

Contribution des biotechnologies à la sécurité alimentaire : cas du biofertilisant organique (symbiose *Anabaena-Azollae*, *Azolla filiculoides*) sur la fertilisation et le développement d'*Oryza sativa* (riz CB-one) en Côte d'Ivoire

[Contribution of biotechnology to food security: the case of organic biofertilizer (*Anabaena-Azollae* symbiosis, *Azolla filiculoides*) on the fertilization and development of *Oryza sativa* (CB-one rice) in Côte d'Ivoire]

Noel GROGA^{1,2}, Nicaise AKEDRIN Tetchi¹⁻³, Bernadin DRO¹, Pierre Fourier KOUADIO Kouassi¹, Sélastique Doffou AKAFFOU¹, Yatty Justin KOUADIO¹, and ALLASSANE Ouattara²

¹Laboratoire de Botanique, UFR Agroforesterie, Université Jean Lorougnon Guédé, BP 150 Daloa, Côte d'Ivoire

²Laboratoire d'Ecologie et de Biologie Aquatique (LEBA) UFR des Sciences et de Gestion de l'Environnement, Université d'Abobo-Adjamé Abidjan, BP 150, Côte d'Ivoire

³Laboratoire de Botanique, UFR Biosciences, Université Felix Houphouët-Boigny, 22 BP 582 Abidjan 22, Abidjan, Côte d'Ivoire

Copyright © 2018 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: This study highlighted the symbiosis between *Anabaena-azollae* cyanobacteria and *Azolla* aquatic fern in the production of *Azolla filiculoides* and its use as a biofertilizer. His trial of vegetative production using ordinary water + dung, carried out in 14 days of culture, showed a significant amount (6473g). Then, the use of this one as an amendment for the growth of CB-one rice, showed its positive impact on soil fertility thus translating high yields of CB-one rice contrary to the unamended witness. Indeed, with this treatment, the average number of tillers observed after 56 days of culture, was 18.1 ± 4.23 tillers contrary to the NPK (15.83 ± 4.98) and the control ($10, 4 \pm 3.27$). The average number of leaves was significant in *Azolla* (57.20 ± 13.45), average for the NPK fertilizer (48.86 ± 15.79) and low for the control ($34.83 \pm 14, 52$). In sum, the trays treated with *Azolla filiculoides* produced many more panicles and grains compared to treatments. As a result, *Azolla* is likely to restore soil fertility by providing the soil with the nutrients needed for crop productivity.

KEYWORDS: *Anabaena-azollae*, *Azolla filiculoides*, NPK, Biofertilizer, Environment.

RESUME: Cette étude a mis en évidence la symbiose entre la Cyanobactérie *Anabaena- azollae* et la Fougère aquatique *Azolla* dans la production de *Azolla filiculoides* puis son utilisation comme un biofertilisant. Son essai de production végétative à l'aide de l'eau ordinaire + fiente, réalisée en 14 jours de culture, a montré une quantité importante (6473g). Ensuite, l'usage de celle-ci comme amendement pour la croissance du riz CB-one, a montré son impact positif sur la fertilité du sol traduisant ainsi des rendements élevés de riz CB-one contrairement au témoin sans amendement. En effet, avec ce traitement, le nombre moyen de talles observé au bout de 56 jours de culture, a été de $18,1 \pm 4,23$ talles contrairement au NPK ($15,83 \pm 4,98$) et le témoin ($10,4 \pm 3,27$). Quant au nombre moyen de feuilles, il a été important chez *Azolla* ($57,20 \pm 13,45$), moyen pour l'engrais NPK ($48,86 \pm 15,79$) et faible pour le témoin ($34,83 \pm 14,52$). En somme, les bacs traités avec *Azolla filiculoides* ont produit beaucoup plus de panicules et de grains par rapport aux traitements. Par conséquent, *Azolla* est susceptible de restaurer la fertilité du sol en dotant celui-ci des nutriments nécessaires à la productivité des cultures.

MOTS-CLEFS: *Anabaena-azollae*, *Azolla filiculoides*, NPK, Biofertilisant, Environnement.

1 INTRODUCTION

Le riz est la principale denrée alimentaire de près de la moitié de la population mondiale, il contribue à plus de 20 % à la fourniture mondiale en calorie consommée [1]. Sa production est assurée à presque 90% par les pays asiatiques qui contrôlent 70% des quantités vendues sur le marché international [2]. Les engrais synthétiques comptent pour 57% des fertilisants azotés les plus utilisés à l'échelle mondiale pour sa culture avec des coûts élevés. Leur richesse en azote de NPK et l'urée en fait potentiellement un produit de choix conseillé aux agriculteurs. En l'absence de fertilisants (minéraux ou organiques), la production en paddy des riz irrigués avoisine les 2,5 tonnes/ha avec la méthode traditionnelle (pour une bonne maîtrise d'eau) contre 3,5 tonnes/ha avec la technique ANADER en Côte d'Ivoire. L'apport d'engrais minéraux permet d'enregistrer des gains de productions importants d'autant plus significatifs s'il est couplé à un apport de matière organique. Quand elle est disponible, la valorisation de la symbiose *Anabaena-azollae* et *Azolla filiculoides* est indéniablement bénéfique et rentable [3], [4]. Cependant, sa disponibilité reste malheureusement faible. Il est alors nécessaire pour sa production de masse, d'associer le compost organique pour réduire son coût de revient pour les paysans ; car la préparation, la gestion et le transport de cette matière organique constituent une charge de travail importante. De plus, la quantité de compost produite est souvent corrélée à la disponibilité en matières organiques et azotées, principalement sous la forme de déjections végétales. Hors, dans certaines régions de la Côte d'Ivoire, la disponibilité en quantité suffisante de matière organique constitue une réelle contrainte. De toute évidence, l'usage préférentiel des engrais de minéraux par rapport à la fumure organique/compost constitue un complément et non une substitution. Cette pratique doit être envisagée que si elle contribue à renforcer la résilience des familles paysannes et non à la détériorer. Il en résulte des constats qui prennent en compte les facteurs économiques et la charge de travail, que le défi primordial à relever est de trouver aux paysans, des solutions pragmatiques permettant d'améliorer leurs productions, tout en préservant la fertilité des sols en vue de limiter les dépendances aux engrais de synthèse qui demeurent l'un des fertilisants azotés appréciés des agriculteurs du fait de sa composition majoritairement faite en azote de NPK et à l'urée. Des quantités moindres peuvent être apportées permettant ainsi de réduire les coûts, parfois de façon significative. Cependant, l'utilisation excessive de ceux-ci conduisent à des pertes d'azote, tels que les émissions ammoniacales. Afin de limiter les risques environnementaux liés à l'utilisation de l'Urée et d'optimiser son prélèvement par les plantes, l'agriculteur doit viser les engrais organiques. L'objectif principal de ce travail est de valoriser l'usage des fertilisants d'origine végétale telle que le *Azolla*. Il s'agit à travers cette étude, d'accroître sa productivité et d'observer le comportement de la symbiose (*Anabaena-Azollae*, *Azolla filiculoides*), en vue d'améliorer le rendement du riz CB-one qui est l'une des denrées les plus consommées dans cette région.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 MATÉRIEL VÉGÉTATIF

