

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ET TECHNIQUE OUTRE-MER

Institut d'Etudes Centre-Africaines

SERVICE PEDOLOGIQUE
=====

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA NITRIFICATION DANS QUELQUES
SOLS TYPIQUES DE LA REPUBLIQUE DU CONGO

par P. de BOISSEZON

La méthode de culture des nitrificateurs sur plaques de silico-gel mise au point par WINOGRADSKY (6) est utilisée par la plupart des microbiologistes des sols pour l'isolement et la numération des germes nitrificateurs.

L'application de cette technique à différentes terres du Congo ayant donné dans de nombreux cas des résultats négatifs, alors que la présence des nitrates dans le sol est loin d'être négligeable, nous avons été amenés à étudier ce problème par d'autres méthodes.

I.- Technique de WINOGRADSKY (6)

Les gels de silice ont été ensemencés par un poids donné de terre (Y. DOMMERGUES 3).

Nous donnons dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus après 21 jours de culture sur un certain nombre d'échantillons de terres de nature très différentes, (Profondeur du prélèvement agronomique 0-15)

Echantillon N°	Nature du sol	pH du sol	Nitritation Nb.de Microcolonies par gr. de sol.
1	Sol rouge érodé sur grès de l'In- kisi.	4,6	0
2	Sol argileux des plateaux de la Vallée du Niari (Savane)	4,9	6
3	Sol argileux des plateaux de la Vallée du Niari (sous culture) avec amendement calcaire.	4,9	280
4	Sol argileux sableux sur granite (sous forêt)	4,0	0
5	Sol de forêt sèche sur sables Kalanari remaniés.	4,3	0
6	Sol de savane des plateaux Batékés	5,2	0

A l'exception des échantillons n^{os} 2 et 3, nous n'avons pas observé d'auréole de dissolution de l'émaillage au carbonate de calcium et les réactions au réactif de Griess étaient négatives.

Par contre les colonies développées à partir des grains de la terre n^o 3 paraissaient très actives (auréole de 4 à 6 mm de diamètre au bout de 21 jours de culture et réaction fortement positive au réactif de Griess).

II.- Culture des germes nitrificateurs en milieu liquide.

Le milieu de culture utilisé est le suivant :

Solution minérale de WINOGRADSKY (6)	5 cc
Carbonate de calcium	1 gr.
Sulfate d'ammoniaque	50 mg.
Eau	QSP 100 cc.

1^o) - Réparti en tubes et stérilisé, ce milieu a été ensemencé par des dilutions de terre. (COPPIER et de BARJAC 1). Le pouvoir nitrificateur a été évalué en recherchant les tubes positifs au réactif de Griess, au bout de 21 et 60 jours de culture.

Cette méthode ne correspond pas exactement à une numération car nous ignorons la quantité de genres nécessaires pour que la nitrification se produise.

Les résultats obtenus sont les suivants :

: Echantillon :	: Nombre de Microcolonies efficaces par gr. de terre :	
	: N ^o :	: ----- :
:	: au 21e jour :	: au 60e jour :
: 1 :	: 0 :	: 0 :
: 2 :	: 50 :	: 50 :
: 3 :	: 6000 :	: 9000 :
: 4 :	: 2 :	: 5 :
: 5 :	: 0 :	: 0 :
: 6 :	: 0 :	: 0 :
: :	: :	: :

Ces premiers résultats indiquent des densités de germes nitrificateurs relativement faibles, à l'exception de l'échantillon n° 3, cependant les terres 2 et 4 présentent une activité nitrifiante non nulle.

2^e) - Afin de suivre dans le détail le développement de la nitrification (germes nitritants et germes nitratants) nous avons opéré suivant une technique basée sur la méthode mise au point par KAUFFMANN J. et BOQUEL G. (4).

