

EVALUATION DE LA DENITRIFICATION DANS LES RIZIERES PAR LA METHODE DE REDUCTION DE N₂O

J.-L. GARCIA

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

(Accepted 22 October 1974)

Résumé—Une méthode de terrain pour l'estimation de la dénitrification dans les rizières est décrite. Cette méthode est basée sur la mesure de la réduction de N₂O. Les échantillons de sol sont incubés immédiatement après leur prélèvement, dans des flacons sérum de 250 ml, en atmosphère anaérobie et en présence de N₂O et de krypton comme étalon interne. Les flacons sont placés à 37°C dans une étuve à ventilation fonctionnant sur deux batteries d'accumulateurs de 12 V. Les prélèvements d'atmosphère sont effectués dans des tubes sous vide et analysés ultérieurement par chromatographie en phase gazeuse au laboratoire. Cette méthode a permis de déceler l'existence d'une activité dénitrifiante initiale à différents stades de croissance du riz, dans plusieurs rizières du Sénégal, ainsi que dans une culture en pots. Elle a également confirmé l'effet rhizosphère positif du riz sur la dénitrification.

Summary—A field method to evaluate denitrification in rice paddy soil was developed, by measurement of N₂O reduction rates. Immediately after collection, samples of soil were incubated anaerobically in 250 ml serum flasks, with addition of N₂O as well as krypton as an internal standard. The flasks were maintained at 37°C in a portable temperature insulated box operating on two 12 V battery accumulators. At intervals during incubation, evacuated glass tubes were used to collect samples of the flasks atmosphere, and later these gas samples were analysed by gas chromatography in the laboratory. With this method, an initial denitrifying activity was found at various stages of rice growth, in several rice fields in Senegal and in pot culture. The positive effect of the rice rhizosphere on denitrification was also confirmed.

INTRODUCTION

L'estimation de la dénitrification au champ a été réalisée, jusqu'à présent, à l'aide de lysimètres spéciaux (Overrein, 1968; Martin et Ross, 1968; McGarity et Hauck, 1969), ou en prélevant des échantillons de sol mis en incubation au laboratoire sans perturbation (Stefanson, 1972; Myers et McGarity, 1972). C'est cette dernière technique de prélèvement que nous appliquons mais en effectuant immédiatement les incubations sur le terrain.

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse de la séquence des produits formés au cours de la dénitrification dans les sols de rizières (Garcia, 1973b) nous a permis de mettre au point une nouvelle méthode d'estimation de la dénitrification basée sur la réduction de N₂O (Garcia, 1974a) qui est préférable à la méthode respirométrique de McGarity (1961) (Garcia, 1973a; Garcia *et al.*, 1974).

On mesure la disparition de N₂O de la phase gazeuse des flacons de mesure dans les conditions optimales de réduction de ce gaz; rappelons que la vitesse de réduction mesurée pendant les six premières heures de l'incubation permet d'estimer une activité dénitrifiante du sol au moment du prélèvement, alors que la vitesse de réduction mesurée après une vingtaine d'heures d'incubation, représente l'activité dénitrifiante potentielle.

Pour adapter cette méthode à des mesures au champ, nous avons construit un matériel de terrain destiné à l'étude de la dénitrification dans les rizières mais qui devrait pouvoir être utilisé pour n'importe quel type de culture après adaptation de la méthode.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Matériel

Le matériel de terrain, représenté sur la Fig. 1, comprend:

- (1) Une étuve à ventilation en bois doublé de polystyrène expansé, permettant d'incuber les échantillons de sol à 37°. Cette étuve, qui fonctionne sur deux batteries d'accumulateurs, comporte trois compartiments; un compartiment central renferme une résistance chauffante, un ventilateur situé au-dessus d'elle, qui assure une circulation permanente de l'air dans l'étuve, une sonde thermique, un relais d'avertisseur sonore de voiture couplé à la sonde pour limiter l'intensité du courant passant dans celle-ci, et un thermomètre coudé visible à l'extérieur; deux compartiments latéraux communiquent avec le compartiment central par deux ouies inférieure et supérieure; ils renferment chacun un bâti en bois pouvant contenir 30 flacons sérum de 250 ml en position allongée, répartis sur quatre rangées.
- (2) Deux batteries d'accumulateurs de 12 V, montées en parallèle dans un coffret en bois doublé intérieurement de polystyrène expansé pour amortir les chocs.
- (3) Une rampe de gazage en cuivre à 12 postes, confectionnée à partir de deux anciennes rampes d'appareil de minéralisation, montée dans un coffret en bois ouvrant, et munie d'un manomètre à vide et de deux robinets à gaz: l'un pour le vide, et l'autre pour l'admission d'hélium.
- (4) Une pompe à vide manuelle Arthur Thomas (ref. 1015).

