanobactéries	sec	-	pot	14	28	Tirol et coll., 1982
Cyanobactéries	sec	+	<i>in situ</i>	23	23	Tirol et coll., 1982
Cyanobactéries	frais	-	pot	-	38	Tirol et coll., 1982
Cyanobactéries	frais	-	pot	24	44	Grant et Seegers, 1985 ^a
Cyanobactéries	frais	+	pot	25	30	Grant et Seegers, 1985 ^a
Cyanobactéries	sec	-	pot	-	35-40	Mian et Stewart, 1985
Moyenne				25	36	
<i>Eichhornia sp.</i>	frais	+	<i>in situ</i>	-	25	Shi et coll., 1980
<i>Azolla pinnata</i>	frais	+	<i>in situ</i>	-	26	Watanabe et coll., 1981
<i>A. caroliniana</i>	frais	+	<i>in situ</i>	12/14	26	Ito et Watanabe, 1985
<i>A. caroliniana</i>	sec	?	pot	-	34	Mian et Stewart, 1985
<i>A. caroliniana</i>	frais	+	<i>in situ</i>	-	32	Kumarasinghe et coll., 1986
Moyenne				13	29	

^a : + : présente dans le sol. - : absente du sol utilisé

Epiphytisme

La présence de cyanobactéries épiphytes a été rapportée sur le riz irrigué (Roger et coll., 1981), le riz d'eau profonde (Kulasooriya et coll., 1980) et les adventices des rizières (Kulasooriya et coll., 1981). Les études ont montré l'existence -1/ d'un "macro épiphytisme" visible à l'œil nu, dû principalement à des colonies de *Gloeotrichia* spp. et 2/ d'un "micro-épithytisme" visible uniquement en microscopie et dû principalement à *Nostoc* spp. et *Anabaena* spp. La comparaison des hôtes indique que c'est uniquement dans le cas du riz d'eau profonde dont les racines aquatiques nodales sont fréquemment couvertes d'algues épiphytes, que la distribution des cyanobactéries en termes de kg N/ha⁻¹ est significative sur le plan agronomique (10-20 kg N/ha⁻¹ par cycle cultural). Ceci est dû à l'importance de la biomasse submergée du riz d'eau profonde qui offre une surface importante à la colonisation des cyanobactéries épiphytes. Des études à l'¹⁵N₂ ont montré qu'environ 40 % de l'azote fixé par les cyanobactéries épiphytes se retrouvaient dans les parties aériennes du riz d'eau profonde au moment de la maturité (Watanabe et coll., 1982).

Substances de croissance

De nombreux articles ont présenté des expériences *in vitro* en pots tendant à démontrer l'existence d'effets auxiniques des cyanobactéries sur les plantules de riz (cf. Roger et Kulasooriya, 1980). Toutefois, l'étude des dispositifs montre que les plantes témoins sont significativement affectées par les artefacts expérimentaux. Ces expériences démontrent généralement un effet bénéfique d'extraits de cyanobactéries par comparaison avec un témoin déficient. L'existence d'effets auxiniques dus à des cyanobactéries n'a pas encore été démontrée dans des expériences *in situ*.

UTILISATION DES CYANOBACTERIES EN RIZICULTURE

Situation actuelle de l'utilisation en milieu paysan

Les recherches sur l'inoculation des rizières avec des cyanobactéries ont débuté dans les années 1950 au Japon où elles sont maintenant abondantes. Elles continuent actuellement en Inde, en Egypte et en Birmanie. Dans ces trois pays, une technique d'inoculation algale a commencé à être vulgarisée. L'inoculation consiste en un mélange de souches des genres *Aulosira*, *Tolypothrix*, *Scytonema*, *Nostoc*, *Anabaena* et *Plectonema* qui est fourni aux riziculteurs sous forme de croûtes algales pulvérisées. Cet inoculum est produit dans des parcelles de quelques dizaines de mètres carrés, en utilisant 100 g/m² d'engrais phosphaté et des insecticides qui empêchent le développement des populations d'invertébrés prédateurs des cyanobactéries. En l'espace de 2 à 3 semaines, la surface de l'eau de submersion se recouvre d'une fleur d'eau à cyanobactéries. L'irrigation est alors interrompue et on laisse les microparcelles se dessécher. Les croûtes algales qui se forment sont récoltées et pulvérisées. La méthode recommande l'épandage de 10 kg/ha⁻¹ d'inoculum sec quelques jours après le repiquage du riz (Venkataraman, 1981).

