

Mise en évidence de la distribution log normale de l'activité réductrice d'acétylène in situ

Pierre A. ROGER, Pierre A. REYNAUD
et Gérard E. RINAUDO

O.R.S.T.O.M., B.P. 1386, Dakar, Sénégal

Patrice E. DUCERF

I.S.R.A.-C.R.A., Bambey, Sénégal

Taïrou M. TRAORE

E.N.S.-C.P.S., B.P. 241, Bamako, Mali

RÉSUMÉ

Après un rappel de la signification de la liaison entre la moyenne et la variance et de l'utilisation de l'expression mathématique de cette liaison pour définir une loi de distribution et pour normaliser cette distribution, le calcul de la liaison moyenne variance est employé pour étudier la loi de distribution des activités réductrices d'acétylène in situ.

Quatre méthodes de mesure ont été appliquées dans sept biotopes différents. Les résultats indiquent que l'activité réductrice d'acétylène se répartit suivant une loi log-normale ou proche d'une loi log-normale quelle que soit la méthode de mesure utilisée et le type d'organisme concerné (fixateurs libres ou symbiotiques, rhizosphériques ou non).

Ce résultat indique qu'une normalisation préalable des données par une transformation logarithmique est indispensable pour calculer un intervalle de confiance ou pour appliquer à ces mesures un test statistique paramétrique.

MOTS CLÉS : Réduction acétylène - Mesures in situ - Intervalle de confiance - Distribution log-normale.

ABSTRACT

The study of the correlation between means and variances of in situ measurements of acetylene reducing activity, indicates that this biological activity has a log-normal distribution.

The same result is obtained independently of the method of measurement utilized, whether on free-living, symbiotic, rhizospheric and non-rhizospheric organisms.

Implications on confidence interval calculation and on parametric statistical tests utilisation are discussed.

KEY WORDS : Acetylene reducing activity - in situ measurements - confidence interval - log-normal distribution.

INTRODUCTION

Depuis sa découverte, la méthode d'évaluation de la fixation de N_2 par la mesure de l'activité réductrice d'acétylène a vu son utilisation se développer d'une façon exponentielle (Hardy, *et al.*, 1973) qui s'explique par une grande facilité d'emploi et un coût peu élevé.

Différentes variantes technologiques ont été mises au point afin d'adapter cette méthode aux mesures in situ (Stewart *et al.*, 1967; Sugahara *et al.*, 1971; Waughman, 1971; Balandreau *et al.*, 1971; Flett *et al.*, 1976). Les résultats des mesures sont le plus fréquemment présentés sous forme d'une moyenne sur n répétitions et d'un intervalle de confiance calculé au moyen de la variable t de Student Fischer.

Cette façon de calculer implique nécessairement que la variable mesurée se répartisse suivant une loi normale, condition indispensable à l'application des test statistiques paramétriques.

Or le traitement statistique des dénombrements d'organismes dans les échantillonnages du milieu naturel montre le plus souvent que ces distributions sont très éloignées de la normalité (Frontier, 1973). Si l'on admet qu'il existe une corrélation entre l'activité et la densité microbienne in situ on ne peut admettre sans vérification que la répartition de l'activité réductrice d'acétylène suit une loi normale.

Ce travail se propose d'étudier la liaison entre les moyennes et les variances de séries de mesures d'activité réductrice d'acétylène effectuées in situ. Il met en évidence la non-normalité de distribution de cette activité biologique; les conséquences sur la validité d'application des tests statistiques paramétriques courants sont ensuite discutées.

1. THÉORIE DE L'ÉTUDE DE LA LIAISON MOYENNE-VARIANCE

La détermination de la loi de répartition d'une variable s'effectue classiquement à partir d'un histogramme. Toutefois l'obtention de données en nombre suffisant pour établir un histogramme précis est rarement possible en microbiologie du sol. Pour des raisons techniques il est difficile de réaliser simultanément la numération d'un organisme ou la mesure d'une activité biologique sur cent à deux cent échantillons de sol extraits d'un même biotope.

