

Pédo

LE NATURALISTE MALGACHE

Tome VIII

1956

Fasc. 2

LA MICROBIOLOGIE DANS L'ETUDE DES SOLS

par

Cl. MOUREAUX (*)

Il est important, si l'on désire mieux connaître le milieu dynamique complexe constitué par le sol, et, en particulier, mieux saisir les modalités de son évolution, capitales quant à la fertilité, d'étudier son aspect biologique, c'est-à-dire l'activité de la microflore qui s'y développe, bactéries et champignons inférieurs, parallèlement aux déterminations des propriétés physiques et chimiques. D'ailleurs, les caractéristiques chimiques, physiques et biologiques d'un sol sont en perpétuelle interdépendance. Un seul exemple suffit à le montrer : les substances organiques sécrétées par les germes du sol, ou les filaments des Champignons inférieurs eux-mêmes, favorisent la formation des agrégats terreux d'où il résulte une amélioration de la structure ; la perméabilité, la capacité pour l'air et pour l'eau, presque toujours si déficitaires dans nos sols malgaches, augmentent ; les acides organiques libérés par la microflore du sol lors des processus de dégradation et de minéralisation des résidus végétaux et animaux faisant retour au sol permettent la lente solubilisation des éléments nutritifs et, en particulier, des phosphates de fer et d'alumine inaccessibles sous cette forme à l'alimentation des végétaux.

Le caractère d'« infiniment petits » des germes du sol trouve sa compensation dans leur nombre prodigieusement élevé : un milliard et plus par gramme de terre riche.

C'est un fait d'observation que la fertilité des sols varie dans le même sens que l'activité des germes qui s'y trouvent, sans pouvoir lui être cependant proportionnelle, car un certain nombre d'organismes sont soit saprophytes sans relation directe avec la productivité du sol, soit même néfastes comme les dénitrificateurs, amenant dans certains sols une perte d'azote à l'état gazeux.

(*) Maître de recherches à l'I.R.S.M.

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 11139

Un autre point de vue soulignant l'utilité des études microbiologiques des sols tropicaux est que le bilan de l'activité de la microflore y est bien supérieur à ce qu'il est en pays tempérés, puisque les conditions écologiques favorables à la pullulation bactérienne s'étalent sur une période plus longue dans l'année (totalité de l'année en climat au vent).

Nous passerons rapidement en revue les procédés d'investigation de la microflore que nous utilisons à l'I.R.S.M., à Tsimbazaza (les détails analytiques étant donnés en annexe pour les analyses non classiques ou mises au point ici), avant de passer aux recherches et applications qu'elles nous ont permises.

Les techniques d'analyses peuvent se diviser en deux groupes permettant l'étude de :

- 1° L'activité de la microflore totale du sol.
- 2° L'activité des différents groupes physiologiques de germes responsables de la fertilité :
 - a) les germes ammonifiants transformant les composés azotés protidiques inutilisables tels quels par les végétaux, faisant retour au sol, en composés ammoniacaux ;
 - b) les germes de la nitrosation et la nitratisation (nitrificateurs) transformant les corps ammoniacaux en azote nitrique ;
 - c) les germes cellulolytiques assurant la dégradation du composé carboné le plus abondant (20 à 40 %) faisant retour au sol après la mort des substances végétales ;
 - d) les germes fixateurs d'azote atmosphérique (aérobies = *Azotobacter* et anaérobies = *Clostridium*).

1° ACTIVITÉ DE LA MICROFLORE TOTALE

Nous utilisons trois méthodes d'analyse :

a) La mesure du dégagement de gaz carbonique donne la résultante générale de l'activité de tous les germes du sol. Les chiffres trouvés pour 20 g de sol séjournant cinq jours à 30° à l'étuve varient de 0,5 à 25 mg CO₂. Par exemple :

Sol rouge latéritique érodé, en pente, près Tananarive	3,2 mg CO ₂
Alluvions du Mandrare	20,3
Sables roux, Androy	3,7
Sables calcaires, Androy	1,0
Colluvions latéritiques près Tananarive	4,7
Sol de rizière près Tananarive	7,0

b) L'indice de consommation du glucose (Ig) consiste à déterminer la quantité de glucose consommé par un certain poids de sol en un temps donné. Les résultats sont souvent parallèles au dégagement de CO₂, mais la mesure en est plus rapide. Cet indice est chiffré de 0 à 100.

c) La détermination du pouvoir enzymatique (Es) repose sur l'observation que la plupart des germes du sol, y compris les champignons et les algues, contiennent l'enzyme saccharase (ou sucrase) capable de dédoubler le saccharose en sucres réducteurs : glucose et lévulose. En déterminant l'abondance de cet enzyme d'après la quantité de saccharose dédoublé, on a donc une estimation de la microflore totale.