Cette technologie est toutefois utilisée au hasard. En effet, les connaissances actuelles sur l'écologie des cyanobactéries ne permettent pas d'identifier les agro-systèmes où l'inoculation algale a un fort pourcentage de chances d'être efficace et ceux où elle est inutile ou a peu de chances de succès (Watanabe et Roger, 1985). En se fondant sur le fait que le coût de l'inoculation algale est pratiquement négligeable, les services de vulgarisation la recommandent sans en garantir le résultat.

Il est évident qu'une telle technologie a peu d'attraits pour les riziculteurs, même ceux qui pratiquent une riziculture autarciques à faibles intrants monétaires. Les estimations de la superficie des rizières inoculées avec des cyanobactéries sont assez contradictoires (Roger et Watanabe, 1986). Les estimations les plus optimistes sont inférieures à 10⁶ha, soit moins de 1 % de la surface rizicole mondiale.

L'inoculation et ses énigmes

Dans la quasi totalité des expériences d'inoculation *in situ* publiées avant 1985, la seule variable mesurée a été le rendement en riz. Ces expériences ne donnent pas d'information sur l'établissement des souches inoculées ni sur l'activité et la dynamique de la biomasse fixatrice dans la rizière au cours du cycle cultural. Il n'est donc pas possible d'interpréter les augmentations de rendements observés. Il convient également de réaliser que les résultats d'expériences n'ayant pas montré d'augmentation de rendement ne sont généralement pas publiés.

Les augmentations de rendement rapportées dans la bibliographie ont été le plus souvent attribuées à l'activité fixatrice d'azote des cyanobactéries sans que cette hypothèse soit vérifiée expérimentalement. Les résultats des études écologiques et agronomiques récentes n'apportent pas les explications attendues aux résultats des expériences d'inoculation antérieure et mettent en évidence un certain nombre de faits contradictoires.

Abondance relative des cyanobactéries indigènes et inoculées

L'inoculation des rizières a été recommandée en partie sur la base des

études concluant à l'absence de cyanobactéries hétérocystées dans un pourcentage parfois élevé des sols de rizière. Les résultats récents montrent l'ubiquité des formes hétérocystées dans les sols propres à la riziculture.

L'étude de la composition d'inocula produits sur sol en Inde, en Egypte, en Birmanie et à l'IRRI, a montré que leurs densités en cyanobactéries hétérocystées varient entre 1×10^5 et $3 \times 10^7/g^{-1}$ (poids sec). Ces dernières constituent en moyenne 6 % de la population d'algues totales des inocula. Lorsque l'on met en rapport les résultats concernant l'abondance des cyanobactéries hétérocystées dans les sols de rizières et dans les inocula, il apparaît que le nombre de propagules de cyanobactéries hétérocystées présentes dans la quantité d'inoculum qu'il est recommandé d'appliquer (10 kg/ha^{-1}), est en moyenne 100 fois inférieur à celui des cyanobactéries hétérocystées autochtones dans le premier centimètre de sol (Roger et coll., sous presse).

Etablissement des souches inoculées

Des expériences en microparcelles de sol placées dans une serre ont montré que les souches étrangères de cyanobactéries hétérocystées inoculées dans cinq sols de rizière submergés, ne devenaient que très rarement dominantes. Dans un cas sur 10, lorsque le développement des invertébrés prédateurs des algues était empêché par l'addition d'insecticides d'origine végétale, une souche inoculée (*Aulosira fertilissima*) a donné naissance à une fleur d'eau. Dans les autres cas, la formation des fleurs d'eau était due à des souches autochtones (Reddy et Roger, sous presse).

Un essai d'inoculation algale conduit pendant trois années consécutives dans la ferme expérimentale de l'IRRI a combiné l'étude de l'inoculation algale et du contrôle des populations d'invertébrés prédateurs des algues (zooplancton et mollusques). Lors des deux premiers cycles (Grant et coll., 1985), les souches étrangères inoculées ne se sont pas établies. Par contre, le contrôle des prédateurs a permis l'établissement de fleurs d'eau de souches fixatrices autochtones et une augmentation significative de l'activité fixatrice de N_2 . Lors du troisième cycle cultural (Roger et coll., 1985b), l'application d'un inoculum sec de souches autochtones prélevé l'année précédente dans les mêmes parcelles a montré que l'inoculation de souches autochtones favorisait le développement de la biomasse fixatrice de N_2 .