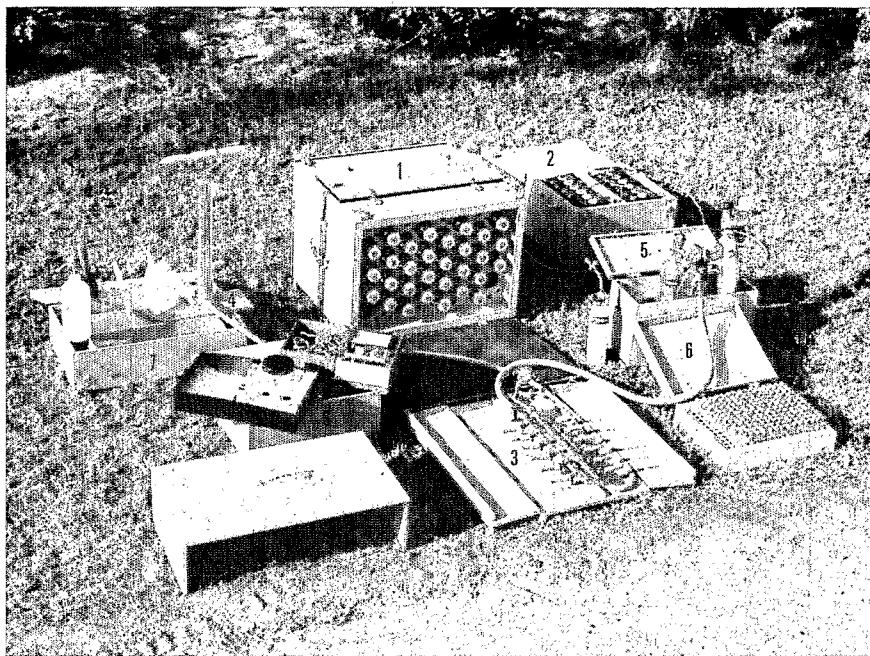


Fig. 1. Matériel de terrain pour l'évaluation de la dénitrification dans les rizières par la méthode de réduction de N_2O : (1) étuve à ventilation, (2) deux batteries d'accumulateurs de 12 V, (3) rampe de gazage, (4) pompe à vide manuelle, (5) coffret à gaz, (6) coffret pour tubes Vacutainer, (7) coffret pour accessoires, (8) conductivimètre et trousse pour dosage des nitrates.

(5) Trois petites bouteilles de gaz purs: hélium N55, N_2O N40 et krypton N35 (Sté l'Air Liquide).

(6) Un coffret-portoir en bois pour 200 tubes Vacutainer de 5 ml, (Becton-Dickinson, ref. 4827.0-0), mis sous vide au laboratoire.

(7) Un coffret en bois renfermant tous les accessoires: seringues en plastique de 1 ml et 2,5 ml, aiguilles de rechange, aiguilles doubles de 25 mm 7/10 pour le prélèvement d'atmosphère en tubes Vacutainer (Becton-Dickinson, ref. 5741-0-1), seringues en plastique de 30 ml pour prélèvement de sol.

(8) Un conductivimètre Cenco et une trousse Hach pour le dosage des nitrates et des nitrites.

(9) Un pH-mètre Polymetròn Type 55B dans une boîte étanche, non représenté sur la Fig. 1, sert également à mesurer *in situ* le pH et le Eh. L'ensemble de ce matériel est disposé dans un véhicule suffisamment vaste pour être utilisé sans déchargement.

Prélèvement et préparation des échantillons

Une seringue en plastique de 30 ml dont l'extrémité a été sectionnée, est utilisée pour effectuer les prélèvements de sol directement sous les plants de riz ou en sol nu. On prélève en trois endroits différents, 10 ml de sol avec la même seringue, qui sont déposés à l'aide du piston, dans un même flacon sérum de 250 ml. Pour chaque traitement (sol nu ou planté), on prépare ainsi 10 flacons. La moyenne des mesures résultera donc de 30 prélèvements distincts. Les carottes de sol sont disposées dans les flacons en position allongée; ces derniers sont tapotés énergiquement pour bien étaler le sol saturé d'eau.

