

Note sur le réemploi d'un même échantillon pour les mesures journalières de réduction de l'acétylène par les Cyanophycées

Tahirou M. TRAORE

Ecole Normale Supérieure, B.P. 241, Bamako, Mali

Pierre Adrien REYNAUD et Pierre Armand ROGER
O.R.S.T.O.M., B.P. 1386, Dakar, Sénégal

MOTS CLÉS : Réduction d'acétylène - techniques.

KEY WORDS : Acetylene reducing activity - technics.

INTRODUCTION

Depuis sa mise au point, la méthode d'évaluation de la fixation de N_2 par la mesure de réduction d'acétylène (Hardy, 1967) a vu son utilisation se développer d'une façon exponentielle (Hardy, 1973) qui s'explique par une grande facilité d'emploi et un coût peu élevé.

L'obtention de cycles journaliers de fixation précis et dont les valeurs soient extrapolables dans le cas de mesures *in situ*, peut nécessiter la réalisation d'un nombre relativement élevé de répétitions. Dans ce cas la possibilité de réemployer les mêmes échantillons au cours de la journée simplifie le mode opératoire.

La présente note a pour but de démontrer que ce réemploi n'affecte pas de façon significative les mesures effectuées sur les Cyanobactéries, si l'on respecte certaines précautions.

1. MATÉRIEL ET MÉTHODES

1.1. MESURES IN SITU

1.1.1. Biotope étudié

Les mesures ont été effectuées à Bamako en novembre 1976 sur une rizière engorgée non submergée juste

après la récolte du riz. La flore algale totale était bien développée avec 10^6 germes/g sol sec. La flore algale fixatrice ($2,5 \cdot 10^5$ germes/g sol sec) était composée principalement d'*Anabaena* sp. (espèce dominante) et de *Cylindrospermum* sp., *Westiellopsis* sp. et *Nostoc* sp. (espèces associées).

1.1.2. Dispositif de mesure

Les mesures sont effectuées suivant une technique voisine de celle de Balandreau (1969) dans des cylindres d'« Altuglas » de 10 cm de haut et de 15 cm de diamètre; à 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. Les prélèvements sont effectués au moyen de tubes « Vacutainers ».

1.1.3. Protocole expérimental

Deux séries de dix cylindres ont été utilisées pour effectuer six mesures au cours d'une même journée.

Après chaque mesure, les cylindres de la première série ont été déplacés; ceux de la deuxième série ont été enlevés pendant environ une heure puis ont été remis exactement à la même place.

Les prélèvements sont effectués au temps zéro (injection de C_2H_2) et après trente minutes d'incubation. Les moyennes des deux séries sont comparées au moyen du test de Student-Fischer (Schwartz, 1963).

1.2. MESURES SUR UNE SOUCHE UNIALGALE

1.2.1. Matériel et technique de mesure

Les mesures sont effectuées sur une culture unalgale d'*Anabaena iyengarii* isolée d'un sol de rizière du Mali (Traore et coll., 1975). Avant chaque prélèvement la culture est homogénéisée. L'échantillon (1 ml) est placé dans une fiole de 12 ml, sous une atmosphère air-acétylène (9/1; v/v); l'éclairage est d'environ 2 000 lux. Les prélèvements gazeux sont effectués quinze minutes après l'injection de l'acétylène.

1.2.2. Protocole

Au cours d'une période de douze heures six mesures ont été effectuées sur six échantillons de 1 ml séparés en deux séries. Les échantillons de la première série sont renouvelés après chaque mesure; ceux de la seconde série sont réutilisés pour les six mesures.

Entre chaque mesure les flacons sont ouverts et ventilés. Les moyennes des deux séries sont comparées au moyen du test t de Student-Fischer.

