

OFFICE DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE OUTRE-MER
20, rue Monsieur
PARIS VII^e

COTE DE CLASSEMENT N° 1286

PHYSIOLOGIE

ESSAIS D'ENSEMENCEMENT DE L'AZOTOBACTER CHROOCOCCUM

par

H. JACQUEMIN

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 29.690-001

Cote : B

N° 1286

I.D.E.R.T. Abidjan
septembre 1953

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE OUTRE-MER

INSTITUT D'ENSEIGNEMENT
et de RECHERCHES TROPICALES

ESSAIS D'ENSEMENCEMENT de l'AZOTOBACTER CHROOCOCCUM

ADIOPODOUMÉ, Septembre 1953

H. JACQUEMIN.

ORSTOM Fonds Documentaire

N° : 29.690 exp 1

Cote : B

ESSAIS D'ENSEIGNEMENT DE L'AZOTOBACTER CHROOCOCCUM

I - BUT DE L'EXPERIENCE :

Ce travail est destiné à étudier le comportement de l'Azotobacter chroococcum dans le sol de la région d'ABIDJAN et de déterminer l'influence qu'il exerce sur le pouvoir nitrificateur d'une terre.

II - TECHNIQUES EMPLOYEES :

Une culture d'A. chroococcum provenant de l'I.D.E.R.T. de BONDY a été ensemencée dans une parcelle de terre maintenue dénudée pendant trois ans et se trouvant dans la forêt d'ADIOPODOUME.

Dès sa réception, la souche bactérienne fut ensemencée dans quatre boites de Roux renfermant chacune 200 cc du milieu liquide de composition suivante :

Solution de Winogradsky	5 %
Glucose	1 %
Calcaire	0,2 %

Le tout a été abandonné à la température de 27° et dix jours après, le contenu de ces boites qui était très riche en A. chroococcum, fut répandu sur le milieu suivant :

Terre provenant de la parcelle dénudée :	180 Kg
Calcaire	1,2 Kg
Phosphate bicalcique	0,6 Kg
Saccharose	1,8 Kg

Le tout a été malaxé avec de l'eau, de manière à obtenir une terre plastique, et étalé en une couche d'environ 5 cm d'épaisseur dans une cave du laboratoire à la température de 27°.

PREPARATION DU TERRAIN :

Dans la partie la plus dénudée du terrain, nous avons tracé trois carrés latins de neuf parcelles chacun, sur lesquels ont été répartis les trois traitements suivants :

TRAITEMENT I : engrais vert
 TRAITEMENT II : engrais vert + calcaire
 TRAITEMENT III : engrais vert + calcaire + terre
 renfermant les A. chroococcum.

Chaque parcelle élémentaire possédait 3 m de côté. L'engrais vert était constitué par des jeunes pousses de *Crotalaria striata*, hachées et enfouies dans le sol à la dose de 30 T à l'hectare, soit 27 Kg par parcelle. Cet engrais a été enterré 20 jours avant l'épandage de la terre bactérienne, afin qu'il ait pu commencer de se décomposer. Comme calcaire, nous avons utilisé de la chaux vive que nous avons laissée se carboniser à l'air après l'avoir éteinte. La dose appliquée pour les traitements II et III était de l'ordre de 13,5 Kg par parcelle, ce qui correspond à 0,4 % environ du poids de la couche superficielle de terre ayant 0,30 m d'épaisseur.

Le 28 Avril, le milieu terreux ayant servi à la multiplication des A. chroococcum a été divisé en neuf portions égales et chacune d'elles a été répandue puis enfouie dans les parcelles correspondant au traitement III.

PLAN DE LA DISPOSITION DES PARCELLES
 27 m

I	II	III	II	III	I	III	I	II
II	III	I	III	I	II	I	II	III
III	I	II	I	II	III	II	III	I
A	B	C	D	E	F	G	H	I

Les chiffres romains indiquent les traitements appliqués dans les parcelles.

PRELEVEMENTS :

Le 13 mai, le 28 mai et le 29 juin, soit respectivement 15 jours, un mois et deux mois après l'ensemencement de l'A. chroococcum dans le sol, nous avons effectué des prélèvements de terre dans chacune des 27 parcelles. Cette opération a été réalisée au moyen de tubes en verre de 22 mm de diamètre,

qui avaient été, au préalable, bouchés au coton et stérilisés à 160°. Avant d'y enfoncer les tubes, la surface du sol était légèrement décapée et la colonne de terre prélevée était comprise entre 2 et 10 cm environ de profondeur. Sur chaque parcelle, nous avons effectué ainsi et en des endroits différents, trois prélèvements qui étaient ensuite mélangés intimement afin d'obtenir un meilleur échantillonnage.