Pour les sols cités plus haut, les valeurs trouvées pour le pouvoir enzymatique (Es) et l'indice glucose (Ig) sont les suivantes :

	Es	Ig
Sol rouge latéritique érodé, sur pente, près Tananarive	5,6	15,1
Alluvions du Mandrara	12,9	98,4
Sables roux de l'Androy	4,5	16,9
Sables calcaires de l'Androy	3,6	16,5
Sol de rizière	9,7	28,8

2° ACTIVITÉ DES DIFFÉRENTS GROUPES PHYSIOLOGIQUES DE GERMES

a) *Ammonification.*

La terre étant enrichie en urée, on dose l'ammoniac produit après trois jours.

b) *Nitrification.*

Le pouvoir nitrificateur du sol est déterminé par l'abondance des colonies oxydant l'ammoniaque en acide nitreux sur milieu silicogel exempt de carbone organique et sur lequel un certain poids de sol a été ensemencé. Seuls, les germes nitrificateurs, autotrophes, tirant leur énergie de l'oxydation de l'ammoniaque et utilisant le gaz carbonique de l'atmosphère sont capables de se développer sur milieu hautement électif.

Les colonies sont repérées par la zone d'attaque du calcaire dans le milieu, causée par l'acide nitreux, après un séjour à l'étuve de trois semaines à 30°. Nous dosons également le pouvoir nitrificateur des sols d'après la quantité d'azote minéralisé en nitrate par un séjour de quatre semaines à 30°. C'est une mesure de l'azote assimilable en relation étroite avec la réponse que l'on peut attendre du sol à l'application d'engrais azotés.

c) *Pouvoir cellulolytique.*

On détermine l'abondance des colonies cellulolytiques dans un poids de sol donné. Le milieu électif permettant la croissance de ces germes ne contient aucune source carbonée d'énergie autre que la cellulose. Les germes cellulolytiques, reconnus à Madagascar, sont les *Cytophaga*, *Celwibrio*, certains *Actinomyces* et champignons inférieurs.

d) *Pouvoir fixateur d'azote atmosphérique.*

Le sol est ensemencé sur milieu silicogel électif sans azote à pH 6. Le milieu classique au calcaire, utilisé en Europe, ne permet la croissance d'au-

cun germe pour les sols acides ; il n'est utilisé que pour les sols calcaires de l'Ouest. En effet, la biologie de l'*Azotobacter indicum*, ubiquiste sur les sols acides de Madagascar, est totalement différente de celle de l'*Azotobacter chroococcum* des pays tempérés.

Le premier présente une croissance optimum à pH 6,2 et le second à pH 7,5. Cette remarque souligne le danger qu'il peut y avoir à chauler massivement des sols acides tropicaux puisqu'on bloquerait la fixation d'azote. L'ensemencement se fait donc sur milieu spécial de réaction acide pour la mesure en aérobiose. Pour les fixateurs anaérobies, les *Clostridium*, on utilise le milieu classique au calcaire en atmosphère privée d'oxygène. Les germes, dénombrés après vingt et un jours d'étuve à 30°, sont rapportés au gramme de sol et on a ainsi une évaluation du pouvoir fixateur du sol.

Ces diverses techniques sont tournées vers l'étude de problèmes variés : oscillations de l'activité microbiologique au cours de l'année, répercussion biologique de telle ou telle pratique culturale ; enfin, elles apportent leur contribution à la connaissance des nouveaux sols cartographiés par les pédologues de l'I.R.S.M.

La microbiologie des sols peut d'ailleurs, éventuellement, doubler le laboratoire de chimie dans les dosages de potassium, phosphore et magnésium que nous effectuons par l'*Aspergillus niger*. La méthode est rapide et économique, et, bien que connue, mériterait un emploi plus généralisé : le poids du mycélium, rapporté à une courbe étalon, donne immédiatement la teneur de l'élément dans le sol.