Le même milieu de culture que précédemment a été réparti à raison de 25 cc dans des erlens de 100 cc et après stérilisation,ensemencé par 1 g. de terre. A l'aide du réactif de Griess on peut ainsi suivre journellement en prélevant une goutte du milieu de culture, les différentes phases de la nitrification.

On obtient ainsi des courbes (v. planche 1) qui rendent compte du temps de latence, et de la rapidité de la transformation biochimique de l'azote ammoniacal en azote nitreux puis nitrique.

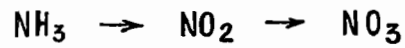
Parallèlement et d'une manière analogue nous avons cherché à suivre simplement la deuxième phase de la nitrification (nitratation) en remplaçant dans le milieu précédant le sulfate d'ammoniaque par du nitrite de potassium (0,1 %).

Les courbes obtenues diffèrent d'une terre à l'autre , non seulement par le temps de latence nécessaire au démarrage de la nitrification, mais aussi par le temps qui sépare le début de la fin de la nitrification. L'activité nitrifiante d'une terre peut donc être caractérisée par :

- le nombre de jours nécessaires pour que la présence des nitrites soit nettement décelable (temps de latence des germes nitritants).

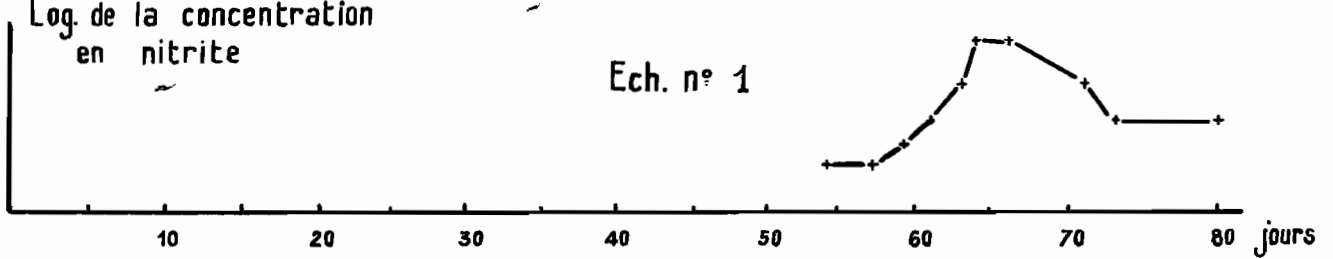
.../...

