

## A PROPOS DES TECHNIQUES D'ÉTUDE MICROBIOLOGIQUE DES TERRES TROPICALES

par

J. KAUFFMANN

(Office de la Recherche Scientifique Outre-Mer, Laboratoire  
de Microbiologie du sol)

L'activité biologique des terres est en rapport direct avec le milieu. Les terres tropicales, généralement très pauvres en humus, sont mal tamponnées contre les variations du milieu. Il en résulte que l'activité biologique de ces terres dépend essentiellement de leur teneur en matière organique et de leur degré d'humidité : facteurs du milieu éminemment variables suivant la nature et l'intensité du couvert végétal et suivant la saison. Une terre en saison sèche aura une activité microbienne moindre qu'en saison humide et, de même, une terre nue aura une plus faible activité que sous couvert végétal.

Etant donné les fortes fluctuations qu'elle peut subir, l'activité microbienne d'une terre, étudiée au moment de son prélèvement, peut difficilement servir de test biologique pour déterminer la nature de cette terre.

Cependant, un facteur propre à la terre règle assurément son état biologique indépendamment du couvert végétal et du degré d'humidité, c'est le pH. La flore microbienne s'appauvrit nettement dans les terres à pH inférieur à 5,5. L'activité microbienne est pratiquement nulle dans les terres de pH inférieur à 4,5.

Winogradsky (1), pour rechercher le pouvoir fixateur des terres, utilise les deux techniques suivantes :

a) Recherche de la densité des *Azotobacter* sur les échantillons de terre au moment du prélèvement.

b) Recherche de l'ampleur des colonies d'*Azotobacter* se développant sur l'échantillon de terre additionné de mannite. Cette deuxième méthode permet d'éliminer le facteur « carbone organique » pouvant être la cause de la carence en *Azotobacter* de l'échantillon témoin.

Le principe de notre méthode d'étude microbiologique des terres tropicales consiste à soumettre les échantillons de terre, pendant un temps défini, à des conditions d'humidité et de température bien définies après les avoir enrichis de différentes substances organiques à des concentrations également bien définies. Cette méthode permet ainsi de comparer l'activité biologique des terres entre elles indépendamment des facteurs « couvert végétal », « humidité » et « température ».

## I. — TECHNIQUE EXPERIMENTALE

La terre séchée à l'air et passée au tamis de 2 mm est répartie dans des boîtes de Pétri de 4 cm de diamètre à raison de 5 g de terre par boîte.

Les 5 g de terre sont enrichis soit de caséine à la concentration de 0,5 g %, soit d'amidon à la concentration de 1 g %, soit de cellulose (sous forme de fragments de papier filtre) à la concentration de 0,5 g %. On réserve des terres témoins non enrichies en substances organiques. La terre est mélangée intimement avec la substance organique. On amène à l'humidité équivalente et on porte à l'étuve à 29-30°. Au 8<sup>e</sup> et au 30<sup>e</sup> jour de culture on recherche sur chaque échantillon :

- a) L'activité des germes fixateurs de l'azote libre ;
- b) L'activité des germes cellulolytiques ;
- c) L'activité des germes nitrificateurs.

Ces recherches sont complétées par des mesures journalières du potentiel d'oxydoréduction et du pH.

Ces études sont faites également sur les échantillons au moment du prélèvement.

a) *Mesure de l'activité des différents micro-organismes.*

La méthode des dilutions de terre mise au point par Hiltner et Störmer (2) en 1903 consiste à ensemercer avec des dilutions croissantes de terre des milieux sélectifs liquides. On caractérise l'activité du groupement microbien, mis en évidence par le milieu sélectif, en fonction du temps d'incubation et de la dilution.

Winogradsky (1) ensemece des milieux sélectifs solides avec des grains de terre. Cet auteur dénombre le pourcentage de grains de terre donnant des colonies microbiennes.

Nous utilisons la méthode de Winogradsky pour déterminer l'activité des germes aérobies fixateurs de l'azote libre (*Azotobacter* et *Beijerinckia*) et l'activité des germes cellulolytiques.

L'activité des germes fixateurs anaérobies (*Clostridium*) est mise en évidence par la microscopie directe (impression de lame à la surface de la terre).