Une deuxième série d'expériences, initiées en 1985, indique un effet modéré de l'épandage d'un inoculum produit à partir du sol destiné à être inoculé lorsque l'inoculation est combinée avec des pratiques culturales aptes à favoriser le développement des cyanobactéries (Reddy et Roger, non publié).

Inoculation en présence de fertilisation azotée

Les expériences d'inoculation publiées avant 1980 (Tableau 5) ne montrent pas d'influence significative de la fertilisation azotée sur les effets de l'inoculation alors que les études récentes de l'activité fixatrice *in situ* montrent un effet inhibiteur quasiment total de l'application d'engrais azoté sur la fixation photodépendante de l'azote (Roger et coll., 1980, 1984).

Les augmentations de rendement observées en présence d'engrais azoté dans des parcelles inoculées ont parfois été attribuées à la production de substances de croissance par les cyanobactéries. Toutefois, aucune expérience *in situ* n'a encore démontré cette hypothèse.

Une autre explication possible qui, elle aussi, reste à démontrer, serait que l'inoculation des rizières avec un matériel contenant près de 90 % d'algues non fixatrices de N_2 favoriserait le développement de la biomasse algale totale. Cette dernière peut immobiliser jusqu'à 30 % de l'engrais azoté et diminuer les pertes d'azote par volatilisation qui peuvent atteindre près de 50 % de l'engrais épandu à la surface du sol (Fillery et coll., 1986).

Méthodes d'utilisation autres que l'inoculation

Plusieurs techniques sont utilisables, séparément ou en association : l'enfouissement de l'engrais azoté, l'application en surface de l'engrais phosphaté et le contrôle des populations de prédateurs par des pesticides bon marché, d'origine végétale.

Placement en profondeur de l'engrais azoté

Les cyanobactéries fixatrices de N_2 sont des organismes peu compétitifs qui sont inhibés et supplantés par une flore eucaryote non fixatrice de N_2 lorsque l'engrais azoté est épandu à la surface du sol (Roger et coll., 1984). Le placement en profondeur de l'engrais azoté ne cause qu'une inhibition partielle (30 à 70 %) du développement et de l'activité des cyanobactéries fixatrices (Roger et coll., 1980). Cette méthode a également l'avantage de diminuer les pertes d'azote par volatilisation (Mikkelsen et coll., 1978 ; ZhiHongCao et coll., 1984).

Fertilisation phosphatée

Une expérience *in situ*, conduite pendant la saison des pluies 1985 dans un sol neutre de la ferme expérimentale de l'IRRI, a montré que l'application fractionnée de l'engrais phosphaté augmentait significativement l'activité fixatrice de N_2 photodépendante par rapport à une application unique en début de culture (Reddy et Roger, non publié).

Contrôle des populations de prédateurs

Le contrôle des populations de prédateurs, principalement les ostracodes et les gastéropodes, favorise le développement des cyanobactéries. L'utilisation d'insecticides, d'origine végétale, s'est révélée techniquement et économiquement prometteuse (Grant et coll., 1985).

Des expériences en microparcelles ont permis d'étudier l'effet de l'application d'engrais phosphaté et de graines broyées d'*Azadirachta indica* (insecticide) et de *Phytolacca dodecandra* (molluscicide) sur le bilan de l'azote d'un sol de rizière (Tableau 7). Le bilan dans le témoin a été de 0,6 g/m². Les valeurs observées pour les différents traitements variaient entre -1,5 et 10,2 g/m². Le contrôle des populations de prédateurs par *Azadirachta indica* et l'apport de phosphore ont eu un effet positif sur le bilan de l'azote. *Phytolacca dodecandra* a eu un effet négatif probablement à cause de ses propriétés tensio-actives. L'interprétation quantitative de ces résultats doit cependant prendre en compte le fait que les expériences en vase de végétation favorisent très fortement le développement des cyanobactéries et sont peu représentatives des conditions *in situ* (Roger et Kulasooriya, 1980).