Par contre si l'on dispose d'un assez grand nombre de petits groupes de répétitions, l'étude de la liaison moyenne-variance permet une détermination indirecte des lois de répartition des variables biologiques.

A la limite deux répétitions sont suffisantes pour calculer une moyenne m et une variance s^2 ; l'étude de leur liaison ($m = f(s^2)$?) pourra être facilement réalisée en utilisant des résultats issus d'expériences effectuées à des dates et en des lieux différents mais pour lesquelles un protocole identique a été appliqué.

Rappelons que pour une distribution normale, moyenne et variance sont indépendantes et que la non normalité de distribution des organismes dans les biotopes marins et terrestres se traduit par une liaison entre la moyenne et la variance telle que les points (m, s^2) se disposent sur un graphique log - log en un nuage rectilinéaire d'équation.

$$s^2 = am^b \text{ (loi de Taylor, 1961)}$$

La détermination des paramètres de cette équation permet de calculer la transformation qui normalise les distributions: en effet si une famille de distributions est caractérisée par une liaison moyenne-variance de la forme $s^2 = f(m)$; la transformation qui normalise les distributions est:

$$g(x) = \int^x \frac{dm}{\sqrt{f(m)}}$$

(cf. Kendall et Stuart, vol. 1, p. 232, vol. 3, p. 38).

Dans le cas d'une liaison:

$$s^2 = am^b \quad g(x) = \int^x \frac{dm}{\sqrt{am^b}}$$

$$\text{si } b \neq 2 \quad g(x) = \frac{a}{1-b/2} \cdot x^{1-b/2} = k \cdot x^{1-b/2}$$

En considérant que le fait de multiplier la variable x par une constante k n'altère pas l'indépendance moyenne-variance ($m_{kx} = k \cdot m_x$ $s^2_{kx} = k^2 s^2_x$) on $g(x) = x^{1-b/2}$.

— Si $b = 1$ $g(x) = \sqrt{x}$ $m = s^2$.

Ce résultat traduit une répartition suivant une loi de Poisson.

— Si $b = 2$ $g(x) = \text{Log } x$.

Ce résultat traduit une répartition suivant une loi log-normale.

Pratiquement, le changement de base logarithmique étant une opération linéaire qui n'altère pas l'indépendance moyenne-variance, on prendra $g(x) = \log x$.

— Si $b = 3$ on prendra $g(x) = 1/\sqrt{x}$.

Pour les autres valeurs de b la transformation $x^{1-b/2}$ peut toujours être utilisée; toutefois elle est d'un emploi peu facile et l'on aura intérêt à essayer la transformation $\log(x + x_0)$ ou x_0 est une constante dont la détermination peut être faite graphiquement (Merny *et al.*, 1970).

2. MÉTHODES ET TECHNIQUES

Quatre méthodes de mesure de réduction d'acétylène in situ ont été utilisées:

2.1. MESURES SOUS CYLINDRE « D'ALTUGLAS ».

Les mesures sont effectuées, suivant une technique voisine de celle de Balandreau *et al.* (1971), dans des cylindres d'« Altuglas » de 10 cm de haut et de 15 cm de diamètre enfoncés de 5 cm dans le sol. A la partie supérieure, un orifice fermé par un bouchon en caoutchouc permet injections et prélèvements. L'acétylène est injecté à la seringue en quantité connue, suffisante pour obtenir une concentration voisine de 10 % dans le cylindre.

Cette méthode a été utilisée dans une rizière engorgée non submergée juste après la récolte du riz. La fixation de N_2 mesurée correspond principalement à l'activité des Cyanophycées. 27 mesures à vingt répétitions ont été effectuées avec cette méthode.