La méthode des plaques de silico-gel pour l'étude de l'activité des bactéries nitrifiantes dans les terres acides donne des résultats trop faibles (3). Nous utilisons le milieu liquide (4). L'activité nitrifiante d'une terre est déterminée par la rapidité d'oxydation des ions  $\text{NH}_4^+$  en ions  $\text{NO}_2^-$  puis  $\text{NO}_3^-$  dans un milieu liquide ensemece avec une quantité définie de terre (6).

b) *Mesure du Eh et du pH des terres.*

Les électrodes sont enfoncées directement dans la terre. La précision des mesures est de  $\pm 30$  mv (5).

## II. — INTERPRÉTATION DES RESULTATS

a) *Pouvoir fixateur de l'azote libre.*

Les variations de la densité des *Azotobacter* trouvées dans la terre témoin au cours des différents prélèvements indiquent la possibilité de prolifération de ces germes à partir des réserves carbonées de la terre.

La terre enrichie en amidon permet de connaître l'activité maximum des *Azotobacter* dans cette terre. La matière organique azotée inhibe plus ou moins la croissance des germes fixateurs de l'azote suivant la nature de la terre. L'action de la cellulose sur les *Azotobacter* est également différente suivant le type de terre étudié.

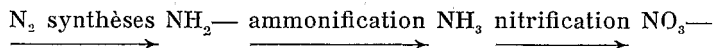
b) *Pouvoir cellulolytique.*

Les différentes matières organiques ajoutées à la terre permettent de connaître leur action sur la croissance des germes cellulolytiques en fonction du type de terre.

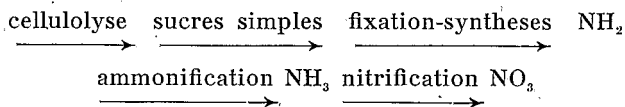
c) *Pouvoir nitrificateur (6).*

Les variations du pouvoir nitrificateur de la terre témoin en fonction du temps permettent de connaître l'activité de la minéralisation de l'azote à partir des réserves azotées de la terre.

La différence du pouvoir nitrificateur de la terre traitée à l'amidon par rapport à celui de la terre témoin indique l'activité des réactions suivantes :



De même le pouvoir nitrificateur des terres enrichies en cellulose renseigne sur les activités suivantes :

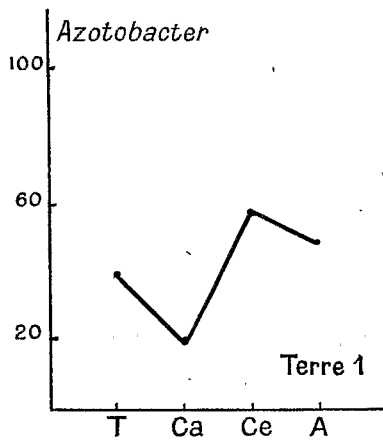


L'activité nitrifiante d'une terre enrichie en substances organiques azotées par rapport à celle de la terre témoin traduit l'activité minéralisatrice de l'azote à partir de cette substance, ce qui représente, en quelque sorte, le pouvoir ammonificateur utile de la terre (7). L'activité de la minéralisation de l'azote est d'autant plus grande que l'augmentation de l'activité nitrifiante de la terre traitée par rapport à l'activité de la terre témoin est grande et que l'activité de la terre traitée est rapide.

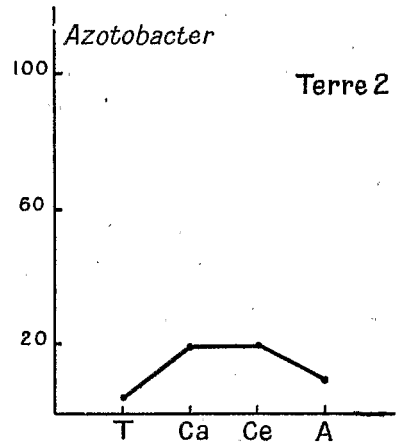
d) *Pouvoir réducteur des terres.*

Les mesures du Eh permettent de connaître l'influence de la matière sur le pouvoir réducteur des terres (5). La chute de potentiel provoquée par l'amidon est plus ou moins rapide suivant la nature de la terre.