Le matériel végétal utilisé est représenté d'une part par l'*Azolla filiculoides* qui servi de fertilisant et d'autre part par la variété de riz CB-one utilisée dans les bacs. Cette variété de riz a été choisie pour son arôme, son goût et ses atouts thérapeutiques.

2.1.1 MATÉRIEL TECHNIQUE ET FERTILISANT

Le matériel technique est composé d'une règle graduée pour la mesure de la hauteur des talles, d'une balance Roberval CAP. 15kg GRAD de marque HONEST et de précision 50g et d'une autre balance de marque APX-1502 et de précision 0,01g pour la pesée du NPK (12-22-22), de l'urée et de l'*Azolla* (100g). Une trentaine de planches d'une hauteur de 4 m au maximum ont servi à la fabrication des bacs. De la fiente de poulet a été également utilisée pour la mise en culture de l'*Azolla*. Enfin, l'engrais minéral (NPK 12-22-22 et l'urée) a servi comme amendement.

2.2 METHODES

2.2.1 SITE D'ÉTUDE

Les expérimentations agronomiques ont été réalisées sur le site d'expérimentation de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa située au Centre-Ouest de la Côte d'Ivoire et distant de 480 Km d'Abidjan. Les coordonnées géographiques sont comprises entre 6°54' 32, 32'' N Latitude et de : 6°26' 15, 58'' longitude (fig.1).

2.2.2 MESURES DES COMPOSITIONS PHYSICO-CHIMIQUES DU SOL ET LA FIENTE DE POULET

Après la collecte, les échantillons de sol et de fiente ont été stockés respectivement dans des sachets en plastique et des pots (1500 ml) puis envoyés au LANADA (Laboratoire nationale) et au CRO (Centre de Recherche Océanologie) pour analyse au spectrophotomètre. Le pH-h₂O et le pH-KCl ont été mesurés au pH-mètre suivant un rapport sol /eau distillé de 1 :2.5 et sol KCl 1M de 1 :2.5. Le phosphore assimilable a été dosé selon la méthode [5] et le phosphore total par méthode de l'acide nitrique [6]. Le carbone organique a été dosé selon la méthode de Walkley et black [7] et l'azote total par la méthode de kjeldal [8]. La Capacité d'échange cationique effective (CECE) correspondant à la somme des bases du complexe d'échange échangeable puis l'acidité d'échange extraite respectivement par les solutions de l'acétate d'ammonium et kcl, ont été dosées par spectromètre d'absorption atomique, photométrie à flamme et titrimétrie.

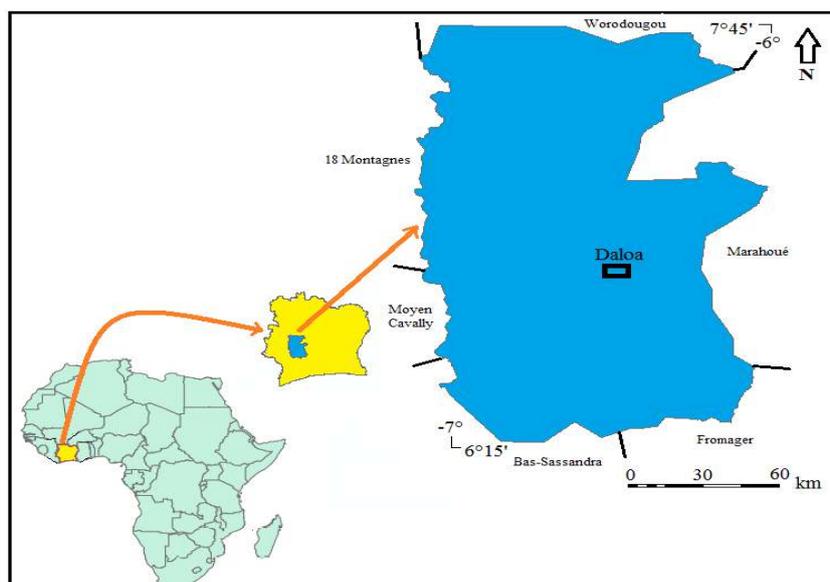


Fig. 1. Carte de la zone de l'étude

2.2.3 MISE EN CULTURE DE L'AZOLLA FILICULOIDES

Préparation du milieu de culture : Elle a consisté à confectionner des bacs d'une superficie de 1m² et de profondeur 25cm à l'aide de planches et de contreplaqués. Après le désherbage du site d'expérimentation, les bacs revêtis de sachets plastiques et surmontés de briques sont exposés à la lumière du jour.

Mise en culture de l'*Azolla* sans le sol : 30 litre d'eau et 1,5 litre de fiente pure ont été utilisés pour chaque bac. Après mélange, une quantité de 100g de l'*Azolla filiculoides* a été ensemencée pour sa culture.