La détermination de la fertilité minérale globale est également possible par l'*Aspergillus niger*, le milieu de croissance pour le champignon ne comportant que le sol comme source d'éléments minéraux.

C'est un essai cultural en miniature en erlenmeyer de 300 cm³.

Dans l'étude des variations de la microflore causée par les feux aussi bien en forêt que sous prairie, la plupart des prélèvements que nous avons effectués accusent pour les germes cellulolytiques une nette diminution, même si le nombre des germes nitreux est temporairement accru. Or, il est certain que l'activité du groupe des germes cellulolytiques constitue la clef de voûte de la fertilité. En effet, ils permettent la dégradation du matériel végétal le plus commun, représentant 20 à 40 % de la plante, pour donner naissance soit à de la matière vivante bactérienne destinée à être ultérieurement minéralisée, soit à des acides organiques, des alcools ou des sucres qui permettront la pullulation des autres groupes, les fixateurs d'azote en particulier.

D'ailleurs, la densité des bactéries fixatrices d'azote accuse en forêt une baisse notable à la suite des *tavy* ou feux.

Le paillage, contrairement aux feux, nous a toujours révélé une cellulolyse très active, et, si cette pratique ralentit un peu la nitrification en saison des pluies, peut-être parce que l'aération est diminuée, par contre, en saison sèche, la nitrification y est plus active parce que les sols décou-

verts sèchent trop pour permettre l'activité des nitrificateurs ; ce dernier résultat est en contradiction avec les observations faites en zone tempérée où l'on considère le paillage comme toujours néfaste à la nitrification.

En ce qui concerne la vie microbienne dans les sols salés, nous avons, dans la région de Tuléar, établi le fait que les germes nitreux, qui intéressent le plus la fertilité, présentent une densité qui diminue dans le rapport de 15 à 1 lorsque la salinité du sol passe de 0,5 à 17 ‰ de chlore. Le pouvoir enzymatique, reflet de l'activité biologique globale du sol, diminue dans le même temps d'environ dix fois.

En rizière des Hauts-Plateaux, l'effet bénéfique sur l'activité bactérienne d'apports de sulfate d'ammoniaque et de phosphate tricalcique se révèle très net et les germes nitrificateurs, que l'on pourrait croire absents vu leurs besoins d'oxygène, triplent leur densité.

Nos essais de paillis ont mis en évidence l'influence éminemment favorable sur l'activité bactérienne (germes cellulolytiques en particulier) des couvertures mortes de *Solanum auriculatum* (Sevabe) et de *Pennisetum purpureum* (Herbe à éléphant). Ils constituent donc un moyen précieux de régénération de la fertilité.

Un autre avantage du paillis est l'élévation très générale du niveau de potasse échangeable qu'ils déterminent. Ce phénomène peut trouver une explication pour les sols alluvionnaires ou colluvionnaires riches en micas et feldspaths (les principaux sols cultivés à Madagascar), par l'abondance plus grande de silico-bactéries, sous paillis, constatée à Tsimbazaza ; ces germes, appartenant à l'espèce *Bacillus circulans*, sont capables de tirer leur potasse des feldspaths ; à la mort de ces organismes, la potasse extraite des roches est minéralisée et devient accessible aux végétaux.

Le phosphore assimilable est souvent, lui aussi, en très nette amélioration sous la plupart des paillis, ce qui peut s'expliquer par la solubilisation des phosphates, jusque-là insolubles, par les acides issus du métabolisme bactérien, comme le montre le tableau suivant résultant d'essais de paillis à Tsimbazaza. Pour la potasse et le phosphore assimilables, dosés à l'*Aspergillus niger*, les résultats sont exprimés en prenant la base 100 pour le sol témoin nu.