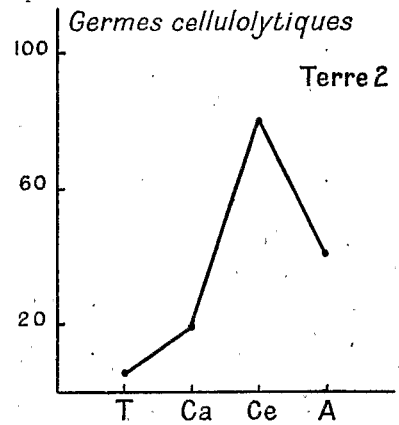
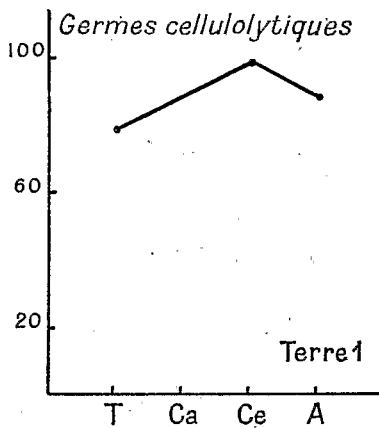
Le Eh de la terre témoin, où l'activité bactérienne est pratiquement nulle, indique essentiellement le niveau d'oxydoréduction des éléments minéraux de la terre.



Graphique I



GRAPHIQUE I



GRAPHIQUE II

En ordonnée : pourcentage de grains de terre positifs.

En abscisse : T : terre témoin.

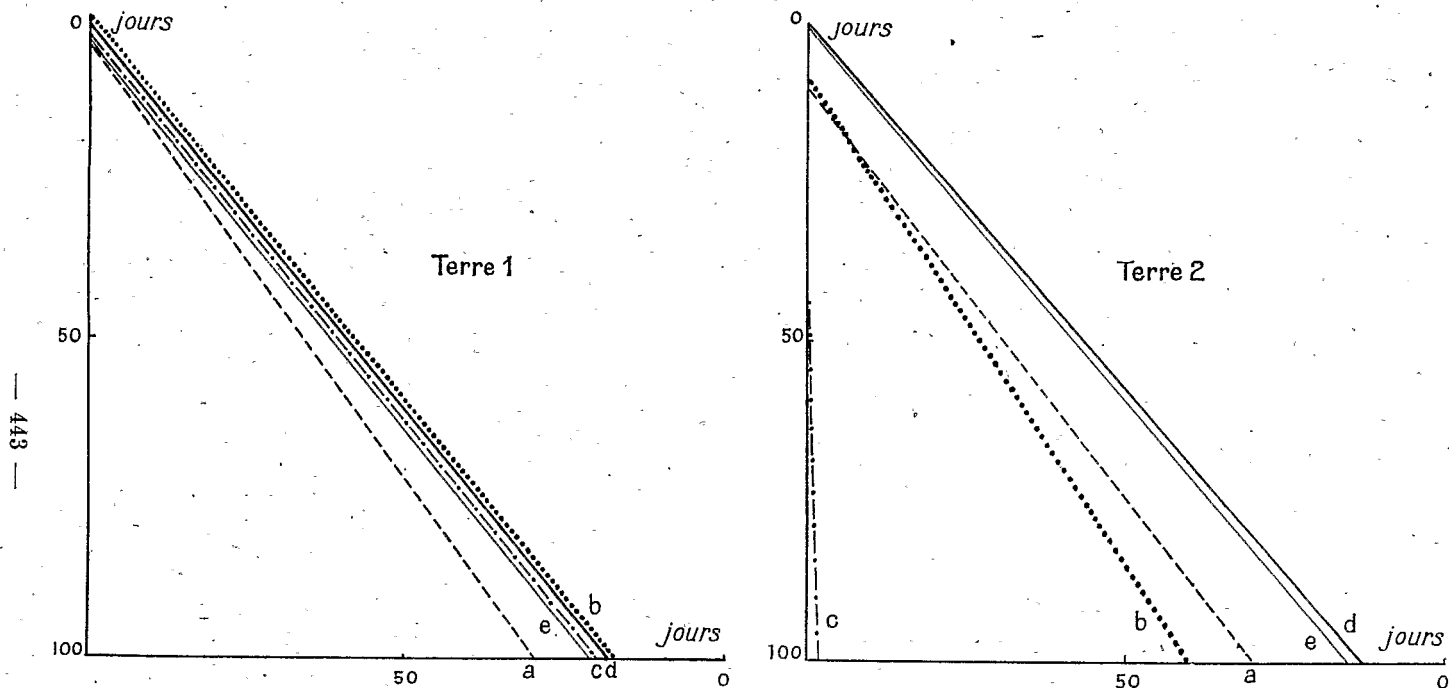
Ca : terre + caséine.