NITRIFICATION EN MILIEU LIQUIDE

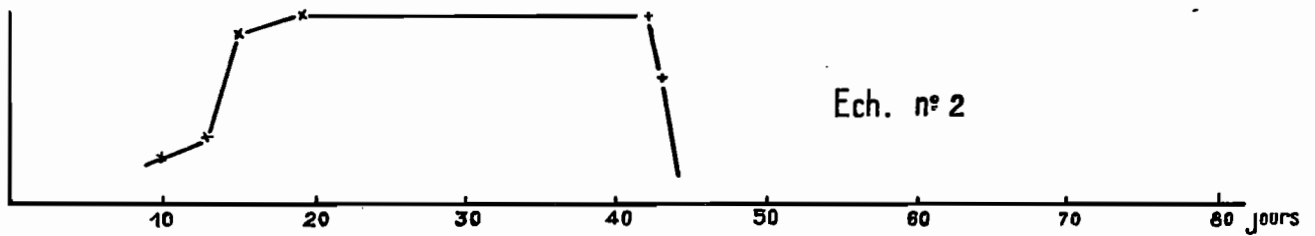


Log. de la concentration
en nitrite

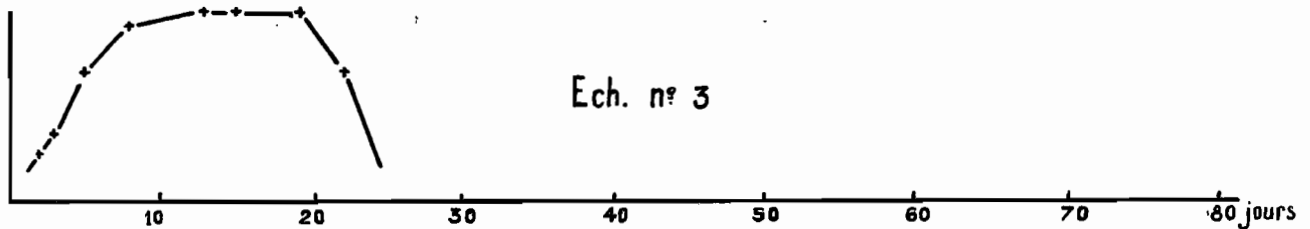
Ech. n° 1



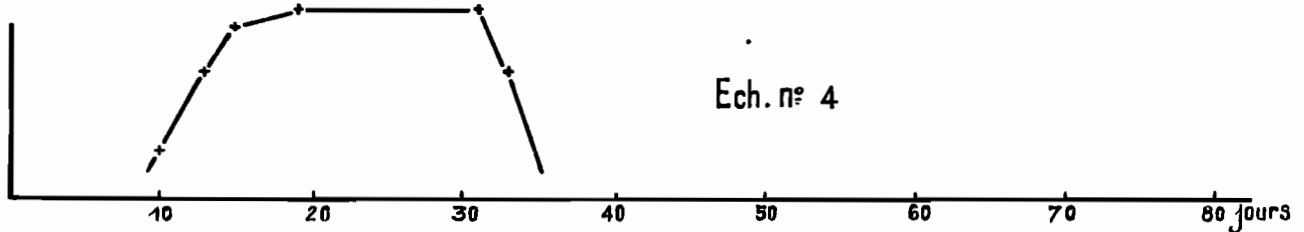
Ech. n° 2



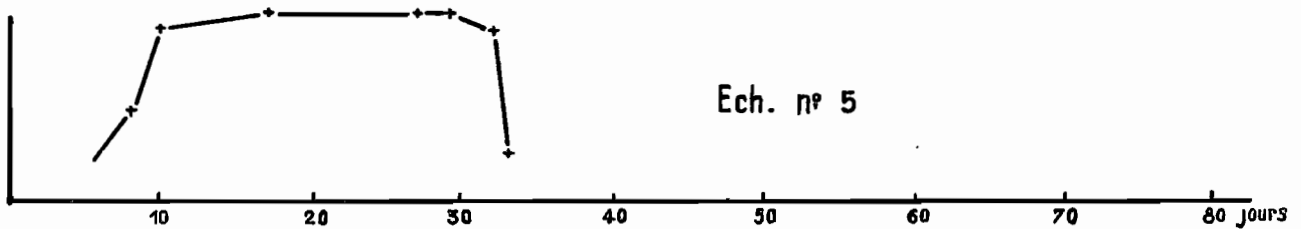
Ech. n° 3



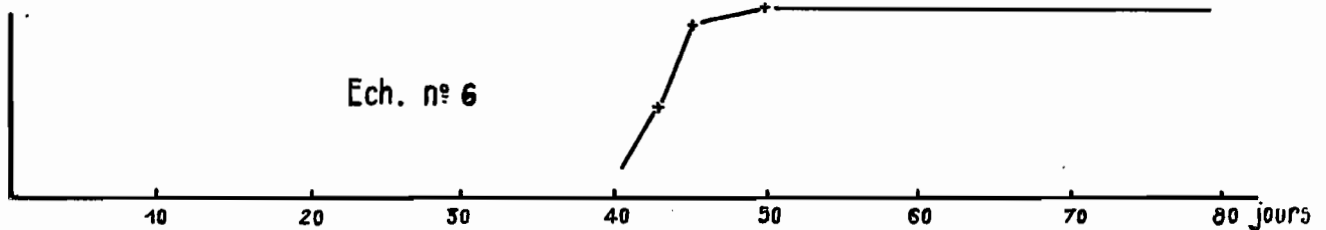
Ech. n° 4



Ech. n° 5



Ech. n° 6



- le nombre de jours nécessaires à la nitrification complète du milieu de culture ammoniacal : disparition des nitrites (et présence de nitrate).