Fertilisation : elle a été réalisée à l'aide de la fumure d'origine végétale et minérale. L'Urée fractionnée de 100 kg/ha a été apportée en deux périodes sur chacun des bacs (Bp1, Bp5, Bp7) :

- 1^{er} apport au repiquage ;
- 2^{ème} apport au 45^e jour après repiquage.

L'engrais de fond NPK (12-22-22) a été incorporé au sol deux semaines avant le repiquage à raison de 20 g par bac (Bp1, Bp5, Bp7) à la dose de 200 kg/ha pour assurer une bonne reprise de la plantule. L'apport de l'*Azolla* a été fait dans les bacs (Bp3, Bp8, Bp9).

- 0,5 litre de liquide de fiente de poulet contenu dans les différents bacs a été préalablement associé à la terre pour accélérer la multiplication végétative de l'*Azolla filiculoides*.
- 100g de l'*Azolla filiculoides* produits ont été apportés après repiquage.

2.3 MÉTHODES DE SÉLECTION DES GRAINS POUR LA MISE EN CULTURE

La méthode de flottaison a été utilisée ; cela a consisté à plonger les grains dans une cuve remplie d'eau de robinet. Après agitation du seau, ceux qui émergent en surface sont considérés comme non viables. Ils ne sont plus conservés pour la réalisation ultérieure des semis. Les grains retenus, après tri, ont été maintenus pour un séjour de 24 h dans un autre récipient rempli d'eau en vue de leur réhydratation. Ensuite, ils sont conservés dans des sacs couverts de pailles et stockés à l'abri des rongeurs, des volailles et des insectes. Au bout de 72 h, les grains ont présenté des points blancs traduisant la sortie de la radicule.

2.4 MISE EN PLACE DE LA PÉPINIÈRE

La mise en culture des grains sélectionnés a été réalisée à la volée de façon homogène dans des pots de forme rectangulaire de dimension 50cm x 25cm x 5 (Longueur-Largeur-Profondeur) possédant un fond perforé. Le substrat utilisé pour les ensemencements a été la terre noire. Les surfaces ont été ensuite planées pour éliminer les poches d'eau. La quantité de grains de CB-one utilisée a été de 50g. Les grains ont été recouverts par une fine couche de terre puis la paille pendant trois jours. Après le semis, la pépinière a été arrosée régulièrement. Les pots constitués ont été rangés en milieu ambiant. La transplantation dans les différents bacs apprêtés pour accueillir les jeunes plants de riz a été faite 15 jours après la mise en pépinière.

2.5 DISPOSITIF EXPÉRIMENTAL

Le dispositif expérimental est un bloc aléatoire complet randomisé avec trois (3) traitements et trois (3) répétitions. Un seul facteur a été pris en compte : le traitement avec 3 niveaux à savoir : Témoins sans apport de fertilisant, NPK et Urée puis *Azolla filiculoides*. Chaque bloc est subdivisé en 3 parcelles élémentaires de 1m sur 1m soit 1m². Un total de neuf (9) parcelles ont été utilisées pour le repiquage des plants de riz CB-one. Dans chacune des parcelles, a été disposé un bac. Trois (3) bacs sans amendement ont servi de témoin. Les 2 premiers blocs (bloc 1 et bloc 2) sont distants du troisième bloc de 1m (fig. 2). Les plants de riz CB-one au nombre de 16 plants ont été repiqués dans chaque bac. Dans chaque bac, les plants ont été repiqués sur 4 lignes droites distantes de 25 cm (fig. 2).

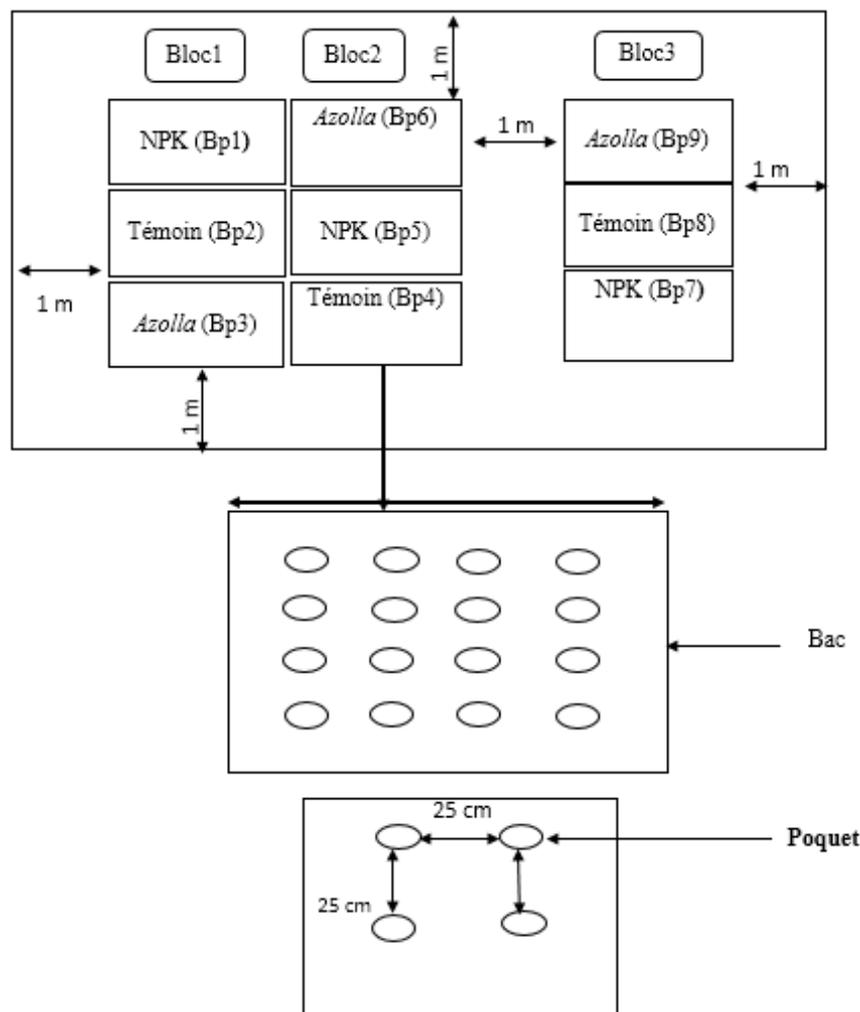


Fig. 2. La mise en place du dispositif expérimental.

