

EFFET RHIZOSPHERE DU RIZ SUR LA DENITRIFICATION

J.-L. GARCIA

O.R.S.T.O.M., Laboratoire de Microbiologie du Sol, B.P. 1386, Dakar, Sénégal

(Accepted 29 May 1974)

Résumé—La comparaison des activités N_2O -réductase provoquées par une préincubation en présence de N_2O , dans un sol planté en riz et dans le même sol non planté, montre un effet positif de la rhizosphère du riz sur la dénitrification, résultant de l'existence de zones anaérobies, de la présence d'exsudats racinaires et d'un nombre élevé de bactéries dénitrifiantes dans la rhizosphère.

Summary—A positive rhizosphere effect of rice on denitrification was demonstrated by comparing induced activities of N_2O -reductase in planted and non-planted soils. This effect may be attributed to the development of anaerobic zones, the presence of root exudates and large numbers of denitrifiers in the rhizosphere.

INTRODUCTION

La stimulation par les plantes de la dénitrification potentielle dans le sol a été clairement prouvée, notamment par Woldendorp (1963), Brar (1972) et Stefanson (1972). Dans le cas du riz, nous avons montré l'existence d'un effet stimulant de la plante sur l'activité dénitrifiante potentielle de sols de rizières du Sénégal (Garcia, 1973); cette stimulation, strictement localisée à la mince pellicule de sol adhérent aux racines, est d'autant plus marquée que le sol est plus pauvre en carbone organique; d'autre part, la densité des bactéries dénitrifiantes augmente sensiblement dans la rhizosphère du riz. Mais il convient de rappeler qu'en présence de l'oxygène excrété par les racines du riz, ces bactéries sont capables de se développer sans dissimiler le nitrate, donc que leur présence en plus ou moins grand nombre ne reflète pas nécessairement l'importance du processus de dénitrification. Dans le but de clarifier ce point, nous avons utilisé la nouvelle méthode d'estimation de la dénitrification par la réduction de N_2O , récemment mise au point (Garcia, 1974), en induisant une activité N_2O -réductase en présence de plants de riz et en la comparant à celle qui est mesurée dans le même sol non planté.

MATERIEL ET METHODES

Nous avons utilisé un sol de rizières de la station expérimentale de Djibélor; il s'agit d'un limon argilo-sableux dont les teneurs en carbone et en azote sont respectivement de 36 et 2,7%; le pH est de 5,5. On a évité la dessiccation complète du sol qui a été tamisé humide à 2 mm et conservé en chambre froide, de manière à limiter l'effet perturbateur de la réhumectation sur l'activité bactérienne. Dans trois séries de 15 microcolonnes de verre recouvertes de papier

d'aluminium, on introduit 17 g de sol (15 g de sol poids sec), on sature en eau et onensemence avec une graine de riz prégermée (variété IR8), dans le cas du sol rhizosphérique. Trois autres séries de 15 microcolonnes de sol non ensemencées constituent le sol non rhizosphérique. Pour les séries no. 1 (plantée) et no. 2 (non plantée), le sol est placé directement dans des microcolonnes de verre de 14 × 200 mm. Pour les séries no. 3 et 5 (plantées) et no. 4 et 6 (non plantées), le sol est placé dans un fin grillage en acier inoxydable dont la maille mesure 300 μ m de côté; l'ensemble est disposé dans un tube à essais de 18 × 180 mm. Les six séries de tubes sont placées dans une pièce climatisée, sous une rangée de lampes à vapeur de mercure dont l'intensité d'éclairage est de 20.000 lx. Une photopériode comportant 14 heures d'éclairage est maintenue pendant 3 semaines. Après ce laps de temps, on modifie les microcolonnes de sol de la façon suivante (Fig. 1) en vue de leur préincubation en présence de N_2O :

Séries no. 1 et 2: on place un tube à essais de 16 × 160 mm au-dessus de chaque microcolonne de sol, à laquelle il est relié par un joint de caoutchouc; ce tube emprisonne ainsi une certaine quantité d'air au-dessus du sol.

Séries no. 3 et 4: dans une atmosphère d'azote très pur (boîte à gants anaérobie), on retire le grillage contenant le sol du tube à essais de 18 × 180 mm et on le place dans un tube à essais de 20 × 200 mm, qu'on obstrue à l'aide d'un bouchon de caoutchouc, après avoir sectionné le plant de riz au niveau du sol; le grillage contenant le sol est ainsi contenu dans une atmosphère dépourvue d'oxygène.

