

Vincent JACQ

RECHERCHES PRÉLIMINAIRES

CONCERNANT

LA SULFATO-RÉDUCTION RHIZOSPHERIQUE

ET LA

SULFATO-RÉDUCTION SPERMOSPHERIQUE

OFFICE DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

ET TECHNIQUE OUTRE-MER



O. R. S. T. O. M.
PARIS
1971

RECHERCHES PRELIMINAIRES
CONCERNANT LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE
ET LA SULFATO-REDUCTION SPERMOSPHERIQUE

par
Vincent J A C Q

Cette étude a fait l'objet d'une Thèse de Doctorat de Spécialité
soutenue devant la Faculté des Sciences de l'Université de Nancy
le 14 décembre 1970

A mon Epouse,

A mes Parents,

A Anne et Yves

En témoignage de mon affection

A Monsieur le Professeur Ph. DUCHAUFOR, qui, par son enseignement, nous a permis d'acquérir les connaissances pédologiques indispensables à la réalisation de ce travail, et qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider le jury.

A Monsieur le Professeur Y. DOMMARGUES, qui nous a initié à la recherche et suggéré ce travail, le guidant à chacune de ses étapes avec une continuelle et bienveillante attention.

A Monsieur le Professeur M. METCHE, Maître de Conférence à la Faculté, dont les conseils nous ont toujours été très précieux.

A Monsieur le Professeur F. MANGENOT, qui a aimablement accepté de faire partie du jury.

A Monsieur VAN HOORN et Messieurs COMBREMONT et OLLAT, du C.R.U.E.S.I. (Tunisie), qui ont bien voulu nous faire part de leurs observations in situ et nous faire parvenir de nombreux échantillons du sol de Nakta.

A Madame ROUQUEROL, de l'I.N.R.A. de Montpellier, et Monsieur BERNARD, de la Station Agronomique de Melun, pour l'amabilité avec laquelle ils nous ont fait parvenir les sols français nécessaires à cette étude.

A Monsieur LE GALL, du C.N.R.S. de Marseille, qui a bien voulu nous faire parvenir des souches pures de bactéries sulfato-réductrices.

A Mesdames BECK, WEINHARD et JEANMAIRE, et Monsieur RENAUT, du Centre de Pédologie biologique de Nancy, pour leur aide technique constante.

A Madame DAVAINÉ et Monsieur SUEUR, qui ont bien voulu se charger, respectivement, de la dactylographie et de l'illustration de ce mémoire.

A tous nos camarades du Centre de Pédologie biologique de Nancy.

AVANT-PROPOS

Ce mémoire est la synthèse de travaux déjà publiés ou en cours de publication. Pour cette raison, nous avons évité de reprendre systématiquement toutes les méthodes utilisées, et nous avons condensé certaines descriptions de protocoles expérimentaux, et résumé l'énoncé de certains résultats. Les études détaillées font l'objet des publications suivantes :

- (1) DOMMARGUES (Y.), JACQ (V.) et BECK (G.), 1969 .- Influence de l'engorgement sur la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin. C.r. Acad. Sci. Paris, 268, 505-608.
- (2) DOMMARGUES (Y.), JACQ (V.), BALANDREAU (J.) et COMBREMONT (R.), 1969 .- Rhizospherical and spermatospherical sulfate-reduction and rhizospherical nitrogen fixation in saline soils. Proceedings of the third intern. conf. on the Global Impacts of Applied Microbiology(G.I.A.M. III) Bombay (sous presse).
- (3) JACQ (V.), 1969 .- Etude de la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin tunisien. D.E.A. Fac. Sci. Nancy (doc. ronéo).
- (4) DOMMARGUES (Y.) et JACQ (V.), 1970 .- Transformations microbiennes du soufre dans la rhizosphère et la spermosphère. Colloque sur le Soufre. Association Française pour l'Etude du Sol, Versailles (Conférence, non publiée).
- (5) JACQ (V.), 1970 .- Méthode colorimétrique de dosage de l'hydrogène sulfuré et de sulfures dans les sols et dans les solutions. Note technique 12 -- Centre de Pédologie - C.N.R.S. Nancy (doc. ronéo.).

- (6) JACQ (V.) et DOMMARGUES (Y.), 1970 .- Sulfato-réductions rhizosphérique et spermosphérique : influence de la densité apparente du sol. C.r. Acad. Agric. Fr. 56, 511-519.
- (7) JACQ (V.), 1971 .- Utilisation du micro-analyseur Radiometer pour l'étude du pH et des pressions partielles en oxygène et gaz carbonique dans les milieux de culture hydroponique. Note technique - Centre de Pédologie - C.N.R.S. Nancy - (doc. ronéo., en préparation).
- (8) JACQ (V.) et DOMMARGUES (Y.), 1971 .- Influence de l'intensité d'éclairément et de l'âge de la plante sur la sulfato-réduction rhizosphérique. Zentbl. Bakt. ParasitKde (sous presse).
- (9) JACQ (V.) DOMMARGUES (Y.) et WEINHARD (P.), 1971 .- Sulfato-réduction spermosphérique. Annl's Inst. Pasteur (sous presse).

SOMMAIRE

....