RECHERCHE DE LA DENSITE DE L'A. CHROOCOCCUM :

Lors des divers prélèvements, pour chacun des 27 échantillons de terre ainsi obtenus, nous avons ensemencé 50 grains de terre sur une plaque de silico-gel, en utilisant la technique de Winogradsky. Le milieu était constitué par :

Silico-gel.....	30 cc
Solution saline de WINOGRADSKY	2 cc
Carbonate de calcium	0,2 g
Glucose	0,5 g

Les plaques étaient ensuite empilées à l'envers dans des cristallisoirs fermés, contenant un peu d'eau et placées dans une cave à 27°. Après quelques jours, nous pouvions déterminer le pourcentage des grains qui avaient donné naissance à une colonie.

RECHERCHE DE LA DENSITE DES GERMES NITRIFICATEURS :

Parallèlement à l'opération précédente, nous avons déterminé par la méthode chimique (≠) quel était pour chaque échantillon de terre, le pourcentage de grains oxydant un milieu ammoniacal et le pourcentage de grains oxydant un milieu nitreux. Dans chaque cas, nous avons ensemencé 25 grains de terre dans autant de tubes à hémolyse. Le tout était abandonné pendant un mois dans la cave à 27°, puis au moyen du réactif de Griess et de la diphénylamine sulfurique, nous avons déterminé le pourcentage de grains positifs dans les deux séries d'expérience.

CONTROLE DE LA SURVIVANCE DES A. CHROOCOCCUM :

A chaque prélèvement, nous avons vérifié par un examen au microscope, que le sol des parcelles de traitement III renfermait toujours des A. chroococcum. Pour cela, des prises de cette terre étaient traitées par la technique des terres moulées. Quelques jours après, une lame de microscope, appliquée sur les colonies qui se formaient en surface, permettait d'examiner, après coloration, la constitution de la microflore.

≠) - Nouvelle méthode de détermination du pouvoir nitrificateur d'une terre par J. Kauffmann et G. Boquel - ann. Ins. Pasteur 1951-81-667.

TABLEAU I

Pourcentage de grains de terre positifs

	PARCELLES	Méthode des Plaques au Silice-gel			Méthode chimique Germes nitreux			Méthode chimique Germes nitriques		
		1er Prél.	2e Prél.	3e Prél.	1er Prél.	2e Prél.	3e Prél.	1er Prél.	2e Prél.	3e Prél.
TRAITEMENT I	A 3	0 %	0 %	0 %	68 %	20 %	32 %	84 %	32 %	44 %
	B 1	0	0	0	76	44	28	76	20	12
	C 2	8	2	0	32	76	28	60	28	4
	D 1	4	2	2 *	92	48	20	100	24	20
	E 2	0	0	0	40	68	24	36	56	4
	F 3	0	4	2	56	60	12	48	40	40
	G 2	0	0	0	28	44	24	84	8	8
	H 3	2	0	0	88	16	20	68	20	12
	I 1	12	0	0	64	44	4	44	48	12
TRAITEMENT II	A 2	0	0	2	56	64	28	72	24	8
	B 3	0	14	4	80	92	24	80	28	0
	C 1	6	0	0	88	92	16	52	44	8
	D 3	2	2	0	80	92	0	76	56	28
	E 1	2	0	0	56	80	12	20	24	12
	F 2	10	0	0	40	72	8	56	28	20
	G 1	0	0	0	56	36	20	56	12	0
	H 2	0	0	0	56	52	8	44	0	12
	I 3	4	0	0	80	24	8	64	4	16
TRAITEMENT III	A 1	14	94	62	92	92	20	60	12	40
	B 2	0	14	18	76	80	20	68	20	32
	C 3	0	16	12	88	60	16	80	40	12
	D 2	2	50	62	72	92	12	56	44	16
	E 3	14	20	76	48	76	4	20	40	20
	F 1	64	90	84	76	68	8	44	4	8
	G 3	32	60	90	80	56	4	44	44	12
	H 1	28	88	0	72	56	16	24	60	20
	I 2	6	98	52	80	76	8	40	24	4

III - PRESENTATION DES RESULTATS :

Le Tableau I indique, pour chaque parcelle, les pourcentages de grains de terre ayant donné une réaction positive, d'une part avec la méthode du silico-gel, et d'autre part avec les deux méthodes chimiques.