Séries no. 5 et 6: on procède comme pour les séries no. 1 et 2, mais avec un tube à essais de 20 × 200 mm qui recouvre l'extrémité supérieure du tube contenant

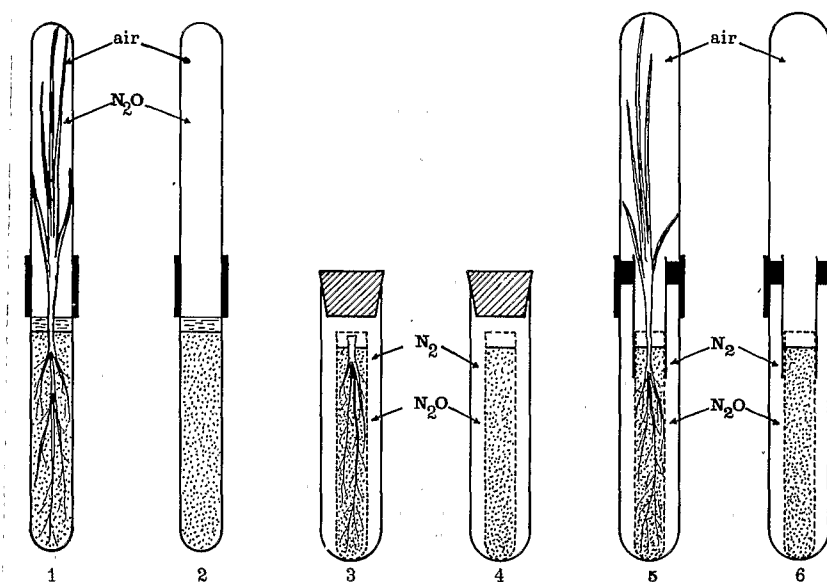


Fig. 1. Dispositif expérimental pour la préincubation des sols plantés et non plantés, en présence de N_2O .

le sol, auquel il est relié par un joint de caoutchouc; ce tube emprisonne ainsi une certaine quantité d'air au-dessus du sol. On procède ensuite comme pour les séries no. 3 et 4 en enlevant les deux-tiers inférieurs du tube à essais renfermant le sol maintenu par le grillage (ce tube avait été coupé et relié au tiers supérieur par un joint de caoutchouc, avant la mise en culture) et en plaçant la partie inférieure du dispositif dans un tube à essais de 20×200 mm renfermant de l'azote très pur, et relié à la partie supérieure par un joint de caoutchouc. Les six séries de tubes sont de nouveau placées dans les mêmes conditions d'éclairage et de température, après introduction à travers le joint ou le bouchon de caoutchouc, à l'aide d'une seringue, de 2,5 ml de N_2O (208 parties/ 10^6 N- N_2O) dans l'air au-dessus du sol pour les séries no. 1 et 2, et dans l'atmosphère de N_2 entourant le sol maintenu par le grillage pour les séries no. 3, 4, 5 et 6.

Trois jours plus tard, le sol est recueilli et introduit dans des flacons sérum de 250 ml, à raison du contenu de 3 tubes par flacon et de 5 répétitions par série. La dénitrification est évaluée par la méthode de réduction de N_2O (Garcia, 1974) dont nous rappelons brièvement la technique: les flacons sérum étant parfaitement bouchés, on effectue un vide poussé pendant 10 min., suivi d'un remplissage d'hélium très pur; l'opération est répétée deux fois avec un vide de 5 min. Puis on incube les flacons en position horizontale à $37^\circ C$. Après 30 min., on introduit 2 ml de N_2O (55,5 parties/ 10^6 N- N_2O), puis on effectue des mesures de N_2O dans des prélèvements de l'atmosphère des flacons au chromatographe toutes les 2-3 h jusqu'à disparition totale de ce gaz. En fin d'expérience, les plantules de riz sont récupérées, lavées, séchées et pesées.