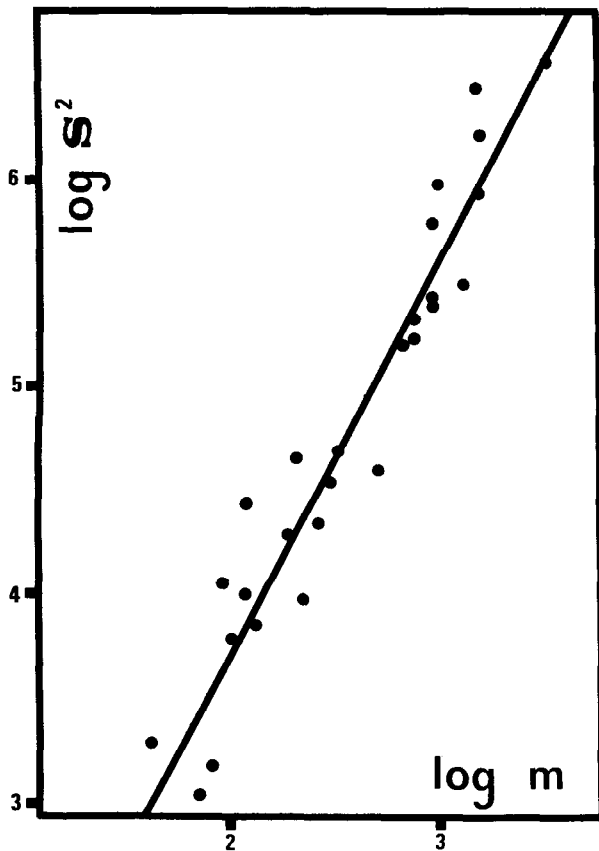


Fig. 1. — Liaison moyenne variance sur 27 groupes de mesures de réduction de l'acétylène in situ par la méthode de Balandreau *et al.* (1971) (Cyanophycées).

2.2. MESURES DANS DES FLACONS SERUM

Cette technique est voisine de celle utilisée par Stewart *et al.* (1967) : trois carottes de 9 cm² de surface correspondant au premier centimètre de sol sont déposées dans un flacon serum de 500 ml. Les flacons sont posés à plat à l'endroit du prélèvement. La réaction commence avec l'injection de 50 ml d'acétylène. Les prélèvements de l'atmosphère gazeuse sont effectués après 30 et 60 minutes.

Cette méthode a été utilisée dans quatre zones d'un sol sableux engorgé, différant par la strate herbacée et le profil hydrique. Dans trois des zones la fixation correspond principalement à l'activité des Cyanophycées; dans la quatrième, fixation rhizosphérique et fixation algale ont approximativement la même importance.

Dans chaque zone 24 mesures à 4 répétitions ont été réalisées. En raison de la grande similitude des résultats, ils ont été regroupés sans distinction sur le même graphique (fig. 2).