- le nombre de jours nécessaires à la nitrification complète du milieu de culture contenant au départ du nitrite de potassium.

Ces trois chiffres traduisent donc l'aptitude des germes nitrificateurs à transformer l'azote ammoniacal en azote nitrique, et l'azote nitreux en azote nitrique.

Echantillon N°	NH ₃ → NO ₂ → NO ₃ Apparition des nitrites (nb.de jours)	NO ₂ → NO ₃ Disparition des nitrites (nb.de jours)	NO ₂ → NO ₃ Disparition des nitrites
1	(59)	(Supérieur à 100)	Supérieur à 75
2	11	75	69
3	3	22	15
4	10	33	24
5	8	31	16
6	52	79	43

Les valeurs présentées correspondent aux chiffres moyens obtenus à partir d'expériences faites en triple exemplaires. Les résultats entre parenthèse correspondent non plus à un résultat moyen mais à des résultats particuliers : la nitrification ne s'étant pas produite d'une manière analogue dans les différentes répétitions.

Il résulte de ces cultures en milieu liquide que sur les 6 échantillons une seule terre présente une bonne activité nitrifiante (n°3). Les terres 4 et 5 (sols forestiers) ont une activité moyenne, et les trois autres terres ont une activité médiocre à très faible. La terre n°2 qui présente un temps de latence moyen pour les germes nitrifiants, a une activité nitrifiante faible.

.../...

III.- Nitrification en terre enrichie (in vitro)

Les terres, placées en boîte de pétri, ont été soumises aux 3 traitements différents :

I. Terre enrichie en sulfate d'ammoniaque	(0,2 %)
II. Terre enrichie en sulfate d'ammoniaque	(0,2 %)
+ Solution minérale (pH 6) de Y. DOMMERGUES (2)	(2 cc %)
III. Terre enrichie en sulfate d'ammoniaque	(0,2 %)
+ Carbonate de calcium	(0,5 %)
+ Solution minérale de WINOGRADSKY	(2 cc %)

Les témoins ont été réalisés pour chacune des terres. L'humidité a été fixée à une fois et demi l'humidité équivalente, et maintenue à ce taux pendant la durée de l'expérience (1 mois).

Le tableau ci-joint (p. 8) donne les résultats moyens obtenus (en mg d'azote ammoniacal et nitrique, rapporté à 100 g. de terre sèche).

Le traitement III paraît favorable à la nitrification, spécialement pour la terre n°3 et 4. Nous constatons d'autre part que la perte d'azote (ammoniacal) en présence de carbonate de calcium, est très importante pour les sols sableux 5 et 6, mais elle est encore très élevée pour les terres 1 et 2 respectivement argilo-sableuse, et argileuse).

Le traitement 1 montre que la seule addition de sulfate d'ammoniaque n'est pas toujours suffisante pour déclencher une nitrification active (n°1,2,5 et 6), l'acidification de la terre par le sulfate d'ammoniaque en est peut-être la cause surtout pour les sols faiblement tamponnés (n° 1,5 et 6) ou à pH initial très bas (n°4).

La solution minérale pH 6 (traitement II) augmente faiblement le rendement de nitrification et indique une carence minérale générale.

La comparaison entre le traitement III et le traitement II semble indiquer que les germes nitrificateurs contenus dans les terres 2,5,6 ont leur action ralentie par le traitement au carbonate de calcium. Alors que pour les terres 1,3 et 4, le troisième traitement paraît nettement favorable.