Tableau 1. Effet rhizosphère du riz sur la dénitrification

No. série	1	2	3	4	5	6
Vitesse de réduction de N- N_2O (parties/ 10^6 h $^{-1}$)	1,7	0	3,45	0,9	3,5	0,9

RESULTATS

Le poids sec de matériel végétal est en moyenne de 265 mg pour 3 plants de riz. Les résultats concernant la vitesse de réduction de N_2O sont rapportés au g de sol sec (Tableau 1). Une activité N_2O -réductase est décelable dès le début de l'incubation dans tous les cas, sauf dans la série no. 2 où elle est nulle. En ce qui concerne les séries de tubes plantés, on observe une activité N_2O -réductase pratiquement identique dans les dispositifs no. 3 et 5, et deux fois plus faible dans le dispositif no. 1. Dans le cas des séries de tubes non plantés, l'activité est identique dans les dispositifs no. 4 et 6. Enfin, en comparant les séries plantées et non plantées, on constate que l'activité N_2O -réductase est presque quatre fois plus forte dans les tubes plantés.

DISCUSSION

Dans le dispositif no. 1, le N_2O introduit dans l'atmosphère confinée au-dessus du sol planté, est donc parvenu au contact du sol probablement par la même voie que l'oxygène qui est habituellement exsudé par les racines de riz; mais puisqu'il y a eu induction d'une activité N_2O -réductase dans le sol rhizosphérique,

laquelle est strictement inhibée par O_2 (Pichinoty et D'Ornano, 1961), c'est que le N_2O a probablement atteint une zone de sol où l'influence de O_2 ne s'est pas manifestée. D'autre part, comme l'activité N_2O -réductase du sol rhizosphérique dans le dispositif no. 1 est sensiblement plus élevée que celle du sol non planté dans les dispositifs no. 4 et 6, cette zone atteinte par le N_2O est également sous l'influence des exsudats racinaires. Il y a donc dans la rhizosphère du riz, des zones anaérobies dans lesquelles les processus biologiques qui sont inhibés par O_2 peuvent se manifester avec une plus grande intensité que dans le sol non planté, par suite de la présence d'une plus grande quantité de substances directement assimilables et d'une densité bactérienne plus élevée (Garcia, 1973). Pour le sol non planté de la série no. 2, aucune activité N_2O -réductase initiale n'a pu être décelée, et l'activité potentielle qui se développe après un temps de latence d'une dizaine d'heures est très faible. Le N_2O n'a donc pu diffuser que très faiblement à travers la microcolonne de sol. Par contre dans les dispositifs no. 4 et 6, le N_2O mis au contact direct du sol en atmosphère anaérobie, au travers du grillage, a induit une activité N_2O -réductase en relation avec une plus grande surface de diffusion. La plus grande activité mesurée dans les dispositifs no. 3 et 5 par rapport au dispositif no. 1, montre que la zone de sol en contact avec le N_2O est plus étendue dans le cas de l'utilisation du grillage que dans le cas de la diffusion de ce gaz à partir des racines de riz.

CONCLUSION

L'effet rhizosphère du riz sur la dénitrification est donc très nettement positif; il résulte de l'existence

dans la rhizosphère, de zones anaérobies, de la présence d'exsudats racinaires et d'un nombre élevé de bactéries dénitrifiantes. La dénitrification est donc possible dans la rhizosphère du riz; mais a-t-elle vraiment lieu *in situ* lors de la croissance de la plante en rizière? L'adaptation au champ de la méthode de réduction de N_2O actuellement en cours, nous permettra de répondre prochainement à cette question.

Remerciements—L'auteur exprime ses remerciements à M. M. Mouraret pour ses conseils ainsi qu'à Mm. W. Sy et J. Bakhoum pour leur assistance technique.

REFERENCES

- BRAR S. S. (1972) Influence of roots on denitrification. *Pl. Soil* **36**, 713-715.
- GARCIA J.-L. (1973) Influence de la rhizosphère du riz sur l'activité dénitrifiante potentielle des sols de rizières du Sénégal. *Oecol. Plant.* **8**, 315-323.
- GARCIA J.-L. (1974) Réduction de l'oxyde nitreux dans les sols de rizières du Sénégal: mesure de l'activité dénitrifiante. *Soil Biol. Biochem.* **6**, 79-84.
- PICHINOTY F. et D'ORNANO L. (1961) Recherches sur la réduction du protoxyde d'azote par *Micrococcus denitrificans*. *Ann. Inst. Pasteur* **101**, 418-426.
- STEFANSON R. C. (1972) Soil denitrification in sealed soil-plant systems. I. Effect of plants, soil water content and soil organic matter content. *Pl. Soil.* **33**, 113-127.
- WOLDENDORP J. W. (1963) The influence of living plants on denitrification. *Meded. Landbhoogesch. Wageningen* **63** (13), 1-100.