Les flacons sont ensuite reliés par une aiguille à la rampe de gazage et on effectue un vide maximum à l'aide de la pompe manuelle, avant de gazer avec l'hélium. On répète l'opération trois fois en ajustant la

pression finale de l'hélium à la pression atmosphérique. On retire ensuite les flacons de la rampe puis on introduit à l'aide d'une seringue, 1 ml de krypton dans chaque flacon. Ce gaz est employé comme étalon interne pour simplifier les calculs en supprimant les mesures de volume et de pression pour chaque flacon (Burford et Bremner, 1972). On place les flacons toujours en position allongée, dans l'étuve à 37°C pendant 30 min environ, pour leur permettre d'atteindre l'équilibre thermique; cette période peut varier suivant la température ambiante. Puis, sans retirer les flacons de l'étuve, on introduit à l'aide d'une seringue, 2,5 ml de N_2O .

On effectue alors le prélèvement du temps zéro à l'aide de tubes Vacutainer et d'aiguilles à tête double, en enfonçant au préalable une tête de l'aiguille dans le bouchon du tube, sans casser le vide, puis en enfonçant l'autre extrémité de l'aiguille dans le flacon sérum; il suffit alors d'enfoncer la première extrémité dans le tube Vacutainer pour aspirer une fraction de l'atmosphère du flacon. L'opération est répétée dans deux autres séries de tubes Vacutainer après 6 h puis une vingtaine d'heures d'incubation à 37°C.

Au Sénégal, il arrive, notamment à la saison des pluies, que la température ambiante dépasse 37°C pendant quelques heures l'après-midi. On y remédie en introduisant dans le compartiment central de l'étuve, dans deux bacs en altuglass, deux accumulateurs de froid pour glacière de terrain, congelés au laboratoire et transportés dans une glacière portative. Ces accumulateurs sont changés toutes les deux heures, tant que la température ambiante ne descend pas au-dessous de 37°C.

De retour au laboratoire, les flacons sont mis à l'étuve à 110°C pendant 24 h pour déterminer le poids sec du sol.

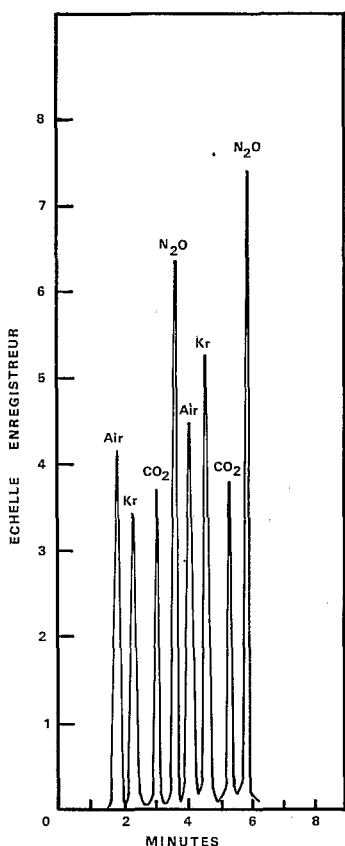


Fig. 2. Chromatogramme obtenu pour deux analyses groupées du contenu de deux tubes Vacutainer. La vitesse de déroulement du papier enregistreur est de 50 cm/h, et la hauteur des pics est atténuée deux fois.

Analyse

Le contenu des tubes Vacutainer est analysé au laboratoire à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Varian Aerograph 90 P4 à détection par conductibilité thermique, couplé à un enregistreur Varian A 25. Les conditions d'utilisation sont identiques à celles déjà décrites (Garcia, 1974). On travaille à l'atténuation deux du chromatographe. La succession des pics est la suivante: air résiduel + N₂-Kr-CO₂-N₂O (Fig. 2).

Ces conditions d'utilisation du chromatographe permettent d'obtenir des pics très étroits dont on ne

mesure que la hauteur pour leur exploitation. En outre, on peut réaliser deux injections à 2 min 20 sec d'intervalle, toutes les 10 min, en groupant ainsi la sortie des deux pics d'eau. Les opérations à effectuer sont décrites au Tableau 1.