Paillage du sol

L'épandage de pailles à la surface du sol qui diminue la tension en O_2 et augmente celle du CO_2 dans l'eau de submersion, a un effet bénéfique sur le

Tableau 7.- Bilan de l'azote dans des microparcelles (0,5 m² de sol de rizière après deux mois de submersion (Reddy et Roger, non publié)

Traitement (kg/ha ⁻¹)			Bilan de l'azote (g/m ⁻²)	
Phosphore (P ₂ O ₅)	<i>Azadirachia indica</i>	<i>Phytolacca didecandra</i>		Moyenne
0	0	0	0,6	
0	0	8	-1,5	
0	100	0	1,6	
0	100	8	2,3	0,7
20	0	0	2,1	
20	0	8	1,1	
20	100	0	10,2	
20	100	8	3,9	4,3

développement des cyanobactéries fixatrices de N₂ et l'activité réductrice d'acétylène (Roger et coll., 1982, App et coll., 1984). Toutefois, des expériences en cours indiquent que cet effet n'est pas systématique, le développement de certains prédateurs tels que *Limnea* spp. étant également favorisé. D'autre part, cette pratique culturale pourrait favoriser la propagation de microorganismes pathogènes du riz.

A priori, le coût d'utilisation de ces techniques est limité. Les deux premières peuvent être considérées comme des composantes, mineures sur le plan financier, d'un système de pratiques culturales intégrées.

CONCLUSION

Les recherches récentes conduites à l'IRRI remettent en question le principe de l'inoculation des rizières avec des souches de cyanobactéries sélectionnées au laboratoire. Les souches non autochtones s'établissent rarement dans les sols inoculés et il existe dans la majorité des rizières une flore fixatrice autochtone dont la densité est supérieure à celle des propagules apportées par un inoculum. Par contre, la production d'un inoculum à partir du sol destiné à être inoculé, en utilisant une forte fertilisation phosphatée, permet d'obtenir des propagules de souches déjà adaptées au milieu et dont la richesse en phosphore autorise un développement rapide. L'utilisation d'un tel inoculum en l'absence d'engrais azoté a augmenté significativement l'activité fixatrice de N₂ et le rendement en riz dans une expérience *in situ*. Les résultats expérimentaux sont toutefois encore trop peu nombreux pour pouvoir tirer des conclusions définitives.

Les pratiques culturales telles que l'enfouissement des engrais azotés, l'application d'engrais phosphatés et le contrôle des populations de prédateurs sont souvent suffisantes pour permettre le développement d'une activité fixatrice de N₂ significative sur le plan agronomique.

Les estimations du potentiel des cyanobactéries fixatrices de N₂ indiquent qu'on ne peut espérer augmenter les rendements en riz de plus de quelques centaines de kilos par hectare grâce à leur utilisation. Une telle augmentation est importante pour le riziculteur pratiquant une culture autarcique à faibles intrants monétaires et dont les rendements sont de l'ordre de 2 t/ha⁻¹.

L'épandage d'engrais azoté à la surface du sol inhibe l'activité fixatrice d'azote photodépendante. L'utilisation des cyanobactéries dans les rizières où de l'engrais azoté est utilisé est à rechercher dans un système de fertilisation intégrée

fondé sur le placement en profondeur de l'engrais azoté. Cette pratique culturale diminue de façon très significative la perte d'azote par volatilisation et n'inhibe que partiellement l'activité fixatrice d'azote. L'utilisation simultanée de l'enfouissement de l'engrais azoté et de pratiques culturales favorisant le développement des cyanobactéries fixatrices de N_2 peut permettre de maximiser la composante biologique. Toutefois, considérant le potentiel modéré des cyanobactéries, les pratiques utilisables doivent être peu coûteuses ou avoir des avantages autres que celui de favoriser la fixation d'azote photodépendante.

Les expériences *in situ* dans lesquelles l'effet de pratiques culturales (y compris l'inoculation) sur l'activité fixatrice de N_2 et la biomasse des cyanobactéries a été étudié, sont encore trop peu nombreuses pour que l'on puisse tirer des conclusions définitives quant aux méthodes d'utilisation pratique des cyanobactéries en riziculture et leur valeur économique.

Remerciements.- Ces recherches ont été conduites dans le cadre d'un accord scientifique entre l'IRRI et l'ORSTOM. Elles sont financées en partie par le Programme des Nations Unies pour le Développement (PNUD). L'auteur remercie M. Arrauudeau (IRAT/ORSTOM) et J.C. Glaszmann (IRAT) pour leurs commentaires sur le manuscrit.