Ce : terre + cellulose.

A : terre + amidon.

#### e) Interprétation graphique des résultats.

Seuls les résultats obtenus à partir de deux terres très différentes sont traduits dans les graphiques. La terre I est une terre de culture de région tempérée. La terre II est d'origine tropicale.



GRAPHIQUE III

Courbes de nitrification :

En ordonnée : jour d'apparition des nitrites.

En abscisse : jour de disparition des nitrites.

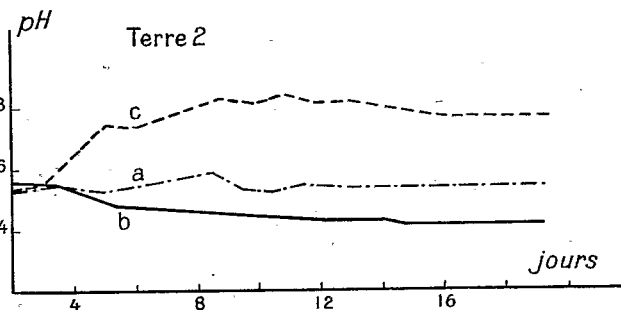
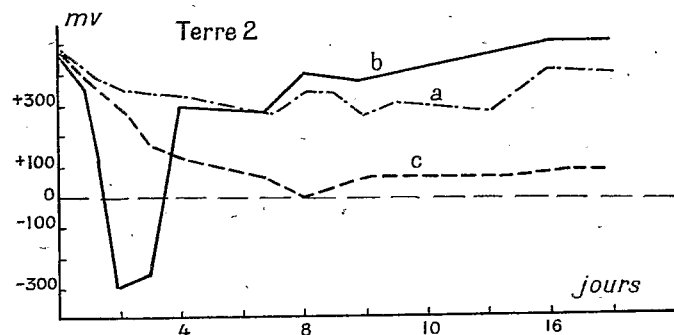
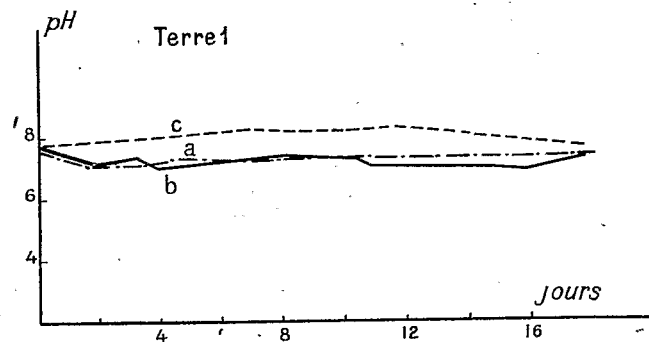
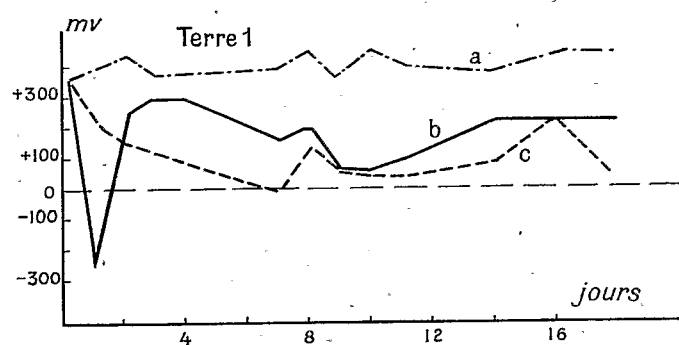
a : terre témoin après 8 jours d'incubation à l'étuve.

b : terre + amidon après 30 jours d'incubation.

c : terre + caséine après 8 jours d'incubation.

d : terre + cellulose après 30 jours d'incubation.

e : terre témoin après 30 jours d'incubation.