2.6 COLLECTES DES DONNÉES

Sur chaque bac traité ou non, pour mieux apprécier les effets des amendements sur la productivité du riz CB-one, un échantillon de 10 pieds a été pris au hasard. La variable retenue est la hauteur du riz, le nombre de talles et le nombre de feuilles. Toutes ces variables ont été évaluées tous les sept (7) jours.

2.7 ANALYSE DES DONNÉES

Les données collectées ont été traitées à l'aide d'un logiciel PAST 3.14. Le logiciel Microsoft Excel 2013 a servi à tracer les graphiques.

2.7.1 ANALYSE DE VARIANCE (ANOVA)

L'ANOVA est réalisée sur les moyennes des paramètres mesures (hauteur) et dénombrement (nombre de talles et de feuilles). Mais avant l'analyse, les données sont soumises à un test de normalité [9] et d'homogénéité de variance [10]. L'hypothèse testée est, par l'analyse de variance, celle de la différence nulle entre les traitements, $H_0: T_1=T_2=\dots=T_n$.

Lorsqu'une différence significative est observée entre les traitements pour un caractère, l'ANOVA est complétée par le test de Tukey. Ce test a permis d'identifier le traitement dont l'effet diffère significativement du ou des autres paramètres et de comparer les moyennes des traitements au seuil de signification 5 %. Le niveau de significativité choisi pour les analyses est de 5 % ($P= 0,05$). Le degré de liberté est $n-k$ ou n et k représentent les nombres d'observation et de groupe.

2.7.2 ANALYSE EN COMPOSANTE PRINCIPALE (ACP)

L'ACP que nous avons utilisé est une méthode d'ordination simple permettant de mettre en relation des paramètres physico-chimiques et les variables du milieu. Les variables explicatives concernent donc les paramètres physico-chimiques (pH, température, conductivité, salinité). Ces variables permettent d'ordonner les groupes ou milieux d'étude (B1, B2, B3, B4).

3 RESULTATS

3.1 CARACTÉRISATIONS DES PARAMÈTRES PHYSICO-CHIMIQUES DES MILIEUX

Le tableau 1 présente les caractéristiques physicochimiques provenant des deux milieux ; ceux du sol et ceux de la fiente. Pour une quantité de 884 g de sol sableux, les valeurs de 5,4 et de 3,2 ont été enregistrées respectivement pour le pH-H₂O et le pH-KCl. Au niveau de la fiente, le pH du milieu a été de 6,47 avec une température de l'ordre de 27,41 °c. La conductivité et la salinité sont respectivement de 15,37 µs /cm et 8,92 ‰. Avec une valeur de 9821 mg /l, le taux de solide dissous a été très important. Ainsi donc les paramètres physicochimiques de la fiente de poulet et celle du sol ont contribué à l'enrichissement du milieu en matière particulaire dissoutes.

Tableau 1. Caractéristique du sol et de la fiente

Éléments utilisés	Paramètres	Données (moyennes)
	pH	6,47
	T en °c	27,41
Fiente	Cond en µs /cm	15,37
	Salinité en ‰	8,92
	TDS en mg /l	9821
	pH-H ₂ O	5,4
	pH-KCl	3,2
	Total Phosphore en mg.k ⁻¹	3,46
Sol	Composition org en mg.k ⁻¹	876
	Matière org en mg.k ⁻¹	2100
	Total Azote en mg.k ⁻¹	108
	Rapport C/A en mg.k ⁻¹	10,7
	Sable en g.k ⁻¹	884
	Limon en g.k ⁻¹	25
	Argile en g.k ⁻¹	37

T : Température ; Cond : Conductivité ; TDS : Taux de solides dissous ; Org : Organique ; c : Carbone ; A : Azote.

3.2 PRODUCTION DE L'AZOLLA EN FONCTION DU TEMPS

Les résultats de la production hebdomadaire dans les différents milieux de cultures d'*Azolla filiculoides* sont consignés dans le tableau 2. Pour une même quantité (100 g) de l'*Azolla filiculoides* ensemencée en début de l'expérience, une variation de poids a été relevée après 28 jours de culture d'un milieu de culture à un autre. Le faible poids est a été enregistré dans le milieu B3 (eau de robinet) avec une valeur de 362 g. A l'inverse, le poids le plus élevé a été obtenu en milieu B4 (eau de robinet + fiente) avec une valeur de 6473 g. Pour les autres milieux la valeur du poids est comprise entre 832 g et 2643 g respectivement dans les milieux B1 (eau de robinet + sol) et B2 (eau de robinet + sol +fiente).