BIBLIOGRAPHIE

- APP A.A., T. SANTIAGO, C. DAEZ, C. MENGUITO, W. VENTURA, A. TIROL, J. PO, I. WATANABE, S.K. DE DATTA et P. ROGER, 1984.- Estimation of the nitrogen balance for an irrigated rice crop. *Field Crop Res.*, 9, 17-27.
- DE P.K., 1936.- The problem of the nitrogen supply of rice. Part 1 - Fixation of nitrogen in the rice soils under waterlogged conditions. *Indian J. Agric. Sci.*, 6, 1237-1242.
- FILLERY I.F.G., P.A. ROGER et S.K. DE DATTA, 1986.- Effect of N source and urease inhibitor on NH_3 loss from flooded rice fields. Part 2 - Floodwater properties and submerged photosynthesis biomass. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 5à (1), 86-91.
- GRANT I.F. et R. SEEGER, 1985.- Tubificid role in soil mineralization and recovery of algal nitrogen by lowland rice. *Soil Biol. Biochem.*, 17, 559-563.
- GRANT I.F., P.A. ROGER et I. WATANABE, 1985.- Effect of grazer regulation and algal inoculation on photodependant N_2 fixation in a wetland rice field. *Biol. Fertil. Soils*, 1, 61-72.
- GRANT I.F., P.A. ROGER et I. WATANABE, 1986.- Ecosystem manipulation for increasing biological N_2 fixation by blue-green algae (cyanobacteria) in lowland rice fields. *Biol. Agric. Hort.*, 3, 299-315.
- KULASOORIYA S.A., P.A. ROGER, W.L. BARRAQUIO et I. WATANABE, 1980.- Epiphytic nitrogen fixation on deepwater rice. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, 27 (1), 19-27.
- KULASOORIYA S.A., P.A. ROGER, W.L. BARRAQUIO et I. WATANABE, 1981.- Epiphytic nitrogen fixation on weeds in a rice fields ecosystem. *In* : Wetselaar R., J.R. Simpson et T. Roswall (eds.). *Nitrogen cycling in southeast asian wet monsoonal ecosystems*. Canberra. *The Austr. Acad. Sci.*, 56-61.
- MIAN M.H. et W.D.P. STEWART, 1985.- Fate of nitrogen applied as *Azolla* and blue-green algae (cyanobacteria) in waterlogged rice soils ; a ^{15}N tracer study. *Plant and Soil*, 83, 363-370.
- MIKKELSEN D.S., S.K. DE DATTA et W.N. OBCEMEA, 1978.- Ammonia volatilization losses from flooded rice soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42 (5), 725-730.
- ONO S. et S. KOGA, 1984.- Natural nitrogen accumulation in a paddy soil in relation to nitrogen fixation by blue-green algae. (in japenese). *Jap. J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 55, 465-470.
- REDDY P.M. et P.A. ROGER.- Dynamics of algal populations and acetylene reducing activity in five soils inoculated with blue-green algae. *Biol. Fert. Soils* (sous presse).
- REYNAUD P.A. et P.A. ROGER, 1978.- N_2 -fixing algal biomass in Senegal rice fields. *Proc. Int. Sump. "Environmental role of N_2 -fixing blue-green algae and asymbiotic bacteria"*. *Ecol. Bull. (Stockholm)*, 26, 148-157.
- RIPPKA R., J. DERUELLES, B. WATERBURY, M. HERDMAN et R.Y. STANIER, 1979.- Generic assignement, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 111, 1-61.
- ROGER P.A., 1986.- Effect of algae and aquatic macrophytes on nitrogen dynamics in wetland rice fields. Paper presented at the Congress of the International Soil Science Society. Hambourg, Germany, August 13-21 (in press).