	Germes cellulolytiques nombre colonies g/sol	K ₂ O	P ₂ O ₅	pH
Sol nu	1610	100	100	6,7
Paillis <i>Aristida</i>	2492	108	108	6,3
» <i>Eucalyptus</i>	1675	146	86	6,4
» Sevabe (<i>Solanum auriculatum</i>)	1835	111	163	6,1
» Tourbe	3662	120	117	6,4
» Herbe à éléphant (<i>Pennisetum purpureum</i>)	3745	140	155	7,10
» Pin	1797	101	96,0	6,4
» <i>Eugenia sp.</i> (Rotra)	3160	85	30	6,7
» Manguier	2465	85	128	—
» Jacinthe d'eau	670	206	140	—

La structure est très améliorée sous paillis, une mesure sous les paillis de manguiers a donné les chiffres suivants pour le coefficient de dispersion de l'argile (d'autant plus élevé que la structure du sol est plus détériorée) :

Sol nu 78,5 %
Paillis manguiers 50 %

En ce qui concerne la recherche des carences, le microbiologiste des sols possède l'avantage sur le chimiste proprement dit, qui doit établir une échelle de fertilité pour chaque élément, échelle variable selon chaque type de sol, de pouvoir dégager rapidement le ou les éléments carencés.

Ainsi l'indice de consommation du glucose, ordinairement mesuré sans aucune addition d'éléments fertilisants au sol, a été déterminé pour un certain nombre de types de sols des hauts-plateaux après addition de phosphore. Le lecteur tirera lui-même la conclusion, d'après les résultats ci-dessous, de la fréquence avec laquelle les germes du sol répondent aux apports de phosphore.

	Indice glucose	
	sans P_2O_5	avec P_2O_5
Sol latéritique des environs de Tananarive régénéré sur terrasses (jardin)	81,2	98,2
Colluvions	20,2	38,7
Rizières	18,7	24,19
»	23,1	38,7
»	20,5	37,9
Prairie érodée	4,0	21,4
» non érodée	76,2	97,8
Sol rouge nu	2,2	10,0

Le dégagement de CO_2 , de son côté, ou le développement du mycélium d'*Aspergillus niger*, peuvent aussi être mesurés en ajoutant au sol tous les éléments fertilisants, sauf un, et cela autant de fois qu'il y a de carences possibles.

CONCLUSION

Bien que la microbiologie des sols soit encore, dans une mesure assez grande, au stade de la recherche théorique, le lecteur aura vu, cependant, au cours des pages précédentes, quelques-unes des applications de cette branche de la pédologie, non seulement à une meilleure compréhension des transformations dont le sol est le siège, mais aussi à une utilisation plus rationnelle des sols, en soulignant les dangers ou, au contraire, les avantages de telles ou telles pratiques culturales.

ANNEXES

Les techniques microbiologiques en usage à l'I.R.S.M.

INDICE D'UTILISATION DU GLUCOSE

Un très grand nombre de germes étant capables d'utiliser le glucose, on déterminera leur abondance d'après la quantité de glucose consommé après 24 heures.

Mettre 20 g de sol tamisé à 1 mm dans des erlenmeyers de 300 cm³. Humidifier le sol par 10 cm³ d'une solution de glucose à 1 %, soit 100 mg de glucose par échantillon.

Mettre à l'étuve à 30° pendant 24 heures (boucher les erlens par un bouchon à un trou).

Après 24 heures, diluer le contenu de l'erlen avec 100 cm³ d'eau distillée. Reprendre 25 cm³ après filtration.

Titrer à la liqueur de Fehling.

Si on utilise 5 cm³ de liqueur Fehling (F) et que

$$1 \text{ cm}^3 \text{ F} = x \text{ mg glucose}$$

$$1 \text{ cm}^3 \text{ F} = y \text{ cm}^3 \text{ hyposulfite}$$

z cm³ hyposulfite étant trouvés en retour, on a en mg de glucose consommé pour 20 g de sol :

$$\begin{aligned} \text{Ig} &= 100 - \frac{110}{25} [5 - z/y] x \\ &= 100 - 4,4 x (5 - z/y) \\ &= 100 - 22 x + 4,4 x z/y \\ &= \frac{4,4 x}{y} z + (100 - 22 x) \end{aligned}$$

DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ BIOLOGIQUE PAR LE DÉGAGEMENT DE CO₂

On opère sur 20 g de sol en erlenmeyer de 100 cm³ fermé par bouchon à deux trous pour permettre la circulation d'un courant d'air.