Pour certains sols de rizières riches en carbone organique, notamment des sols rhizosphériques, on peut observer une légère production de méthane après 20 h d'incubation à 37°C. En effet, la faible concentration en N-N₂O employée pour la mesure (100 parties/10⁶ environ) ne permet pas l'inhibition totale de la production de CH₄ (Bollag et Czlonkowski, 1973). Pour détecter cette production, il suffit de comparer la hauteur des pics du krypton des tubes correspondant aux temps zéro et 20 h; si elle a augmenté, c'est qu'il y a eu production de CH₄. Il faut alors modifier les conditions d'utilisation du chromatographe. Comme la quantité de méthane est faible et au plus égale à 20 pour cent de celle du krypton ajouté, il suffit simplement de modifier la température de la colonne. En coupant le chauffage du four renfermant la colonne et en le refroidissant par ouverture de son couvercle pendant 15 min, la température se stabilise à 65°C à cause du chauffage dû aux fours de l'injecteur et du détecteur. A cette température, le pic du krypton présente un petit épaulement dû au méthane, ce qui ne modifie pas sa hauteur. Mais la succession des analyses est ralentie: la deuxième injection se fait 3 min. après la première, et l'on doit attendre 16 min. pour recommencer une autre série de deux injections. On pourrait également employer une colonne plus longue, comme celle préconisée par Burford et Bremner (1972) (5,5 m × 1,59 mm), ce qui séparerait plus nettement CH₄ et Kr mais allongerait le temps d'élution.

Calcul des résultats

Les calculs sont simples (Balandreau et Dommergues, 1971). Soient v et v' les volumes respectifs de N₂O et de Kr contenus dans les V ml injectés et soit X le volume de N₂O dans la phase gazeuse du flacon de mesure. L'approximation du calcul consiste à supposer que le N₂O diffuse dans le même volume que le krypton. Ecrivons alors que les pourcentages de N₂O et de Kr sont les mêmes dans le flacon et dans le tube Vacutainer:

$$\frac{1}{X} = \frac{v'}{v} \text{ d'où } X = \frac{v}{v'}$$

Les volumes injectés v et v' de N₂O et de Kr sont liés aux hauteurs de pics h et h' du chromatogramme

Tableau 1. Opérations détaillées d'injection du contenu des tubes Vacutainer dans le chromatographe

Temps	Opérations
0	Mettre en route la pompe à vide, robinet ouvert, tube Vacutainer en position sur l'aiguille de la vanne.
50 sec	Fermer le robinet du vide, enfoncer l'aiguille de la vanne dans le tube Vacutainer.
1 min	1ère injection: appuyer sur le poussoir de la vanne, enlever le tube, mettre le tube suivant en position sur l'aiguille, ouvrir le robinet du vide et tirer le poussoir.
2 min	Mettre en route l'enregistreur.
3 min	Fermer le robinet du vide, enfoncer l'aiguille dans le tube.
3 min 20 sec	2ème injection: appuyer sur le poussoir, enlever le tube, mettre le tube suivant sur l'aiguille, tirer le poussoir, ouvrir le robinet du vide, arrêter la pompe à vide.
7 min environ	Arrêter l'enregistreur après la sortie du deuxième pic de N ₂ O.
10 min	Recommencer les opérations comme précédemment.

par les relations

$$\begin{aligned} v &= kh \\ v' &= k'h' \end{aligned}$$

où k et k' sont des constantes dépendant du détecteur
D'où

$$X = \frac{kh}{k'h'} = K \frac{h}{h'} \text{ (ml)}$$

Si P est le poids sec du sol du flacon en grammes, la quantité de $N-N_2O$ présente dans la phase gazeuse par gramme de sol sec, exprimée en parties/10⁶ et sachant que le rapport volume/poids pour $N-N_2O$ est de 1,25, sera donc:

$$Q = 1,25 \cdot 10^3 \frac{X}{P}$$

Après l'obtention du chromatogramme, la suite des calculs est donc la suivante pour chaque injection: (1) calcul du rapport des hauteurs de pic N_2O/Kr , (2) différence avec le résultat du prélèvement précédent, (3) multiplication par $1,25 \cdot 10^3 \cdot K$, (4) division par P , (5) division par le temps d'incubation. On obtient ainsi la vitesse moyenne de réduction de N_2O pendant le temps considéré et par gramme de sol sec. On calcule la moyenne des $n = 10$ échantillons, V_m , l'écart type σ , l'intervalle de confiance de la moyenne, i , par le test t de Student-Fischer avec une probabilité de 0,05:

$$i = t \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

et enfin le coefficient de variation de i ,

$$C.V. = \frac{100i}{V_m} \%$$

Expérimentation

Pour tester cette méthode au champ, nous avons effectué plusieurs prélèvements en divers endroits de la vallée du Fleuve Sénégal et à différents stades de la croissance du riz (Tableau 2). Pour chaque rizière, les

prélèvements ont été effectués en sol nu (S) et dans la rhizosphère du riz (R).

La méthode a également été appliquée à plusieurs époques d'une culture de riz IR8 en pots de P.V.C. ($\phi 30$ cm, hauteur 50 cm) sur un sol argileux dont les teneurs en carbone et en azote sont respectivement 0,5 et 0,06 pour cent et dont le pH est de 5,9.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1 Rizières

Dans les sols de rizières ayant fait l'objet des mesures, nous n'avons pas décelé de nitrate. Rappelons, à ce propos, que la méthode peut être faussée quand le sol contient du nitrate ou du nitrite (Garcia, 1974). Certains prélèvements ont été effectués sur la même parcelle, à un mois et demi d'intervalle et sur la même culture (Boundoum Nord) ou bien sur deux cultures successives (Savoigne). L'âge du riz variait de 30 à 125 jours.

Une première constatation peut être faite (Tableau 3): le coefficient de variation de l'intervalle de confiance de la vitesse de réduction de N_2O est en général plus élevé pour la vitesse initiale (moyenne: 38% pour S et 45% pour R) que pour la vitesse potentielle (moyenne: 30% pour S et 22% pour R). Les mesures de l'activité potentielle sont donc plus reproductibles que celles de l'activité initiale. Quoiqu'il en soit, les forts coefficients sont rares et l'on peut dire que la technique de prélèvement est satisfaisante, compte tenu de l'hétérogénéité des sols. Signalons également que les coefficients de variation les plus élevés concernent les prélèvements effectués en fin de croissance du riz (100 à 125 j).

Dans tous les cas, nous avons mesuré une activité dénitrifiante initiale alors qu'au laboratoire, elle n'avait pu être décelée au cours d'expériences effectuées sur des sols de rizière dépourvus de nitrate, nus ou plantés en riz (Garcia, 1974). Ceci traduit probablement le fait qu'une activité dénitrifiante a eu lieu dans ces sols consécutivement à une production de nitrates non décelable. Elle est cependant faible, au plus égale

Tableau 2. Prélèvements effectués dans les rizières de la vallée du Fleuve Sénégal

Localité	Date	pH Sol	Résistivité μ mho/cm	âge du riz (jours)	Variété	Engrais
Boundoum Nord	10-Oct-73	6,5	150	65	D52-37 (140 j)	100 Kg/ha $PO_4(NH_4)_3$ 16-48-0 avant semis 50 Kg/ha urée début submersion 50 Kg/ha urée montaison
Savoigne	11-Oct-73	5,8	155	45	SE-302 G	120 Kg/ha $PO_4(NH_4)_3$ 16-48-0 avant semis 350 Kg/ha urée en deux épandages
Boundoum Nord	28-Nov-73	6,5	100	125	D52-37	même parcelle
Richard-Toll 1	28-Nov-73	7,2	200	100	—	—
Fanaye	28-Nov-73	5,4	80	115	IR8 (130 j)	125 Kg/ha $PO_4(NH_4)_3$ 16-48-0 avant semis 350 Kg/ha urée en deux épandages
Richard-Toll 2	27-Fev-74	4,9	475	30	IKP	$PO_4(NH_4)_3$ 16-48-0 avant semis
Savoigne	28-Fev-74	7,0	750	30	SE 302 G	$PO_4(NH_4)_3$ 16-48-0 avant semis même parcelle mais culture ultérieure.

Tableau 3. Activités dénitrifiantes initiales et potentielles mesurées dans plusieurs rizières du Sénégal. V_m : vitesse moyenne de réduction de $N-N_2O$ (parties/10⁶/h). i : intervalle de confiance de V_m . C.V.: coefficient de variation (pour cent).