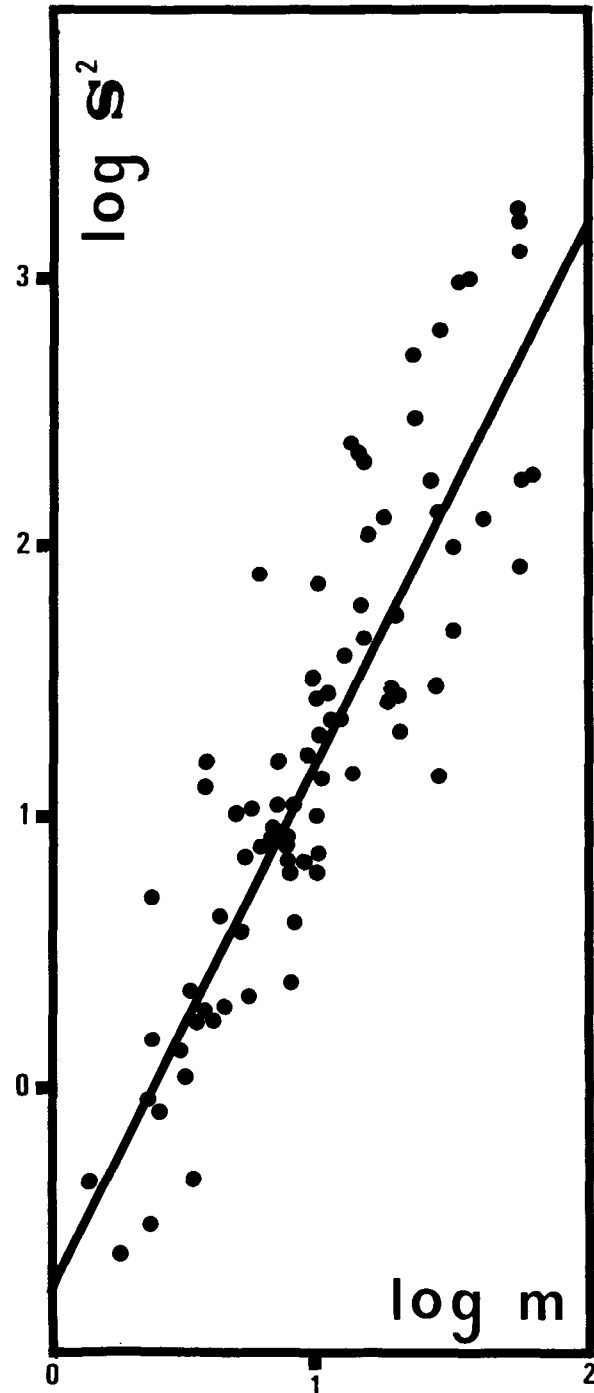


Fig. 2. — Liaison moyenne-variance sur 96 groupes de mesures de réduction de l'acétylène in situ par la méthode de Stewart *et al.* (1967) (Cyanophycées).

2.3. MESURES SOUS SACS PLASTIQUES

Cette technique mise au point pour évaluer la fixation de N_2 dans la rhizosphère du riz (Rinaudo *et al.*, 1975) consiste à coiffer le pied de riz avec un sac plastique de taille adéquate. Ce sac est maintenu sur la plante au moyen d'un bracelet de caoutchouc. L'étanchéité du système est assurée par l'eau de submersion. L'acétylène est injecté à travers une rondelle de caoutchouc collée sur le sac. Les prélèvements sont effectués après 3, 5 et 7 heures.

Cette méthode a été utilisée au cours d'un cycle de culture dans une rizière de la Région du Fleuve (Sénégal), l'activité mesurée correspond uniquement à une fixation rhizosphérique.

Neuf mesures à neuf répétitions ont été effectuées.

2.4. MÉTHODE BALANDREAU

La méthode décrite par Balandreau (1971) a été utilisée pour suivre la variation de l'activité réductrice d'acétylène d'une culture d'arachide dans une parcelle expérimentale de l'ISRA (Bambey, Sénégal) 36 mesures à 6 - 5 ou 4 répétitions ont été effectuées, chaque mesure portant sur un pied d'arachide.

3. RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. LIAISON MOYENNE-VARIANCE

L'étude de la liaison moyenne-variance pour les quatre méthodes utilisées et dans les six biotopes étudiés (fig. 1-2-3-4) aboutit dans tous les cas au même résultat : les points (m , s^2) se répartissent suivant un nuage rectilinéaire de pente voisine de 2.

Ce résultat indique que :

1) La moyenne et la variance sont liées par une relation de la forme $\log s^2 = k \log m$ avec $k \approx 2$ soit approximativement $s^2 = km^2$.

2) La loi de distribution de l'activité réductrice d'acétylène, qu'il s'agisse de fixateurs, soit libres (rhizosphériques ou non) soit symbiotiques, est une loi log-normale ou voisine d'une loi log-normale.

3) Les conditions d'application des tests paramétriques ne sont pas réalisées; en particulier le calcul direct d'un intervalle de confiance au moyen de la variable t de Student-Fischer n'est pas valide.