Le sol est amené à l'humidité équivalente. En début d'expérience, on établit sur le sol un courant d'air privé de CO₂ pour se débarrasser du CO₂ préexistant (que l'on dose éventuellement). Le sol est porté à 30°, à l'étuve, pendant cinq jours dans son erlenmeyer bouché.

Au bout de cinq jours, le CO₂ dégagé est déplacé par un courant d'air privé de CO₂ et dosé par barbotage dans de l'eau de baryte titrée. Le schéma du montage est le suivant :

- 1) Flacon de SO₄H₂.
- 2) » KOH concentrée.
- 3) » H₂O.

- 4) Erlen contenant le sol.
- 5) Barboteur à verre fritté fractionnant les gaz en très fines bulles dans Ba (OH)₂.
- 6) Fiole de garde.
- 7) Trompe à vide.

Il faut, par exemple, x cm³ SO₄H₂ N/20 pour décolorer 25 cm³ d'eau de baryte (additionnée de phénol-phtaléine) avant le barbotage ; les gaz ont barboté dans 100 cm³ d'eau de baryte ; on laisse décanter le CO₂Ba douze heures et on pipette 25 cm³ d'eau de baryte claire qui nécessitent y cm³ SO₄H₂ N/20 pour être neutralisés.

Dans ces conditions :

$$\text{mg CO}_2 = 4,4 (x - y)$$

RESPIRATION DU SOL — CONSOMMATION D'OXYGÈNE

La technique utilisée est celle de Warburg.

Un certain poids de sol, 20 g par exemple, est amené à l'humidité équivalente en erlenmeyer de 100 cm³. On introduit dans l'erlenmeyer un tube à hémolyse contenant de la potasse en pastille pour fixer le CO₂ dégagé. On ferme l'erlenmeyer par un bouchon à deux trous, l'un portant un robinet à une voie et l'autre un tube en U contenant du mercure.

On place le tout à 30°, le robinet mettant en communication l'erlenmeyer et l'atmosphère étant ouvert ; au bout de deux heures, on ferme le robinet.

L'oxygène consommé se traduit par une aspiration du mercure (on a soin de lire la pression barométrique en début et fin d'expérience pour tenir compte, éventuellement, de ses variations).

Soit x mm Hg l'aspiration du mercure, P mm Hg la pression en début et fin d'expérience et V cm³ le volume de l'erlenmeyer ; on a dans ces conditions :

$$\text{cm}^3 \text{ O}_2 = V \times \frac{x}{P}$$

MESURE DU POUVOIR ENZYMATIQUE DU SOL (SACCHARASE)

PRINCIPE

Les enzymes « saccharase » contenus dans les corps microbiens dédoublent le saccharose en sucres réducteurs que l'on titre à la liqueur de Fehling — on peut admettre que l'activité microbienne est en relation avec la quantité de sucres réducteurs en fin d'expérience.

Technique

20 g de sol.

2,5 cm³ de toluène

Attendre 15 minutes

Ajouter 10 cm³ de tampon pH 5,5 (acide acétique, phosphate di Na).

— 10 cm³ de solution sucrée à 20 % (saccharose).

Mettre 23 heures à l'étuve à 37°.

Ajouter 80 cm³ d'eau distillée à 37°.

Mettre 1 heure à l'étuve.

Filtrer.

Prélever 10 cm³ du filtrat clair.

Ajouter exactement 5 cm³ de liqueur de Fehling.

(Mélanger exactement 1/2 A et 1/2 B et environ 5 cm³ d'eau distillée.)

Porter jusqu'à ébullition commençante.

Ajouter 5 cm³ SO₄H₂ 1/5 (sans précision) et 5 cm³ d'iodure de potassium à 20 % (sans précision).

Enfin ajouter 5 cm³ de solution d'amidon (sans précision).

(300 mg dans 100 cm³ d'eau bouillante).

Titre à l'hyposulfite N/10 jusqu'à disparition de la couleur bleue (la teinte passe au blanc).

Solutions

Fehling A : 69,278 g CuSO₄, 5 H₂O par litre.

Fehling B : 246 g sel de Seignette (tartrate double) } par litre
250 g KOH

Hyposulfite N/10 : 24,83 g par litre.