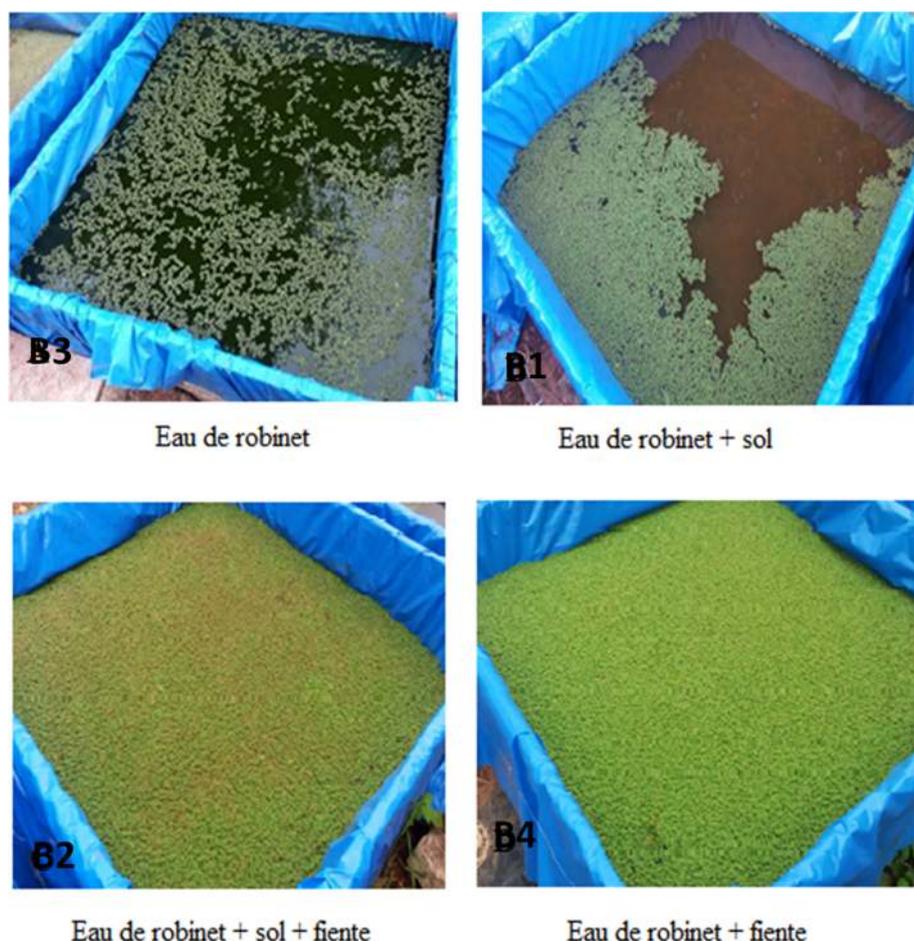


Fig. 3. Production de l'Azolla filiculoides avec différents substrats après 14 jours de culture

Tableau 2. Production de l'Azolla en fonction du temps sur différents milieux de culture

PERIODES	MILIEU B1 (g)	MILIEU B2 (g)	MILIEU B3 (g)	MILIEU B4 (g)
T ₁	100	100	100	100
T ₂	210	413	157	653
T ₃	507	1726	162	2979
T ₄	608	1745	215	4724
T ₅	832	2643	362	6473

T₁ = 1^{ème} jour ; T₂ = 7^{ème} jour ; T₃ = 14^{ème} jour ; T₄ = 21^{ème} jour ; T₅ = 28^{ème} jour.

B1 = sol + eau ; B2 = fiente + sol + eau ; B3 = eau ; B4 = fiente + eau

3.3 TYPOLOGIE DES MILIEUX DE CULTURE

L'analyse en composante principale (ACP), nous a permis d'étudier la répartition spatiale des milieux de culture en fonction des paramètres physico-chimiques mesurés. La projection des variables (phosphore, pH, salinité, conductivité, azote, TDS) et des milieux a été effectuée sur 2 axes, qui représentent 73,18 % de la variance totale. L'axe 1 réunit 45,98 % et le second axe 27,20 % (fig 4). Ces paramètres sont bien corrélés sur ces axes. L'axe 1 sélectionne positivement le groupe G1 qui est composé essentiellement des milieux B2 (eau + sol + fiente) et B4 (eau + fiente) et les paramètres physico-chimiques (matière organique, azote, Phosphore, pH, TDS). L'axe (2) met en évidence négativement le groupe G2 constitué essentiellement (salinité, composante organique, conductivité) ; cela n'influe pas sur les milieux. Cette association confirme nos observations suggérant que les milieux B2 (sol + fiente) et B4 (eau + fiente) renfermant d'éléments nécessaires favorable à la production de Azolla. En

plus, nous avons remarqué que la distribution des milieux est strictement liée à la disponibilité des éléments nutritifs (matière organique, azote, Phosphore, pH, TDS) et particulièrement la matière organique qui semble être le facteur qui influence la répartition des groupes.

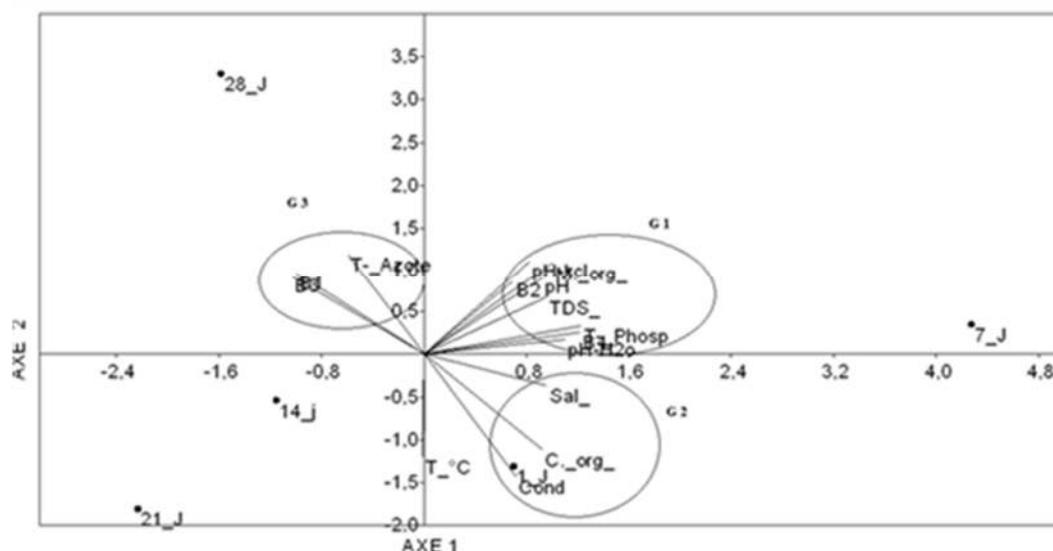


Fig. 4. L'analyse en Composante principale des milieux d'études en relations avec les différents paramètres physico-chimiques