- ROGER P.A. et S.A. KULASOORIYA, 1980.- Blue-green algae and rice. The Intern. Rice Res. Inst., PoBox 933, Manila, Philippines, 112p.
- ROGER P.A. et P.A. REYNAUD, 1977.- La biomasse algale dans les rizières du Sénégal : importance relative des Cyanophycées fixatrices de N_2 . Rev. Ecol. Biol. Sol, 14 (4), 519-530.
- ROGER P.A. et I. WATANABE, 1986.- Technologies for utilizing biological nitrogen fixation in lowland rice : potentialities, current usage, and limiting factors. Fertilizer Res., 9, 39-77.
- ROGER P.A., S.A. KULASOORIYA, A.C. TIROL et E.T. CRASWELL, 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., S.A. KULASOORIYA, W.L. BARRAQUIO et I. WATANABE, 1981.- Epiphytic nitrogen fixation on lowland rice plants. In : Wetselaar R., J.R. Simpson et T. Roswall (eds.), Nitrogen cycling in Southeast Asian wet monsoonal ecosystems. The Austr. Acad. Sci., Canberra, 62-66.
- ROGER P.A., A. TIROL, I. GRANT et I. WATANABE, 1982.- Effect of surface application of straw on phototrophic nitrogen fixation. Int. Res. News, 7 (3), 16-17.
- ROGER P.A., R. REMULLA et I. WATANABE, 1984.- Effect of urea on the N_2 -fixing algal flora in wetland rice fields at ripening stage. Int. Rice Res. News, 9, 28.
- ROGER P.A., I.F. GRANT et P.M. REDDY, 1985a.- Blue-green algae in India : a trip report. The Intern. Rice Res. Inst., PoBox 933, Manila, Philippines, 93p.
- ROGER P.A., S. SANTIAGO-ARDALES et I. WATANABE, 1985b.- Unicellular mucilaginous blue-green algae : impressive blooms but deceptive biofertilizers. Int. Rice Res. News, 10 (2), 27-28.
- ROGER P.A., A. TIROL, S. ARDALES et I. WATANABE, 1986.- Chemical composition of cultures and natural samples of N_2 -fixing blue-green algae from rice fields. Biol. Fert. Soils, 2, 131-146.
- ROGER P.A., S. SANTIAGO-ARDALES, P.M. REDDY et I. WATANABE.- The abundance of heterocystous blue-green algae in rice soils and inocula used for application in rice fields. Biol. Fert. Soils (sous presse).
- TIROL A.C., P.A. ROGER et I. WATANABE, 1982.- Fate of nitrogen from a blue-green alga in a flooded rice soil. Soil Sci. Plant Nutr., 28 (4), 559-562.
- VENKATARAMAN G.S., 1975.- The role of blue-green algae in tropical rice cultivation. In : Stewart W.D.P. (ed.), Nitrogen fixation by free-living microorganisms? Cambridge Univ. Press, 207-218.
- VENKATARAMAN G.S., 1981.- Blue-green algae for rice production - A manual for its promotion. FAO Soils Bull., 46, 102p.
- WATANABE A. et YAMAMOTO, 1971.- Algal nitrogen fixation in the tropics. Plant and Soil Special Volume, 403-413.
- WATANABE I. et P.A. ROGER, 1984.- Nitrogen fixation in wetland rice field. In : Subba Rao (ed.), Current Developments in Biological Nitrogen Fixation, Oxford and IBH pub., New Delhi, 237-276.
- WATANABE I. et P.A. ROGER, 1985.- Ecology of flooded rice fields. In : Wetland soils characterization, classification and utilization. The Intern. Rice Res. Inst., PoBox 933, Manila, Philippines, 229-243.
- WATANABE I., W. VENTURA, W. CHOLITKUL, P.A. ROGER et S.A. KULASOORIYA, 1982.- Potential of biological nitrogen fixation in deepwater rice. In : Proc. of the 1981 Intern. Deepwater Rice Workshop. The Intern. Rice Res. Inst., PoBox 933, Manila, Philippines, 191-200.
- WILSON J.T., D.L. ESKEW et M. HABTE, 1980a.- Recovery of nitrogen by rice from blue-green algae added in a flooded soil. Soil Sci. Soc. Am. J., 44, 1330-1331.
- WILSON J.T., S. GREENE et M. ALEXANDER, 1980b.- Effect of microcrustaceans on blue-green algae in flooded soil. Soil Biol. Biochem., 12, 237-240.
- ZHIHONGCAO, S.K. DE DATTA et I.R.P. FILLERY, 1984.- Effect of placement methods on floodwatered properties and recovery of applied nitrogen (^{15}N -labelled urea) in wetland rice. Soil Sci. Soc. Am. J., 48 (1), 196-203.