2. RÉSULTATS

2.1. MESURES IN SITU

Le test de Student-Fischer n'est applicable qu'à des valeurs dont la distribution suit ou est assimilable à une loi normale. Le simple examen de l'histogramme d'une série de vingt mesures effectuées sur la même rizière (fig. 1 a) fait rejeter l'hypothèse de normalité. Il faut donc rechercher la transformation qui normalise les données.

L'étude de la liaison moyenne - variance sur 27 groupes de mesures simultanées effectuées par ailleurs sur la même parcelle à différents moments du cycle (fig. 2) montre qu'il existe une liaison moyenne-variance d'équation : $\log s^2 - 4,67 = 1,88 (\log m - 2,50)$.

La pente, voisine de 2 indique que la transformation logarithmique peut être envisagée pour normaliser les données. En réalité la transformation $y = \log x$ est une transformation approchée ($1,88 < 2$). On vérifie cependant par examen de l'histogramme des données transformées (fig. 1 b) et par un test graphique (fig. 3) (Schwartz, 1963) que la transformation $y = \log x$ est acceptable.

Dans ces conditions le test de Student-Fischer doit être appliqué au \log des activités mesurées in situ. Les

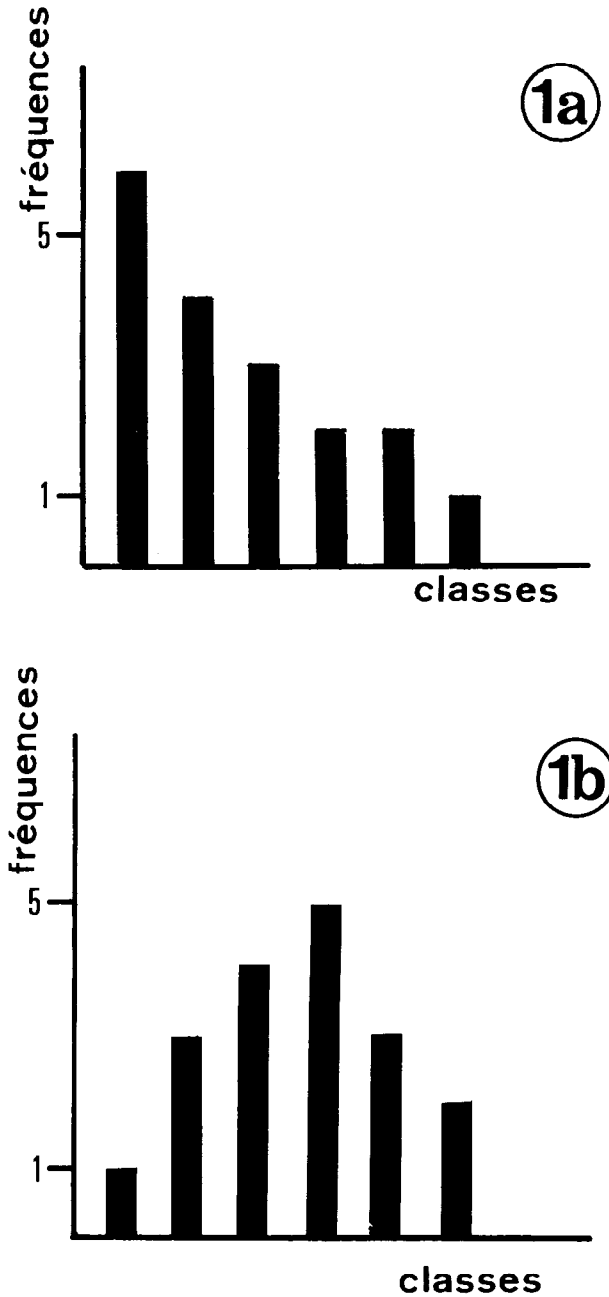


Fig. 1. — Histogramme de 20 mesures simultanées de réduction d'acétylène effectuées in situ. 1a : données non transformées; 1b : données après transformation $y = \log x$.

résultats sont reportés au tableau I. Sachant que la valeur limite de t est de 2,101 on peut conclure que les moyennes calculées ne sont pas significativement différentes.