Localité (date)	Sol nu (S)						Rhizosphère (R)						R/S			
	Activité initiale (I)			Activité potentielle (P)			P/I	Activité initiale (I)			Activité potentielle (P)			P/I	I	P
V_m	i	C.V.	V_m	i	C.V.	V_m		i	C.V.	V_m	i	C.V.				
Boundoum Nord (10-Oct-73)	0,53	0,14	26	0,52	0,18	34	1,0	0,68	0,27	40	0,97	0,27	28	1,4	1,3	1,8
Savoigne (11-Oct-73)	0,58	0,17	29	0,83	0,24	29	1,4	0,55	0,18	33	1,04	0,28	27	1,9	0,9	1,2
Boundoum Nord (28-Nov-73)	0,70	0,41	58	1,61	0,32	20	2,3	0,99	0,66	67	1,78	0,20	11	1,8	1,4	1,1
Richard-Toll 1 (28-Nov-73)								1,02	0,45	44	1,62	0,31	19	1,6		
Fanaye (28-Nov-73)	0,98	0,52	53	1,03	0,23	22	1,0	0,85	0,57	67	1,52	0,25	16	1,8	0,9	1,5
Richard-Toll 2 (27-Fev-74)	0,28	0,11	39	0,36	0,11	30	1,3	0,68	0,18	26	1,52	0,48	32	2,2	2,4	4,2
Savoigne (28-Fev-74)	0,39	0,09	23	0,81	0,38	47	2,1	0,58	0,21	36	1,22	0,30	25	2,1	1,5	1,5

à 1,02 parties/10⁶ de $N-N_2O$ réduit/h, et assez peu différente pour S et R, à l'exception du sol de Richard-Toll 2 pour lequel le rapport R/S des activités initiales est de 2,4.

L'activité dénitrifiante potentielle est en général supérieure à l'activité initiale. Elle est dans tous les cas, plus élevée pour R que pour S, le rapport R/S variant de 1,1 à 4,2. Ceci confirme les résultats obtenus lors d'expériences antérieures au laboratoire (Garcia, 1973a; Garcia, 1974 et 1975), et résulte de la présence dans la rhizosphère, d'un nombre plus élevé de bactéries dénitrifiantes et d'exsudats racinaires facilement assimilables.

Ceci ressort également de l'examen du rapport des activités potentielle et initiale (P/I) d'un même échantillon. En effet, ce rapport est en général plus élevé pour R que pour S.

2 Pots

Quatre prélèvements ont été effectués à différents stades de la croissance du riz. Les résultats (Tableau 4)

montrent un coefficient de variation en général plus faible que pour les mesures au champ; l'échantillonnage est donc meilleur dans le cas des pots.

Une activité initiale a également été décelée pour tous les prélèvements; elle varie très peu au cours du temps dans le sol nu mais est multipliée par 2,8 dans le cas du sol planté, après 120 j de culture. Nous n'avons cependant pas décelé de nitrate lors des 4 prélèvements. Le rapport R/S entre les activités initiales de S et de R est nettement plus élevé après 90 j de culture: il passe de 0,8 à 2,4 puis se stabilise.

L'activité dénitrifiante potentielle de S est le plus souvent voisine de l'activité initiale; elle est nettement inférieure à celle de R. Le rapport R/S des activités potentielles augmente dans la période des 85 premiers jours de culture, au fur et à mesure du développement de la rhizosphère, puis diminue.

On constate également, comme pour les échantillons de rizières, que le rapport P/I est généralement plus élevé pour R que pour S. Il atteint ici une valeur nettement plus grande: 4,4. Dans le cas des pots, l'effet rhi-

Tableau 4. Activités dénitrifiantes initiales et potentielles mesurées à différentes époques d'une culture de riz en pot. V_m : vitesse moyenne de réduction de $N-N_2O$ (parties/10⁶/h). i : intervalle de confiance de V_m . C.V.: coefficient de variation (pour cent).