4) La transformation $y = \log x$ peut être envisagée pour normaliser les données.

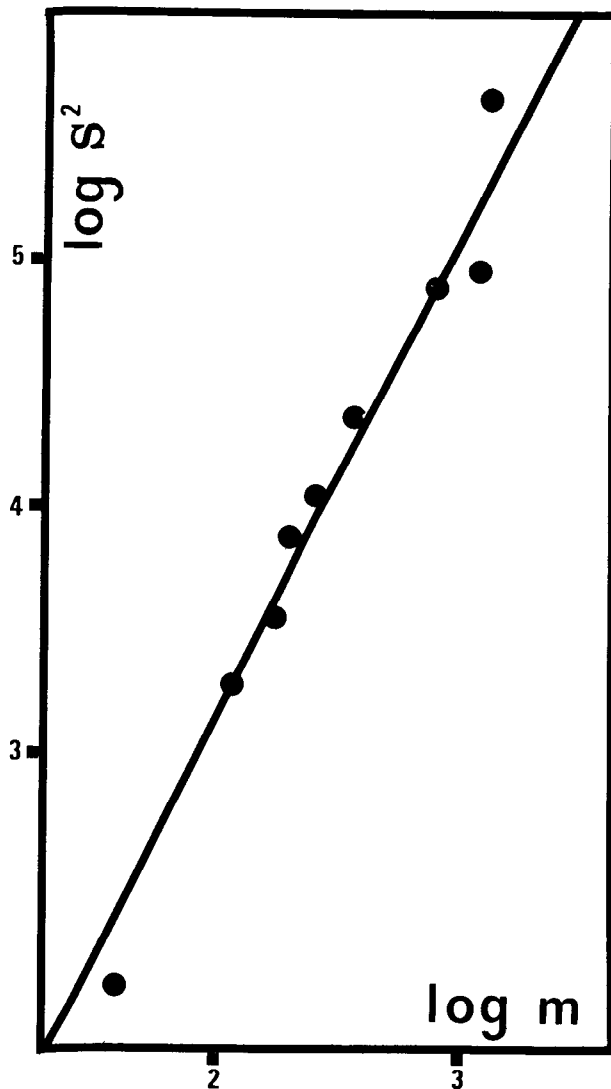


Fig. 3. — Liaison moyenne-variance sur 9 groupes de mesures de réduction de l'acétylène in situ par la méthode de Rinaudo *et al.* (Rhizosphère du riz).

3.2. NORMALISATION DES DONNÉES

Comme l'indique une droite de Taylor de pente voisine de 2, la transformation logarithmique est la plus apte à normaliser les données.

Il convient toutefois de s'assurer de la validité de cette transformation qui, si elle est appliquée sans discernement peut conduire à des erreurs (Merny *et al.*, 1970).

Cette vérification peut, en première approximation, être effectuée soit au niveau unitaire d'une répartition,