Tampon

C) Phosphate di Na, 2H₂O, N/10 : 5,935 g p. l } mettre environ 730 cm³
D) Acide acétique N/10 : 6 g p. l } de C et 270 de D. Régler
à pH 5,5

Etalonnage

Si pour 10 cm³ de Fehling (F) (5 A et 5 B) il faut y cm³ hyposulfite (H) et si pour 20 mg de glucose avec 10 cm³ F, il faut x cm³ H :

$$1 \text{ cm}^3 \text{ F} = \frac{2y}{y-x} \text{ mg glucose}$$

Si dans le cas du sol, on utilise 5 cm³ F (2,5 A + 2,5 B) et que l'on titre en retour avec z cm³ H, on a pour le pouvoir enzymatique Es :

$$\text{Es} = \text{mg sucres réducteurs/g de sol} = \frac{y}{y-x} \left(5 - z \frac{10}{y} \right)$$

$$\text{Es} = a - bz$$

a et b = constantes

DÉTERMINATION DE L'AZOTE MINÉRALISABLE
DOSAGE DES NITRATES A L'ACIDE PHÉNOLDISULFONIQUE

On détermine les teneurs en azote nitrique dans le sol avant et après le séjour à l'étuve à 30° pendant quatre semaines. L'augmentation du taux d'azote nitrique peut être appelée « azote minéralisable ».

Technique.

Mettre 25 g de sol dans un erlen de 300 cm³. Ajouter 10 cm³ d'eau distillée. Boucher par bouchon à un trou. Mettre à l'étuve à 30°, et, après vingt-huit jours, ajouter quatre gouttes de toluène et 50 cm³ d'eau distillée, filtrer après quinze minutes d'agitation. Prélever 10 cm³ (ou 20 cm³) du filtrat dans un bécher de 100 cm³. Ajouter 2 cm³ de CO₃Na₂ à 10 % et amener à sec. Laisser refroidir et ajouter 2 cm³ du réactif phénoldisulfonique et remuer. Attendre dix minutes, puis diluer avec 15 cm³ d'eau distillée et 20 cm³ d'ammoniaque à 1/2 pour faire paraître la coloration. Enfin, transvaser dans un ballon jaugé de 100 cm³ et compléter à 100 cm³ à l'eau distillée. La solution est prête à colorimétrer par filtre bleu.

Mesure de l'azote nitrique préexistant.

Prendre 25 g de sol et ajouter 60 cm³ d'eau distillée. Agiter quinze minutes, filtrer et reprendre 10 ou 20 cm³. Continuer comme précédemment.

Calculs.

Dans le cas où l'on a prélevé 10 cm³ du filtrat, les correspondances entre la déviation D (le zéro étant fait à l'eau distillée) et la concentration en azote nitrique mg/kg ou ppm N-NO₃ sont déterminées par étalonnage avec des solutions dont la teneur en nitrate augmente (colorimètre Meunier et le filtre bleu).

Il faut se tenir de préférence en dessous de $D = 100$.

Préparation du réactif.

Dissoudre 25 g de phénol pur dans 150 cm³ d'acide sulfurique concentré pur. Ajouter 75 cm³ d'acide sulfurique fumant (15 % SO₃). Agiter et chauffer deux heures à environ 100°.

APPRÉCIATION DE LA FERTILITÉ MINÉRALE GLOBALE PAR *Aspergillus niger*

50 cm³ par erlenmeyer de 300 cm³ du milieu suivant :

Saccharose pur	100 g
Acide citrique	10 g

SO ₄ Am.	6 g
H ₂ O dist.	q.s. 1 l.

Ajouter ensuite 20 g de sol, puis 1 cm³ d'une suspension de spores d'*A. niger*. Comparer les sols entre eux d'après le poids du mycélium récolté après six jours à 30° à l'étuve.

Une gamme étalon a été établie en ajoutant des doses croissantes d'une solution minérale complète à pH 5,9.

Phosphate mono K	10	g
Phosphate di Na	3	g
Sulfate de Mg	1	g
Chlorure de Ca	0,1	g
Sulfate de Fe	0,1	g
Sulfate de Mn	0,02	g
Molybdate de Na	0,005	g
H ₂ O	q.s.	1 l.

Le palier de la récolte s'établit entre 1,2 et 2 cm³ de cette solution.