NITRIFICATION EN TERRE ENRICHIE

- N - Minéral mg/100 g. de terre												
Ech.	I			II			III					
N°	Témoin	+ SO ₄ (NH ₄) ₂		+SO ₄ (NH ₄) ₂ +Sol.D(pH6)		+SO ₄ (NH ₄) ₂ +Sol.W.(pH7)		+ CO ₃ Ca				
	ammonia-	nitri-	minéral	ammonia-	nitrique	minéral	ammo-	nitri-	minéral	ammo-	nitri-	minéral
	cal	que	total	cal	total	total	niacal	que	total	niacal	que	total
106 A	1,9	0,5	2,4	44,8	0,3	45,1	43,3	0,9	44,2	23,7	3,3	27,0
206 A	4,9	0,5	5,4	46,7	0,9	47,5	43,3	1,9	45,2	36,3	1,4	37,7
306 A	4,5	0,7	5,2	40,6	10,5	51,1	29,3	15,8	45,2	0	45,6	45,6
406 A	7,0	4,7	11,7	51,4	2,6	54,0	47,5	5,1	52,6	26,9	16,4	43,3
506 A	3,7	2,3	6,0	47,2	1,4	48,6	43,8	1,8	45,5	13,5	1,4	14,9
606 A	4,0	0	4,0	47,6	0	47,6	41,9	0,9	42,8	8,4	0,5	8,9
:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:	:

Remarque : L'échantillon 306 A correspond à une terre de culture ayant reçu à la suite du défrichement une dose de calcaire broyé de 3t./ha - (Oct.1959).

L'étude de l'activité nitrifiante de cette terre au cours de l'année qui a suivi la mise en culture a été comparée au témoin savane(terre n°2),(Tableau ci-dessous),en utilisant la méthode de culture en milieu liquide (cf.p.3).

- NITRIFICATION EN MILIEU LIQUIDE -

		NH3 → NO2		(Temps de latence)				
: Date du Prélèvement		: Nov.59.	: Janv.60.	: Mars 60.	: Mai 60.	: Juil.60.	: Sept. 60.	: Nov.60.
: Echantillon N°		: 200	: 201	: 202	: 203	: 204	: 205	: 206
: 2.(Témoin Savane)		: 17 jours	: 23	: 30	: 26	: 12	: 50	: 11
: 3.(Terre de culture		: 300	: 301	: 302	: 303	: 304	: 305	: 306
: ayant reçu 3 T.de		-----						
: calcaire broyé/ha)		: 11	: 6	: 5	: 3	: 4	: 4	: 3
		NH3 → NO2 → NO3		(fin de la nitrification)				
: 2		: >60 jours	: >60	: >60	: 49	: >60	: >60	: >60
: 3		: >60	: 30	: 31	: 25	: 23	: 19	: 22

La mise en culture, avec amendement calcaire a eu une action considérable sur les germes nitrificateurs du sol qui non seulement sont devenus beaucoup plus actifs, mais paraissent s'être adaptés, puisque l'enrichissement de la terre n°3 par le traitement III a un effet nettement positif sur la nitrification, tandis que pour la terre n°2 il n'en est rien et le traitement II donne même un résultat légèrement supérieur.

Ceci constitue donc une vérification pour les terres de cultures du NIARI des théories de HALL (cf. dans (5) p. 183), relatives à l'influence des amendements calcaïques sur l'activité nitrifiante des terres acides.

- C O N C L U S I O N -

Si nous examinons les quantités d'Azote nitrique présentes dans ces sols au cours de l'année, on obtient, pour la moyenne de 7 prélèvements, réalisés environ tous les deux mois, les chiffres suivants, exprimés en mg. d'Azote nitrique et rapportés à 100 g. de terre sèche :

Ces valeurs ne permettent pas d'évaluer ni de comparer l'activité nitrifiante des sols; car ces sols diffèrent entre eux par leur perméabilité, la nature et l'importance de la végétation, et l'on sait d'autre part que les variations de la teneur en nitrate du sol sont très rapides.