GRAPHIQUE IV

Influence de la matière organique sur le Eh et le pH des terres.

En abscisse : nombre de jours de culture.

a : terre témoin. — b : terre + amidon. — c) terre + caséine.

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) WINOGRADSKY S. Microbiologie du sol. Problèmes et méthodes. Ed. Masson et Cie. 1949.
- (2) HILTNER L. und STORMER K. Studien über die Bakterienflora des Ackerbodens mit besonderer Berücksichtigung ihres Verhaltens nach einer Behandlung mit Schwefelkohlenstoff und nach Brache. Arb.a.d. Biol.Abt.f. Land u.Forst.am Kaiser Ges.Bd.III,Heft 5,445-575,1903.
- (3) KAUFFMANN J. et BOQUEL Mlle G. Nouvelle méthode de détermination du pouvoir nitrificateur d'une terre. Ann. Inst. Pasteur, 1951, 81, 667.
- (4) KAUFFMANN J. et BOQUEL Mlle G. Action du phosphore sur l'activité des germes nitrificateurs et dénitrificateurs du sol. Ann. Inst. Pasteur, 1953, 85, 365.
- (5) KAUFFMANN J., BOQUEL Mlle G. et TOUSSAINT P. Influence de la matière organique sur le potentiel d'oxydo-réduction des terres. VI<sup>e</sup> Congrès Int. Sci. du sol, 1956.
- (6) KAUFFMANN J., BOQUEL Mlle G. et TOUSSAINT P. Sur le rapport entre les pouvoirs cellulolytiques, fixateur de l'azote atmosphérique, ammonificateur et nitrificateur des terres. Essais d'application à la classification biologique des sols. Agro. Trop., 1956, n° 1.
- (7) KAUFFMANN J., BOQUEL Mlle G. et DABIN B. Nouvelle méthode de détermination du pouvoir ammonificateur des terres. C.R. Acad. Sci., 1955, 240, 470-472.

## ZUSAMMENFASSUNG

Tropische Böden, die im allgemeinen sehr humusarm sind, sind schlecht gegen Milieu-Variationen geschützt. Daher ist die biologische Aktivität dieser Böden wesentlich von ihrem Gehalt an organischen Stoffen und ihrem Feuchtigkeitsgrad abhängig; diese Faktoren sind gemäss der Art und Intensität der Pflanzendecke und gemäss der Jahreszeit höchst veränderlich.

Das Prinzip unserer mikrobiologischen Untersuchungsmethoden tropischer Böden besteht darin, die Proben während einer bestimmten Zeit gut festgelegten Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen zu unterwerfen, nachdem sie an verschiedenen organischen Substanzen ebenfalls gut definierter Konzentrationen angereichert worden sind. Diese Methode gestattet somit, die biologische Aktivität der Böden unter sich, unabhängig von den Faktoren „Pflanzendecke“, „Feuchtigkeitsgrad“ und „Temperatur“ zu vergleichen und dadurch den Einfluss dieser Faktoren auf die biologische Aktivität zu erkennen.

## SUMMARY

Tropical soils, generally very poor in humus, are ill-protected against ecological fluctuations. Therefore, biological activity of these soils mainly depends on organic matter content and moisture degree which are variable factors.

Our microbiological method principle was to put the samples under well definite moisture and temperature conditions, during a certain time after having supplied them with different organic matters, in well definite quantities. Thus, we could know the influence of vegetation, moisture and temperature on biological activity of the soil.

**RÉSUMÉ**

Les terres tropicales, généralement très pauvres en humus, sont mal tamponnées contre les variations du milieu. Il en résulte que l'activité biologique de ces terres dépend essentiellement de leur teneur en matière organique et de leur degré d'humidité : facteurs éminemment variables suivant la nature et l'intensité du couvert végétal et suivant la saison.

Le principe de notre méthode d'étude microbiologique des terres tropicales consiste à soumettre les échantillons, pendant un temps défini, à des conditions d'humidité et de température bien définies après les avoir enrichis de différentes substances organiques à des concentrations également bien définies. Cette méthode permet ainsi de comparer l'activité biologique des terres entre elles indépendamment des facteurs « couvert végétal », « humidité » et « température » et, par là même, de connaître l'influence de ces facteurs sur cette activité biologique.