Cond : conductivité ; Phosp : phosphore ; Sal : Salinité ; T-A : Total azote ; TDS : Taux de solide dissous. Axe 1 : (45,98%), Axe 2 : (27,20%)

3.4 VARIATIONS DES PARAMÈTRES DE CROISSANCES

3.4.1 EVOLUTION DES HAUTEURS DU RIZ

Les valeurs moyennes hebdomadaires des mesures des hauteurs des talles du riz CB-one effectuées dans les différents milieux de cultures (amendé et témoin) sont consignées dans le tableau 3. Tous les milieux de cultures ont stimulés la croissance en hauteur du riz. Cependant, par rapport au milieu témoin, la meilleure croissance du riz a été obtenue dans les milieux amendés avec *Azolla* et NPK+ urée. Ces amendements ont semblé donc indispensables à une meilleure croissance de riz. En effet, en 56 jours de culture après repiquage du riz, la hauteur moyenne des talles dans les milieux amendés a été de 38,56 cm au 14^{ème} jour à 90,91 cm au 56^{ème} jour, soit un gain de croissance de 52,35 cm (soit 6,47 % d'accroissement par rapport au témoin).

Cependant, cette croissance en hauteur des talles a varié d'un milieu amendé à l'autre donc fonction du type d'amendement utilisé. Avec *Azolla filiculoides*, la meilleure croissance (40,06 à 93,01 cm) a été enregistrée. Dans le milieu contenant l'engrais minéral (NPK+ urée), la croissance a été faible (37,06 à 88,81 cm).

L'analyse de variance des milieux traités par rapport au milieu témoin a montré une différence significative entre les valeurs moyennes des hauteurs des talles au cours du 56^{ème} jour ($F = 9,179$; $p = 0,0000$).

Tableau 3. Effet des traitements sur la hauteur des talles de la variété de riz CB-one

Hauteur moyen du riz CB-one (cm)					
Temps (JAR)	Azolla	NPK	Témoin	F	p
14	40,06 ± 7,59 ^b	37,06 ± 6,85 ^b	32,06 ± 4,60 ^a	13,95	0,0000
21	51,83 ± 6,81 ^b	51,46 ± 7,63 ^b	41,06 ± 6,08 ^a	26,83	0,0000
28	63,66 ± 6,03 ^b	63,33 ± 6,65 ^b	54,18 ± 6,38 ^a	21,28	0,0000
35	75,63 ± 3,49 ^b	74,43 ± 5,97 ^b	65,71 ± 9,19 ^a	14,47	0,0000
42	83,51 ± 7,44 ^b	81,65 ± 6,16 ^b	71,70 ± 9,66 ^a	15,21	0,0000
49	88,76 ± 7,96 ^b	85,5 ± 6,85 ^b	77,06 ± 10,14 ^a	12,45	0,0000
56	93,01 ± 8,75 ^b	88,81 ± 7,32 ^b	81,23 ± 12,15 ^a	9,179	0,0000

Les valeurs portant les mêmes lettres (a, b, c) sur la même ligne sont statistiquement identiques au seuil de 5 % (JAR : Jours Après Repiquage). P = Probabilité ; F = Fréquence

3.4.1.1 EVOLUTION DU NOMBRE DE TALLES DU RIZ

L'histogramme de l'évolution hebdomadaire du nombre de talles du riz CB-one (tableau IV) a montré que le nombre de talles a varié d'un milieu de culture à un autre. Le nombre le plus faible a été enregistré dans le milieu témoin avec $0,93 \pm 0,25$ talles au 14^{ème} jour après repiquage à $10,4 \pm 3,27$ 56^{ème} jour après repiquage soit une augmentation de 09,47 talles au bout de 42 jours de comptage. A l'inverse, le nombre le plus élevé de talles a été observé en milieu contenant *Azolla filiculoides* comme amendement au cours de ce même intervalle de temps. Le comptage a atteint 16,64 talles. Quant au milieu renfermant l'engrais minéral (NPK+ urée), une moyenne de 14,6 talles a été dénombrée.

Des milieux traités par rapport au milieu témoin, l'analyse des variances a montré une différence significative (Tableau 4) entre les valeurs moyennes du nombre de talles enregistré au 56^{ème} jour après repiquage (F = 33,7 ; P = 0,0000).

Tableau 4. Effet des traitements sur le nombre de talles de la variété de riz CB-one

Nombre moyen de talles du riz CB-one					
Temps (JAR)	Azolla	NPK	Témoin	F	p
14	1,46 ± 0,68 ^b	1,23 ± 0,62 ^{ab}	0,93 ± 0,25 ^a	9,781	0,0000
21	3,80 ± 1,32 ^b	3,50 ± 1,65 ^b	2,26 ± 0,73 ^a	18,68	0,0000
28	7,43 ± 2,09 ^b	7,30 ± 3,07 ^b	3,3 ± 1,41 ^a	49,51	0,0000
35	10,30 ± 2,62 ^b	10,13 ± 3,61 ^b	5,86 ± 2,47 ^a	26,7	0,0000
42	14,83 ± 4,42 ^b	13,1 ± 4,97 ^b	8,36 ± 3,14 ^a	24,13	0,0000
49	17,86 ± 4,46 ^b	15,96 ± 5,47 ^b	9,33 ± 3,75 ^a	35,47	0,0000
56	18,1 ± 4,23 ^b	15,83 ± 4,98 ^b	10,4 ± 3,27 ^a	33,7	0,0000

Les valeurs portant les mêmes lettres (a, b, c) sur la même ligne sont statistiquement identiques au seuil de 5 % (JAR : Jours Après Repiquage). P = probabilité ; F = Fréquence