Le Tableau II indique les moyens des résultats obtenus dans chaque série d'expériences.

TABLEAU II
Pourcentages moyens

	A. Chroococcum			Germe nitreux			Germe nitrique		
	1 ^o Prélt.	2 ^e Prélt.	3 ^e Prélt.	1 ^o Prélt.	2 ^e Prélt.	3 ^e Prélt.	1 ^o Prélt.	2 ^e Prélt.	3 ^e Prélt.
I	2,9 %	0,9 %	0,5 %	60,4 %	46,7 %	21,3 %	66,7 %	30,7 %	17,3 %
II	2,7 %	1,8 %	0,7 %	65,8 %	67,1 %	13,8 %	57,8 %	24,4 %	11,6 %
III	17,8 %	58,9 %	50,7 %	76,0 %	72,9 %	12, %	48,4 %	32, %	18,2 %

Dans le cas des grains de terreensemencés dans du milieu renfermant du nitrite de sodium, nous avons établi quel était le pourcentage de grains ayant dénitrifié de milieu. Dans ce cas, le réactif de Griess et la diphénylamine sulfurique donnaient tous les deux une réaction négative avec le milieu.

Les résultats sont détaillés dans le Tableau III et résumés dans le Tableau IV qui donne les moyennes par traitement et par prélèvement.

TABLEAU III

Pourcentage des grains de terre dénitrifiants

TRAITEMENT	PARCELLES		1er Prélèvement	2e Prélèvement	3e Prélèvement
	I	A	3	16 %	64 %
B		1	24	80	88
C		2	16	72	96
D		1	10	76	80
E		2	56	44	96
F		3	52	60	60
G		2	16	92	92
H		3	32	80	88
I		1	56	52	88
II	A	2	28 %	72 %	88 %
	B	3	12	68	96
	C	1	48	56	92
	D	3	24	44	72
	E	1	80	76	88
	F	2	44	72	80
	G	1	44	88	100
	H	2	52	100	88
	I	3	36	96	84
III	A	1	40 %	84 %	60 %
	B	2	28	80	68
	C	3	16	60	88
	D	2	40	56	84
	E	3	76	60	80
	F	1	52	92	92
	G	3	56	52	88
	H	1	60	36	80
	I	2	40	76	96

TABLEAU IV

Pourcentages moyens des grains de terre dénitrifiants

Traitements	1 ^o Prélèvement	2e Prélèvement	3e Prélèvement
I	29,8 %	68,9 %	82,7 %
II	40,9	74,7	87,6
III	45,3	66,2	81,8

IV - INTERPRETATION DES RESULTATS :

Pour les résultats obtenus sur la densité des A. Chroococcum et des germes nitrificateurs, nous avons effectué nos calculs statistiques par comparaison des traitements I et II et des traitements II et III, en utilisant la méthode d'appariement. Les résultats de ces calculs sont résumés au Tableau V.

TABLEAU V
Résultats des calculs statistiques

Germes	Traitements Comparés	Paramètre t (Coef. de Student)	Probabilité P pr. 24° liberté	Commentaires
A. Chroococcum	I & II	0,37	# 0,70	pas significati Hautement -
	II & III	6,15	# 0,01	
G. nitreux	I & II	1,48	~ 0,15	pas significati pas significati
	II & III	1,35	# 0,20	
G. nitriques	I & II	1,48	~ 0,15	pas significati pas significati
	II & III	0,41	# 0,70	

V - CONCLUSIONS :

- a) La méthode des plaques de solico-gel permet de mettre en évidence d'une façon très significative que l'A. Chroococcum a fort bien survécu dans le sol après son ensemencement et s'y est multiplié. Ceci a été confirmé par les examens au microscope.
- b) La méthode chimique ne permet pas d'affirmer avec certitude que l'action de l'A. chroococcum dans le sol ait modifié le pouvoir nitrificateur de la terre. Il semble cependant que ce dernier aille en décroissant quel que soit le traitement, depuis le début de mai, jusqu'à la fin juin. Or, cette période correspond à la grande saison des pluies.
- c) Le pouvoir dénitrificateur tel que l'expriment les pourcentages moyens indiqués au Tableau IV est très intense pour les trois traitements. De plus, il s'accroît régulièrement depuis le début de mai jusqu'à la fin juin.