Date de prélèvement après le début de l'humidification (jours)	Sol nu (S)						Rhizosphère (R)						R/S			
	Activité initiale (I)			Activité potentielle (P)			P/I	Activité initiale (I)			Activité potentielle (P)			P/I	I	P
V_m	i	C.V.	V_m	i	C.V.	V_m		i	C.V.	V_m	i	C.V.				
15	0,48	0,15	31	0,72	0,10	14	1,5									
70 (riz: 50)	0,80	0,18	22	0,84	0,25	30	1,0	0,62	0,15	24	1,46	0,22	15	2,4	0,8	1,7
105 (riz: 85)	0,48	0,16	33	0,53	0,30	56	1,1	1,16	0,40	34	2,35	0,28	12	2,0	2,4	4,4
140 (riz: 120)	0,75	0,16	21	0,75	0,30	40	1,0	1,72	0,31	18	2,24	0,49	22	1,3	2,3	3,0

zosphère du riz sur l'activité dénitrifiante semble donc plus marqué que pour les mesures au champ.

CONCLUSION

L'adaptation de la méthode d'estimation de la dénitrification par la réduction de N_2O , à des mesures en pots et au champ au cours de la culture du riz, nous a permis d'une part, de déceler dans tous les cas une activité dénitrifiante initiale, preuve de l'existence effective d'une dénitrification dans les rizières donc d'une perte d'azote, et d'autre part, de confirmer l'influence favorable de la rhizosphère du riz sur les microorganismes dénitrifiants.

Cette méthode devrait permettre de suivre, tout au long de la culture du riz, comme cela est montré par les résultats de mesures sur la culture en pots, l'évolution des activités dénitrifiantes initiale et potentielle dans les rizières. Ces variations éventuelles de l'activité initiale indiqueront l'existence d'une dénitrification réelle résultant de l'apparition de nitrates dans le sol par suite de la nitrification de l'ammonium présent dans le sol ou apporté par les engrais. Ces mesures pourront ainsi permettre d'évaluer les pertes d'azote en rizière. D'autre part, les variations de l'activité potentielle, laquelle concerne des germes qui ne participaient pas à la dénitrification au moment du prélèvement, indiqueront l'évolution comparative de la densité microbienne.

Remerciements—L'auteur exprime ses remerciements à M. M. Mouraret pour ses conseils ainsi qu'à MM. M. Boureau, R. Zogbi, W. Sy et J. Bakhom pour leur assistance technique.

REFERENCES

- BALANDREAU J. et DOMMERGUES Y. (1971) Mesure *in situ* de l'activité nitrogénasique. *C. R. Acad. Sci. (Paris) sér. D*, **273**, 2020-2023.
- BOLLAG J.-M. and CZLONKOWSKI S. T. (1973) Inhibition of methane formation in soil by various nitrogen-containing compounds. *Soil Biol. Biochem.* **5**, 673-678.
- BURFORD J. R. and BREMNER J. M. (1972) Gas chromatographic determination of carbon dioxide evolved from soils in closed systems. *Soil Biol. Biochem.* **4**, 191-197.
- GARCIA J.-L. (1973a) 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. (1973b) Séquence des produits formés au cours de la dénitrification dans les sols de rizières du Sénégal. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* **124B**, 351-362.
- 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.
- GARCIA J.-L. (1975) Effet rhizosphère du riz sur la dénitrification. *Soil Biol. Biochem.* **6**, 139-141.
- GARCIA J.-L., RAIMBAULT M., JACQ V., RINAUDO G. et ROGER P. (1974) Activités microbiennes dans les sols de rizières du Sénégal: relations avec les caractéristiques physico-chimiques et influence de la rhizosphère. *Rev. Écol. Biol. Sol*, **11**, 169-185.
- MARTIN A. E. and ROSS P. J. (1968) A nitrogen-balance study using labelled fertilizer in a gas lysimeter. *Pl. Soil*, **28**, 182-186.
- MCGARITY J. W. (1961) Denitrification studies on some South Australian soils. *Pl. Soil*, **14**, 1-21.
- MCGARITY J. W. and HAUCK R. D. (1969) An aerometric apparatus for the evaluation of gaseous nitrogen transformations in fields soils. *Soil Sci.* **108**, 335-344.
- MYERS R. J. K. and MCGARITY J. W. (1972) Denitrification in undisturbed cores from a solodized solonetz B horizon. *Pl. Soil*, **37**, 81-89.
- OVERREIN L. N. (1968) Lysimeter studies on tracer nitrogen in forest soil: 1. Nitrogen losses by leaching and volatilization after addition of urea N-15. *Soil Sci.* **106**, 280-290.
- STEFANSON R. C. (1972) Soil denitrification in sealed soil-plant systems. III. Effect of disturbed and undisturbed soil samples. *Pl. Soil*, **37**, 141-149.