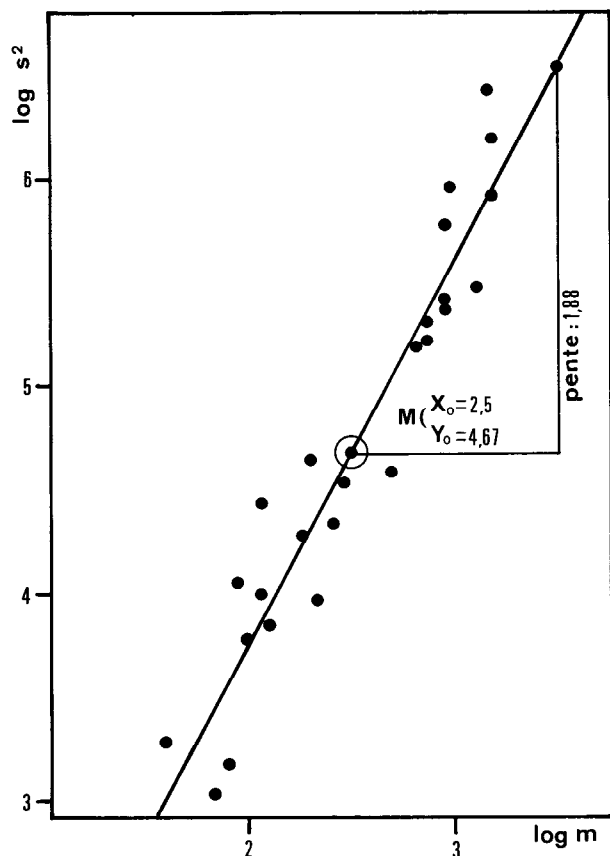


Fig. 2. — Etude de la liaison moyenne variance pour 27 groupes de mesures de réduction d'acétylène effectuées in situ au cours d'un cycle végétatif du riz.

2.2. MESURES SUR UNE SOUCHE UNIALGALE

Les valeurs trouvées se répartissent suivant une loi normale. Ce résultat traduit le mode de répartition d'échantillons de 1 ml prélevés par pipettage dans une culture homogène. Le test *t* est donc directement applicable aux activités mesurées.

Les résultats sont reportés au tableau I. Sachant que la valeur limite de *t* est de 2,78 on peut conclure que les moyennes des deux séries de mesures effectuées au cours de la journée ne sont pas significativement différentes.

3. CONCLUSION

Les mêmes échantillons (sol de rizière colonisé par des Cyanobactéries ou culture d'*Anabaena*) ont été