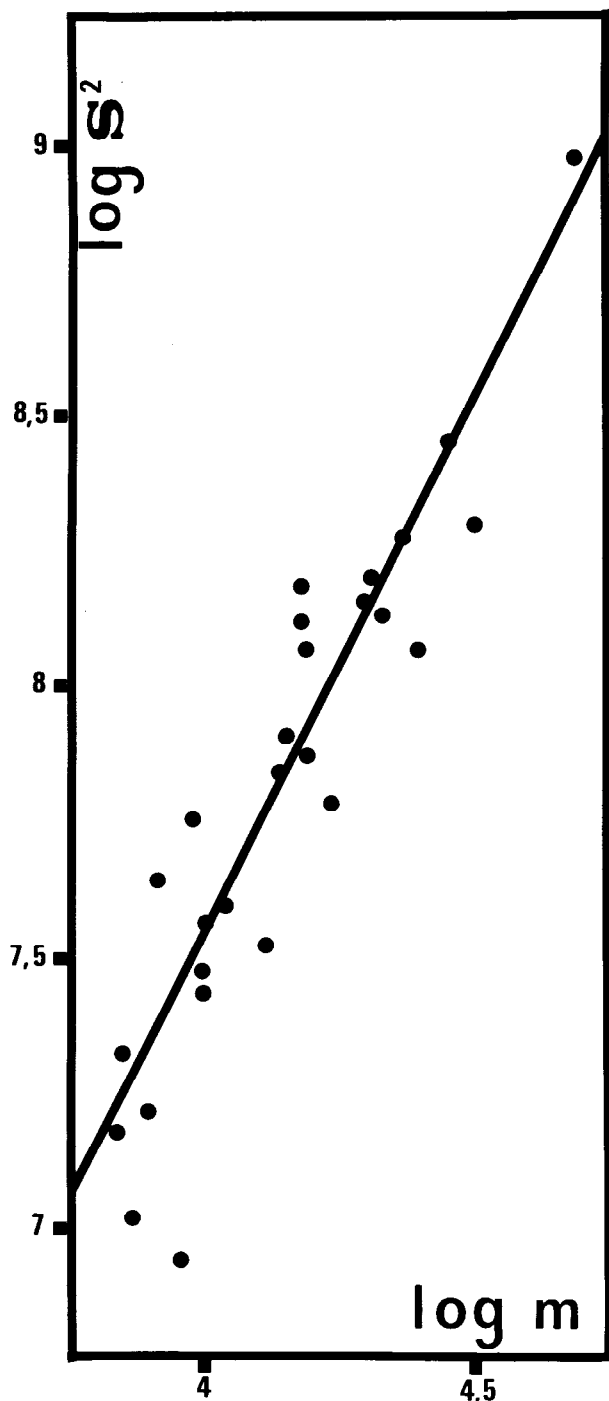


Fig. 4. — Liaison moyenne variance sur 36 groupes de mesures de : 6, 5, 4 répétitions in situ par la méthode de Balandreau *et al.* (1971) (Arachide).

soit d'une façon plus générale au niveau de l'étude de la liaison moyenne-variance.

La figure 5 donne un exemple de transformation logarithmique des données. L'histogramme des données transformées est compatible avec une loi normale. La validité de la transformation pourra être testée par un test graphique d'anamorphose (cf. Schwartz, D., 1963, p. 253). Toutefois cette vérification manque de précision si l'on ne dispose pas d'un nombre suffisamment élevé de répétitions, ce qui est le cas le plus fréquent.

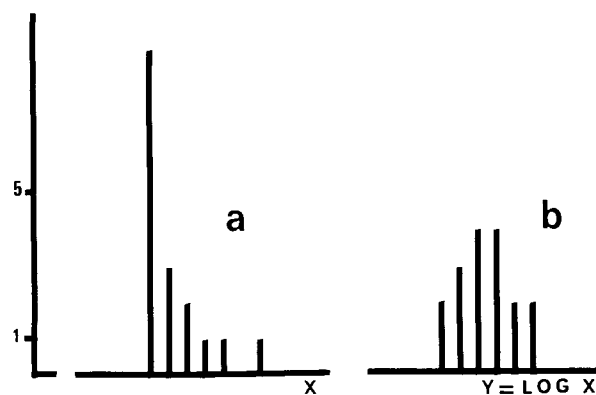


Fig. 5. — Histogrammes de 17 mesures simultanées de la réduction de l'acétylène in situ par la méthode de Balandreau *et al.* (1971) (Cyanophycées) : A : données non transformées; B : données transformées par $y = \log x$.

La validité de la transformation peut aussi être vérifiée en étudiant la liaison entre m et s^2 sur les données transformées. Si la transformation est justifiée elle rend m et s^2 indépendants. Cette indépendance peut être testée par le calcul du coefficient de corrélation r sur les groupes ($m_y \cdot s_y^2$).

La fig. 6 où sont reprises les valeurs de la fig. 1 après transformation logarithmique, montre la disparition de la liaison moyenne-variance : la valeur du coefficient r , indique une absence de corrélation.