Sol n°	N nitrique
1	0,6
2	0,8
3	1,0
4	1,0
5	0,4
6	0,4

Pendant ces teneurs ne sont pas négligeables et révèlent une nitrification assez active, surtout si l'on considère que les "indices de drainage calculé" de ces terres sont relativement élevés (de 270 à 1270) et que par ailleurs les germes réduisant les nitrates sont relativement nombreux (10^4 à 10^6 par gramme de terre).

La comparaison de ces résultats avec ceux obtenus expérimentalement permet d'établir certains recoupements, mais fait aussi apparaître des contradictions; par exemple la terre n°4 qui semble présenter une activité nitrifiante non négligeable, aurait une densité de germes nulle par la méthode de culture sur gel de silice, et très faible par la méthode de numération en milieu liquide.

Il est possible que cette contradiction apparente puisse s'expliquer par des inhibitions dues peut-être à la présence de carbonate de calcium dans ces milieux de culture, alors que les germes de ces sols vivent dans un milieu acide (pH 4) et très pauvre en calcium; les remarques faites page 9 à propos de la terre n°3 qui a reçu un amendement calcique sembleraient le prouver.

.../...

Faut-il pour cela abandonner les théories classiques sur la physiologie des germes nitrificateurs ? Les cultures en milieu liquide avec ensemencement massif (1 g. de terre) semblent prouver le contraire puisque dans ces conditions on obtient pour certaines terres du Congo une nitrification aussi active que pour des terres moyennes de pays tempérés.

En l'absence de justification portant sur des essais d'engrais ammoniacaux au champ, il n'est pas possible de décider si cette dernière méthode présente un intérêt pratique certain, mais l'on peut considérer par contre que les méthodes de numération soit sur silico-gel, soit en milieu liquide paraissent défectueuses pour les germes présents dans la plupart des terres étudiées.

Les essais en terre mouillée montreraient par ailleurs que la transformation des engrais ammoniacaux dans ces sols se fait généralement mal, et que l'apport simultané de chaux ou de calcaire n'est pas toujours suffisant pour favoriser immédiatement la nitrification.

Par contre, pour les sols argileux des plateaux de la Vallée du NIARI, l'influence du défrichement suivi d'amendement calcaire paraît nettement bénéfique pour l'activité nitrifiante de ces sols dès le 3ème mois après l'épandage de calcaire.

- BIBLIOGRAPHIE -

- 1 - COPPIER et de BARJAC; Ann. Inst. Pasteur 1952 - 83 - 118.
- 2 - DOMMERGUES Y.; Influence du défrichement de la forêt suivi d'incendie, sur l'activité biologique du sol. Mém.Inst.Scient.Madagascar D. IV fasc. 2 1952.
- 3 - DOMMERGUES Y.; Numération des germes telluriques sur milieux électifs au silico-gel. VIème Congrès Inter. Sc. du Sol. Paris III, p.393.
- 4 - KAUFFMANN J. et BOQUEL G.; Nouvelle méthode de détermination du pouvoir nitrificateur d'une terre. Ann. Inst. Pasteur - 81 - 1951, p. 667-669.
- 5 - WAKSMAN S.; Soil microbiology. 1957 John Wiley et Sons New-York.
- 6 - WINOGRADSKY S.; Microbiologie du Sol. Masson et Cie, Paris.

-:-:-:-:-

Destinataires

- Directeur Général ORSTOM (2) ✓
- Directeur I.E.C.
- Chef du Service des Sols
- Service Pédologique (10)
- G. MARTIN
- P. de BOISSEZON
- D. 38
- Centre de BANGUI
- " de Yaoundé
- " de Pointe-Noire
- " de Fort-Lamy
- " de Libreville
- Prof. TROCHAIN
- Service Agriculture Pointe-Noire
- Station Agronomique de Loudima.