DOSAGE DE LA POTASSE PAR *Aspergillus niger*

La méthode employée est intermédiaire entre celle de MEHLICH (cf. Diagnostic technics for soils and crops — Potash Institute U.S.A.) et celle préconisée à Gembloux.

Le milieu sans potasse ajouté au sol pour la croissance du Champignon, la potasse étant fournie par le sol, a la composition suivante :

Saccharose	100	g
Acide citrique	10	g
SO ₄ (NH ₄) ₂	6	g
SO ₄ Mg	1	g
PO ₄ Na ₂ H, 12 H ₂ O	3,8	
SO ₄ Cu	1	mg
SO ₄ Mn	10	mg
SO ₄ Fe	5	mg
SO ₄ Zn	1	mg
MoO ₄ Na ₂		

Dans des erlenmeyers de 300 cm³, on met 40 cm³ de milieu nutritif, puis 2 cm³ du mélange suivant préparé environ 1/2 heure avant l'emploi :

Acide citrique	10	g
CO ₃ Ca	7,6	g
H ₂ O	q.s.	pour 35,2 cm ³

On ajoute ensuite dans chaque erlen :

Sol (séché à l'air)	5	g
---------------------------	---	---

Suspension de spores d'*A. niger* dans l'eau distillée : 1 cm³.

Eau distillée : 14 cm³.

On laisse le tout à 30°, à l'étuve, pendant six jours, après quoi on récolte le mycélium (formant une rondelle assez résistante). On le sèche douze heures à 70° et on le pèse.

Les résultats sont à rapporter à une courbe étalon obtenue en ajoutant des quantités croissantes d'une solution de SO₄K₂ à 924,9 mg/l dans une série d'erlens.

Erlen N° →	1	2	3	4	5	6	7	8
cm ³ sol potass.	0	1	2	4	6	8	11	14
mg K ₂ O	0	0,5	1	2	3	4	5,5	7
cm ³ H ₂ O distill.	14	13	12	10	8	6	3	0

Volume total : 40 cm³ milieu nutritif
 14 cm³ eau + potasse
 2 cm³ citrate Ca
 1 cm³ spores

 57 cm³

Le pH final est voisin de 4.

Les poids suivants de mycélium ont été obtenus pour l'étalonnage :

mg K ₂ O	mg mycélium
0	170
0,5	628
1	969
2	1392
3	1584
4	1774
5,5	1877
7	2083

DOSAGE DU PHOSPHORE PAR *Aspergillus niger*

Le milieu nutritif est le même que pour le dosage de la potasse, sinon qu'il contient 1,85 % SO₄K₂ au lieu de 3,8 % PO₄Na₂H, 12 H₂O.

La courbe d'étalonnage est obtenue de la même façon que pour la potasse, mais avec des doses croissantes de P₂O₅, traduisant les résultats suivants :

mg P ₂ O ₅ dans erlen	mg mycélium
0	0
0,5	384
1	593
2	924
3	1123
4	1440
5	1780
6	1858

Pour le dosage proprement dit, on n'utilise que 2,5 g de sol au lieu de 5 pour la potasse, sinon le mode opératoire est exactement le même.

DOSAGE DU MAGNÉSIUM PAR *Aspergillus niger*

Milieu nutritif.

40 cm³ par erlenmeyer de 300 cm³ du milieu suivant :

Glucose	60 g
Acide citrique	0,7 g
NO ₃ K	3 g
PO ₄ Na ₂ H, 12 H ₂ O	2,5 g
(NO ₃) ² Ca	0,6 g
SO ₄ K ₂	0,5 g
SO ₄ Fe	3 mg
SO ₄ Zn	2 mg
SO ₄ Mn	1 mg
SO ₄ Cu	1 mg
MoO ₄ Na ₂	0,5 mg

La gamme étalon est réalisée en ajoutant des quantités croissantes d'une solution de SO₄Mg, 7 H₂O à 2,534 ‰ (1 cm³ = 0,25 mg Mg), de 0 à 0,4 mg Mg par erlenmeyer.

Le pH du milieu est de 4,7

L'ensemencement est réalisé comme dans le cas des dosages de P₂O₅ et K₂O et la récolte est effectuée après six jours à 30°.

Pour le dosage dans le sol, on ajoute 1 g de sol au milieu sans Mg.