3.4.1.2 EVOLUTION DU NOMBRE DE FEUILLES DU RIZ

Le tableau V a présenté la variation du nombre de feuilles du riz CB-one en fonction des traitements. Pour une même espèce (CB-one), le nombre de feuilles a varié d'un milieu de culture à un autre. Le nombre le plus élevé a été enregistré dans le milieu amendé avec *Azolla filiculoides*. En effet, avec une moyenne de $7,93 \pm 3,06$ feuilles au 14^{ème} jour après repiquage, l'on a noté au 56^{ème} jour après repiquage $57,20 \pm 13,45$ feuilles, soit une augmentation de 49,27 au bout de 42 jours d'observation. A l'inverse, le faible nombre a été obtenu dans le milieu témoin. Dans ce milieu, une moyenne de 30,57 feuilles a été comptée durant ce même temps d'observation. En ce qui concerne le milieu contenant l'engrais minéral (NPK+ urée), une moyenne de 41,9 feuilles a été notée durant ce même laps de temps. Les effets des traitements sur le nombre de feuilles de riz CB-one (Tableau 5) ont permis de diviser l'ensemble des milieux de culture en deux groupes. Le premier groupe est constitué de milieu enrichi à *Azolla filiculoides* et de milieu contenant l'engrais minéral (NPK+ urée). La valeur moyenne de feuilles enregistrée par le milieu est comprise entre $57,20 \pm 13,45$ et $48,86 \pm 15,79$. Le deuxième est représenté par le milieu témoin avec une moyenne de $34,83 \pm 14,52$ feuilles.

D'un groupe à l'autre, l'analyse de variance a montré une différence significative entre les valeurs moyennes du nombre de feuilles par milieu de culture ($F= 19,09$; $p=0,0000$). Le test de comparaison (Test tukey) a montré que *Azolla filiculoides* et l'engrais minéral (NPK+ urée) ont favorisé un important feuillage chez le riz CB-one.

Tableau 5. Effet des traitements sur le nombre de feuilles de la variété de riz CB-one

Temps (JAR)	Nombre moyen de Feuilles du riz CB-one (cm)				
	<i>Azolla</i>	NPK et urée	Témoin	F	p
14	7,93 ± 3,06 ^b	6,96 ± 2,57 ^b	4,26 ± 0,78 ^a	32,39	0,0000
21	14,16 ± 5,25 ^b	12,26 ± 4,80 ^b	6,33 ± 2,00 ^a	42,27	0,0000
28	25,40 ± 9,04 ^b	21,53 ± 8,62 ^b	10,36 ± 3,46 ^a	50,53	0,0000
35	36,33 ± 9,53 ^b	31,80 ± 12,18 ^b	17,10 ± 6,49 ^a	47,38	0,0000
42	46,9 ± 12,51 ^c	38,76 ± 14,63 ^b	23,76 ± 9,56 ^a	34,25	0,0000
49	52,10 ± 13,34 ^b	44,23 ± 15,19 ^b	29,90 ± 13,00 ^a	21,62	0,0000
56	57,20 ± 13,45 ^b	48,86 ± 15,79 ^b	34,83 ± 14,52 ^a	19,09	0,0000

Les valeurs portant les mêmes lettres (a, b, c) sur la même ligne sont statistiquement identiques au seuil de 5 % (JAR: Jours Après Repiquage). P = Probabilité ; F = Fréquence

4 DISCUSSION

Les résultats issus de la production hebdomadaire de l'*Azolla* ont montré que tous les milieux de cultures ont produit de l'*Azolla filiculoides*. Cela signifie que ces différents milieux de cultures ont contenu des éléments minéraux nécessaires à la multiplication végétative de l'*Azolla filiculoides*. Cependant, contrairement aux milieux B1 (contenant uniquement le sol), B2 (contenant sol + fiente) et B3 (contenant uniquement eau de robinet), on note une dynamique de production de l'*Azolla filiculoides* dans le milieu B4 renfermant la fiente de poulet. Cela paraît se justifier car la fiente a joué un rôle prépondérant dans la production de l'*Azolla*. Elle a mis à la disposition de la Fougère (*Azolla filiculoides*) des éléments nutritifs majeurs à savoir l'azote (N), le calcium (Ca), le magnésium (Mg), le potassium (K), le soufre (S) et le phosphore (P) qui ont influencé la multiplication végétative. *Azolla* comme toutes les plantes exige pour sa prolifération, des éléments minéraux qu'elle a puisés dans la fiente. Selon [11], la matière organique ainsi fournie à travers la fiente de poulet, a intervenu dans les mécanismes de libération des éléments minéraux donc de la nutrition de l'*Azolla*.

A l'inverse, le milieu (B1, B3) avec une faible production serait dû à un déficit d'éléments nutritifs indispensable à la croissance végétale. Selon [12], les carences en éléments (P, K, Ca, Mg et Mn) et en microéléments tel que le fer (Fe), molybdène (Mo), cobalt (Co) sont défavorable au développement de l'*Azolla*. Le milieu B3 contenant autant de fiente que le milieu B4 à une production un peu plus faible que le milieu B4 ; cela peut-être dû à un excès d'éléments nutritifs. En effet, l'excès d'éléments nutritif va modifier le métabolisme et nuire la production de la Fougère.

Au niveau de la plante (riz CB-one), les résultats ont montré une croissance et un développement importants de plantes de riz dans les bacs amendés au NPK (Bp1, Bp5, Bp7) et à *Azolla filiculoides* (Bp3, Bp6, Bp9) par rapport à ceux non amendés (Bp2, Bp4, Bp8). *Azolla filiculoides* s'est enrichi d'azote présent dans l'air en ammoniac pour pouvoir être utilisé comme source d'azote ; ce qui s'explique par la forte croissance obtenue dans les bacs (Bp3, Bp6, Bp9). Pour améliorer les sols sodiques, *Azolla* peut être ajoutée aux couches superficielles pour augmenter leur teneur en matière organique. Les effets significatifs de l'*Azolla filiculoides* serait liés à l'action combinée de l'amélioration des propriétés des sols et la minéralisation des éléments nutritifs. Cela pourrait s'expliquer par une augmentation des concentrations de Phosphore (P), de Manganèse (Mn), de Fer (Fe) et d'Azote (N) suite à la décomposition de la Fougère (*Azolla*). Cette sédimentation a provoqué parallèlement un envasement du milieu [13]. *Azolla* apporté au sol a donné une certaine quantité d'éléments nutritifs à la plante et a amélioré les propriétés physiques du sol. Cette matière organique a permis de conserver l'humidité à cause de son étalage sur le sol et amélioré la capacité d'échange du sol, afin de stimuler également le développement des racines pour une bonne absorption des éléments nutritifs présents dans le sol. Selon [14], la matière organique est le meilleur fertilisant de base. Les conditions d'installation et de développement du riz sont nettement améliorées : tallage plus vigoureux, croissance plus rapide et plus importante, alimentation minérale plus satisfaisante avec l'apport de matière organique dans les bacs (Bp3, Bp6, Bp9).