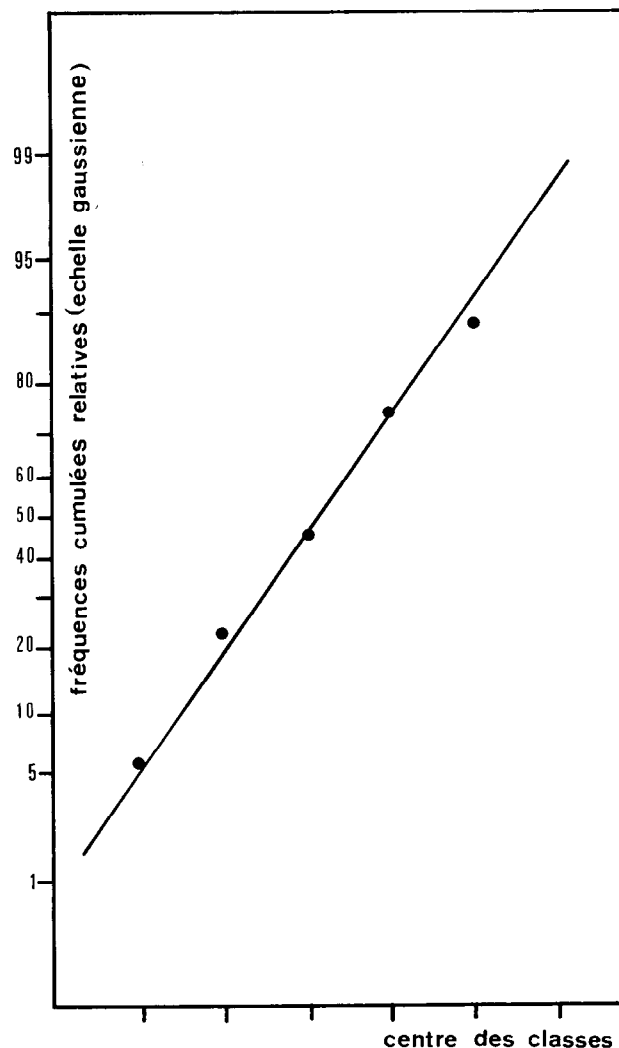


Fig. 3. — Vérification graphique de la normalité de répartition des données transformées (cf. fig. 1b).

réutilisés pour mesurer les variations de l'activité fixatrice de N_2 au cours d'une période de 12 heures.

Entre chaque mesure, d'une durée de 30' in situ et de 15' sur la culture, les échantillons sont ventilés puis laissés à l'air; un intervalle d'une heure s'est révélé suffisant pour éliminer toute interférence entre une mesure et la mesure précédente durant l'expérimentation.

Manuscrit reçu au Service des Publications le 11 mai 1977

TABLEAU I
COMPARAISON DES VALEURS MOYENNES DES MESURES PAR LE TEST DE STUDENT-FISCHER

| | t | déplacé $\frac{\Sigma \log X a}{n}$ | fixe $\frac{\Sigma \log X b}{n}$ | t(log X a, log X b) | t limite |
|------------------------|---------|--|-------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| Mesures in situ | 7 h 30 | 2,290 | 2,310 | 0,123 | P = 0,05 → 2,1 P = 0,5 → 0,69 |
| | 8 h 30 | 2,180 | 2,200 | 0,102 | |
| | 10 h 20 | 2,733 | 2,727 | 0,290 | |
| | 12 h 00 | 2,985 | 3,130 | 0,930 | |
| | 14 h 30 | 3,052 | 3,007 | 0,180 | |
| | 16 h 15 | 2,810 | 2,816 | 0,139 | |
| | 18 h 00 | 1,956 | 1,956 | 0,020 | |
| | t | $\frac{\Sigma X a}{n}$ | $\frac{\Sigma X b}{n}$ | t(X a, X b) | t limite |
| Mesures sur une Souche | 0 | 20,97 | 19,97 | 0,246 | P = 0,05 → 2,776 P = 0,5 → 0,741 |
| | 1 h | 20,17 | 19,47 | 0,59 | |
| | 2 h | 19,15 | 19,83 | 0,24 | |
| | 6 h | 25,37 | 24,00 | 0,14 | |
| | 7 h | 22,50 | 23,10 | 0,39 | |
| | 12 h | 23,20 | 24,30 | 0,59 | |

BIBLIOGRAPHIE

- BALANDREAU (J.), DOMMERGUES (Y.), 1971. — Mesure in situ de l'activité nitrogénasique. *C. R. Acad. Sc. Paris*, t. 273, 2020-2023 D.
- HARDY (R.W.F.), KNIGHT (Jr. E.), 1967. — ATP dependant reduction of azide and HCN by N_2 -fixing enzymes of *Azotobacter vinelandii* and *Clostridium pasteurianum*. *Biochim. Biophys. Acta*, 139 : 69-90.
- 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.
- SCHWARTZ (D.), 1973. — Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Ed. Méd. Flammarion, Paris, 289 p.
- TRAORE (K.), SASSON (A.), RENAUT (J.), 1975. — Contribution à l'étude floristique des Cyanophytes du Mali. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, 12 (3) : 567-578.