Ces vérifications graphiques (aspect de l'histogramme, test graphique de normalité, liaison moyenne-variance des données transformées et calcul de r) sont des vérifications approximatives qu'il convient cependant de ne pas négliger car elles sont d'une grande facilité d'emploi et peuvent éviter des mécomptes.

Une vérification plus précise sera effectuée lors du calcul de l'intervalle de confiance d'une mesure. Elle consiste à s'assurer que la moyenne des données trans-

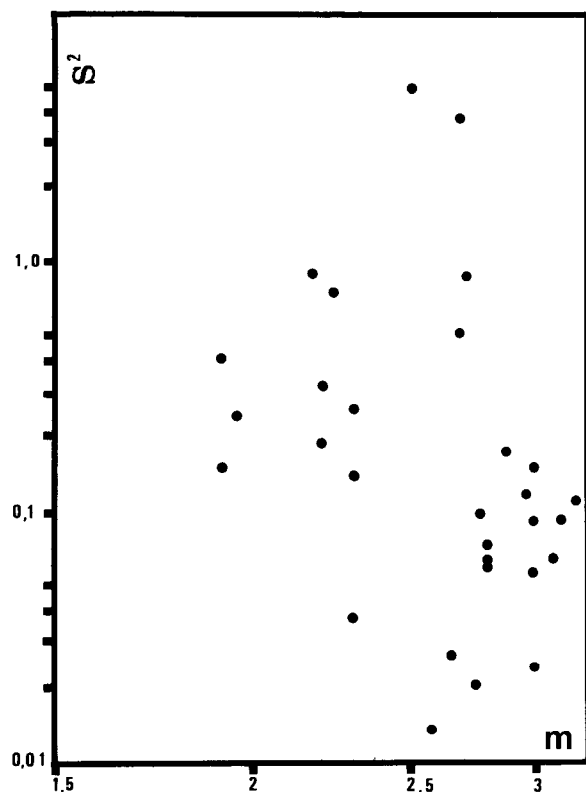


Fig. 6. — Liaison moyenne - variance sur les données de la figure 1 transformées par $y = \log x$.

formées ne diffère pas significativement, après retransformation, de la moyenne des données initiales.

Dans le cas de la transformation logarithmique $y = \log x$ on doit avoir :

$$\bar{x} \neq C \cdot 10^{\bar{Y}}$$

formule dans laquelle :

$$x = \frac{\sum x}{n} = \text{moyenne des données non transformées}$$

$$y = \frac{\sum \log x}{n} = \frac{\sum y}{n} = \text{moyenne des données transformées.}$$

C'est le coefficient qui corrige le biais dû à la retransformation (Neyman et Scott, 1960) et dont la formule simplifiée est :

$$10^{1,15129 \cdot \frac{n-1}{n} \cdot s^2 y} \quad \left(1,15129 = \frac{1}{2} \text{Ln } 10\right)$$

(Quenouille, 1953)

en effet rappelons que :

$$\frac{\sum \log x}{n} \neq \log \frac{\sum x}{n}$$

Si la transformation $y = \log x$ n'est pas applicable on essaiera la transformation $y = \log (x + x_0)$ ou x_0 est une constante que l'on peut déterminer graphiquement (Merny *et al.*, 1970).

3.3. INTERVALLE DE CONFIANCE

Le calcul de l'intervalle de confiance d'une moyenne après normalisation des données par les transformations $y = \log x$ et $y = \log (x + x_0)$ est décrit en détail par ailleurs (Roger, Reynaud, 1978; Merny, Dejardins, 1970).

De même ces travaux indiquent la précision attendue en fonction de la variance des données transformées et du nombre de répétitions. Nous ne reprendrons pas ces résultats et nous nous contenterons de rappeler :

1) Que l'intervalle de confiance calculé à partir des données normalisées est généralement supérieur à celui obtenu en appliquant aux données brutes le test de Student-Fischer alors que les conditions d'application ne sont pas réalisées.