Les fertilisants affectent la croissance en hauteur des talles de la variété de riz CB-one. La faible croissance du témoin serait due aux conditions physico-chimiques du sol (sol sableux). Selon [15], la faible croissance des plantes serait attribuée aux facteurs caractéristiques du sol, notamment le pH, la toxicité et les déficiences en nutriments (Ca, Mg, P, K, B et Zn). A l'inverse, la croissance en hauteur des plants traités avec *Azolla* est plus élevée que le NPK, cela pouvait être lié à une minéralisation

importante des éléments nutritifs du sol dans les bacs contenant *Azolla* comme traitement. En effet, l'*Azolla* libère des minéraux progressivement, ce qui peut assurer leur disponibilité en cas de besoin de la plante. Les éléments nutritifs rendus suffisamment disponibles au fil du temps dans le sol sont efficacement utilisés par les plantes cultivées [16]. Quant au traitement à base de NPK, cela pourrait être attribué à une carence d'éléments nutritifs nécessaire à la plante ou à une perte d'éléments nutritifs. Cependant, la minéralisation rapide de ce traitement peut entraîner l'infiltration des minéraux dans les horizons inférieurs du sol qui deviennent alors inaccessibles aux racines.

Une autre approche d'évaluation de l'effet des fertilisants sur le riz est l'évaluation du nombre de feuilles. Le nombre de feuilles du riz provenant du milieu enrichi avec l'*Azolla* est plus important que ceux du NPK et du témoin. Cette supériorité est liée non seulement au nombre considérable de talles mais aussi à un nombre important des éléments nutritifs mis à la disposition de la plante. En effet, les conditions (un tallage important, une bonne croissance...) étant réunies avec *Azolla filiculoides*, tous les processus de métabolisme sont donc réalisés pour permettre un accroissement du nombre de feuillages. La matière organique issue de l'*Azolla* renferme une quantité d'éléments tels que l'azote et le phosphore qui agissent immédiatement sur le développement du feuillage et sur la productivité des plantes en culture [17].

De tels résultats suggèrent que l'*Azolla filiculoides* pourrait être utilisé comme fertilisant dans un programme visant l'augmentation du rendement du riz et de la protection de l'environnement.

REFERENCES

- [1] Van. H. C., Diara. H.F. & Godard. P., - *Azolla* en Afrique de l'Ouest (ADRAO). 1983.
- [2] (AgriAlerte.). Restrictions à l'exportation du riz : risque de pénuries dans les pays fortement importateurs 8 p. 2008
- [3] Bray.D., Application des dosages automatiques à l'analyse des sols, 286 p. 1945.
- [4] Rahagarison B., «Etude bibliographique de *Azolla* ou la « ramilamina » plante fertilisatrice d'Azote (N₂)». TALOHA, 14-15, consultée, le 17 juillet 2007. 2005.
- [5] Carrapiço. F., *Azolla* as a superorganism its implication in symbiotic studies, 15 p. 2007.
- [6] Bray, R.H. and Kurtz, L.T. Determination of Total, Organic, and Available Forms of Phosphorus in Soils. *Soil Science*, 59, 39-45. 1945.
- [7] Hillebrand, W.F., Lundell, G.E.F., Bright,H.A. and Hoffman, J.I., *Applied Inorganic Analysis*, 2nd ed., New york: John Wiley and Sons, 768-772. 1953.
- [8] Walkley. A., & Black A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acidtitration method. *Soil Sci*, 37: 29-38. 1934.
- [9] Shapiro, S. S., Wilk, M. B. & Chen H. J., A comparative study of various tests for normality. *J. Am. Statist. Ass.* 63 : 1343-72. 1968.
- [10] Brasset, T. & Couturier C., *Gestion et valorisation des cendres de chaufferies bois*. ADEME, 3 p. 2005.
- [11] Becking J, H. In *Nitrogen and Rice*, International rice Research Institute, los Banos Philippines. 1979a.
- [12] Becking. J. H., Environmental requirements of *Azolla* for use in tropical rice production, *Nitrogen and Rice. International rice Research Institute*. Los Banos, Laguna, Philippines, 345-374. 1979b.
- [13] GIS., *Biologie et écologie des espèces végétales proliférant en France*. Synthèse bibliographique. Les Etudes de l'Agence de l'Eau 68. 199 p. 1997.
- [14] Giller K.E., Cadisch G. & Palm C., The North-South divide: Organic wastes or resources of nutrient management. *Agronomy*, 22 : 703-709. 2002.
- [15] Mukalay M. J., Shutcha M. N., Tshomba K. J., Mulowayi K., Kamb C. F., Ngongo L. M., Causes d'une forte hétérogénéité des plants dans un champ de maïs dans les conditions pédoclimatique de Lubumbashi. *Annales Faculté des Sciences Agronomiques*, 1 (2) : 4-11. 2008.
- [16] Ojetayo A.E., Olaniyi J.O., Akanbi W.B., Olabiyi T.I. Effect of fertilizer types on nutritional quality of two cabbage varieties before and after storage. *Journal of Applied Biosciences* 48: 3322– 3330. , 2011.
- [17] Brown, M. B., & Forsythe, A. B., - The small sample behavior of some statistics which test the equality of several means. *Technometrics*, 16: 129-132. 1974.