2) Que l'intervalle de confiance est dissymétrique par rapport à la moyenne; cette dissymétrie étant d'autant plus marquée que la variance de la variable transformée est élevée et que le nombre de répétitions est faible (Roger, Reynaud, 1978).

CONCLUSION

L'étude de la liaison moyenne-variance sur des groupes de mesures de l'activité réductrice d'acétylène in situ indiquent que cette activité se répartit suivant une loi log-normale ou proche d'une loi log-normale quelle que soit la méthode de mesure utilisée et le type d'organisme concerné (fixateurs libres ou symbiotiques, rhizosphériques ou non).

Ce résultat indique qu'une normalisation préalable des données par transformation logarithmique est indispensable pour calculer un intervalle de confiance ou d'une façon générale pour appliquer un test statistique paramétrique aux résultats.

Manuscrit reçu au Service des Publications le 12 juillet 1977

BIBLIOGRAPHIE

BALANDREAU (J.), DOMMERCUES (Y.), 1971. — Mesure in situ de l'activité nitrogénasique. *C. R. Acad. Sci. Paris*, t. 273 : 2020-2023 D.

- FLETT (R.J.), HAMILTON (R.D.), CAMPBELL (N.E.R.), 1976. — Aquatic acetylene-reduction techniques : solution to several problems. *Can. J. Microbiol.*, 22, 1 : 43-51.
- FRONTIER (S.), 1973. — Etude statistique de la dispersion du zooplancton. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 12 : 229-262.
- HARDY (R.W.F.), BURNS (R.C.), HOLSTEN (R.D.), 1973. — Applications of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil. Biol. Biochem.*, 5 : 47-81.
- KENDALL (M.G.), STUART (A.), 1963-1968. — The advanced theory of statistics, 3 vol., Griffin, London.
- MERNY (G.), DEJARDINS (J.), 1970. — Les Nématodes phytoparasites des rizières inondées de Côte d'Ivoire. II. Essai d'estimation de l'importance des populations. *Cah. ORSTOM, sér. Biol.*, n° 11 : 45-67.
- NEYMAN (J.), SCOTT (E.), 1960. — Correction for bias introduced by a transformation of variables. *Ann. Math. Stat.*, 31 : 643-655.
- QUENOUILLE (M.H.), 1953. — The design and analysis of experiment, London, Ch. Griffin, 13, 356 p.
- RINAUDO (G.), FARES-HAMAD (I.), DOMMERCUES (Y.), 1975. — N₂ fixation in the rice rhizosphere : methods of measurement; practices suggested to enhance the process. The Proceedings of the Conference on Biological Nitrogen Fixation in Farming Systems of the Humid Tropics (sous presse), Ibadan, 1975.
- ROGER (P.A.), REYNAUD (P.A.), 1978. — La numération des Algues en sol submergé : loi de distribution et problèmes d'échantillonnage. *Rev. Ecol. Biol. Sol* (sous presse).
- SCHWARTZ (D.), 1963. — Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Ed. Méd. Flammarion, Paris, 289 p.
- STEWART (W.D.P.), FITZGERALD (G.P.), BURRIS (R.H.), 1967. — In situ studies on N₂ fixation using the acetylene reduction technique. *Proc. Ntl. Acad. Sci.*, 58, 5 : 2071-2078.
- SUGAHARA (I.), KAWAI (A.), 1971. — Microbiological studies on nitrogen fixation in aquatic environment. V : modification of acetylene method for the measurement of in situ rate of nitrogen fixation. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fisheries*, 37, 11 : 1088-1092.
- TAYLOR (R.L.), 1961. — Aggregation, variance and the mean. *Nature*, London, 189 : 732-735.
- WAUGHMAN (C.J.), 1971. — Field use of the acetylene reduction assay for nitrogen fixation. *Oikos*, 22 : 111-113.