	Pages
INTRODUCTION	1
Chapitre I. METHODOLOGIE	4
A. Plantes-test	4
B. Méthodes de culture	6
C. Sols utilisés	8
D. Milieux de culture hydroponique	15
E. Analyses bactériologiques	18
F. Analyses physico-chimiques	22
G. Exploitation statistique des résultats	28
<hr/>	
Chapitre II. RESULTATS EXPERIMENTAUX CONCERNANT LA SULFATO- REDUCTION RHIZOSPHERIQUE	31
A. Origine biologique et nature rhizosphérique ...	32
B. Influence des facteurs favorisant l'anaérobiose	35
a - Influence de l'engorgement du sol	35
b - Influence de la densité apparente du sol	42
C. Influence de la teneur du sol en sulfates solubles	45
D. Influence des facteurs favorisant l'exsudation racinaire	47
a - Influence de l'intensité d'éclairement et de l'âge de la plante	47
b - Influence de la coupe	57
E. Sulfato-réduction rhizosphérique dans différents sols	63
F. Conclusions concernant la sulfato-réduction rhizosphérique	68

	Pages
Chapitre III. RESULTATS EXPERIMENTAUX CONCERNANT LA SULFATO-REDUCTION SPERMOSPHERIQUE	69
A. Origine biologique et nature spermosphérique ...	70
B. Influence des facteurs favorisant l'anaérobiose..	72
a - Influence de l'engorgement du sol	72
b - Influences de la densité apparente du sol et de la profondeur du semis	73
C. Influence de la teneur du sol en sulfates solubles	75
D. Sulfato-réduction spermosphérique dans différents sols	77
E. Conclusions concernant la sulfato-réduction spermosphérique	81
—————	
Chapitre IV. ETUDE EXPERIMENTALE D'UNE SULFATO-REDUCTION DIFFUSE	82
—————	
Chapitre V. ETUDE EXPERIMENTALE DE L'EXSORPTION DES GAZ (O ₂ et CO ₂) ET DE L'EVOLUTION DU pH EN CULTURES HYDROIONIQUES	86
A. Influence de la rhizosphère du maïs	87
B. Influence de l'intensité lumineuse	91
C. Influence de l'évolution des caractères physiques et biologiques d'un milieu de culture hydroponique sur l'apparition de la sulfato-réduction rhizosphérique	94
D. Effets rhizosphère comparés du maïs et du riz et milieu de culture hydroponique	98
E. Conclusions générales de l'étude en milieux de cultures hydroponiques	100
—————	
Chapitre VI. ETUDE EXPERIMENTALE DE LA TOXICITE	101
A. Essais préliminaires	101
B. Toxicité propre de l'hydrogène sulfuré	103
C. Effets phytotoxiques des sulfures sur les cultures dans le sol salin de Nakta	106

	Pages
a - Les symptômes de dépérissement de la fève <u>in situ</u>	106
b - Le dépérissement du maïs, observé au laboratoire	107
D. Conclusions générales de l'étude expérimentale de la phytotoxicité de l'hydrogène sulfuré et des sulfures	108
Chapitre VII. DISCUSSION	109
A. Origine biologique des sulfato-réductions étudiées	111
B. Classification des différents facteurs édaphiques	112
C. Mode d'action des facteurs édaphiques liés au sol	113
a - Facteurs favorisant l'anaérobiose	113
b - Teneurs en sulfates solubles des sols ...	115
D. Mode d'action des facteurs édaphiques liés à la plante	117
a - Influence des exsudats	117
b - Influence de l'exsorption ou de la consommation de l'oxygène au niveau de la rhizosphère	119
E. Comparaison entre les sulfato-réductions rhizos- phérique et spermosphérique	120
a - Facteurs édaphiques favorables	120
b - Intensité	121
F. Nature exacte de la toxicité	122
a - Effets directs de l'hydrogène sulfuré ...	122
b - Composition des gaines rhizosphérique et spermosphérique	122
c - Conclusions	124
G. Conséquences agronomiques	126
CONCLUSIONS GENERALES	128
REFERENCES	131

INTRODUCTION

Le dépérissement brutal de diverses plantes, la fève notamment, dans un sol salin engorgé, signalé par le Centre de Recherches pour l'Utilisation de l'Eau Salée en Irrigation (C.R.U.E.S.I.), a été attribué par DOMMARGUES et al. (1969) à une intoxication, directe ou indirecte, des plantes par l'hydrogène sulfuré produit au niveau de la rhizosphère par une microflore sulfato-réductrice très active dans certaines conditions.

A notre arrivée au Centre de Pédologie biologique (C.N.R.S. Nancy), il nous a été offert, par Monsieur DOMMARGUES, de participer aux travaux effectués dans le but de vérifier cette hypothèse, et nous tenons à remercier la Direction Générale de l'O.R.S.T.O.M. qui nous a autorisé à prolonger notre séjour dans ce laboratoire, le temps nécessaire pour mener à bien cette étude.

Avant de commencer cet exposé, il nous a semblé indispensable : (1) de résumer très brièvement les connaissances actuelles sur les bactéries sulfato-réductrices, (2) de rappeler les définitions de la rhizosphère et de la spermosphère.

(1) Le terme de "bactéries sulfato-réductrices" désigne des microorganismes anaérobies obligatoires qui retirent, en général, l'énergie nécessaire à leur métabolisme, de l'oxydation de certains composés organiques, en utilisant les sulfates comme accepteurs d'électrons. Ces sulfates sont réduits en sulfures au cours de cette respiration dissimilative. Découverts en 1893 et 1895 par ZELINSKY (1893) et BEIJERINCK (1895), ces germes furent étudiés depuis par de nombreux chercheurs : VAN DELDEN (1903), ELION (1924),

RUBENTSCHIK (1928), STARKEY (1938), SENEZ (1951), ADAMS et POSTGATE (1959), LE GALL (1963), CAMPBELL et al.(1966) etc...

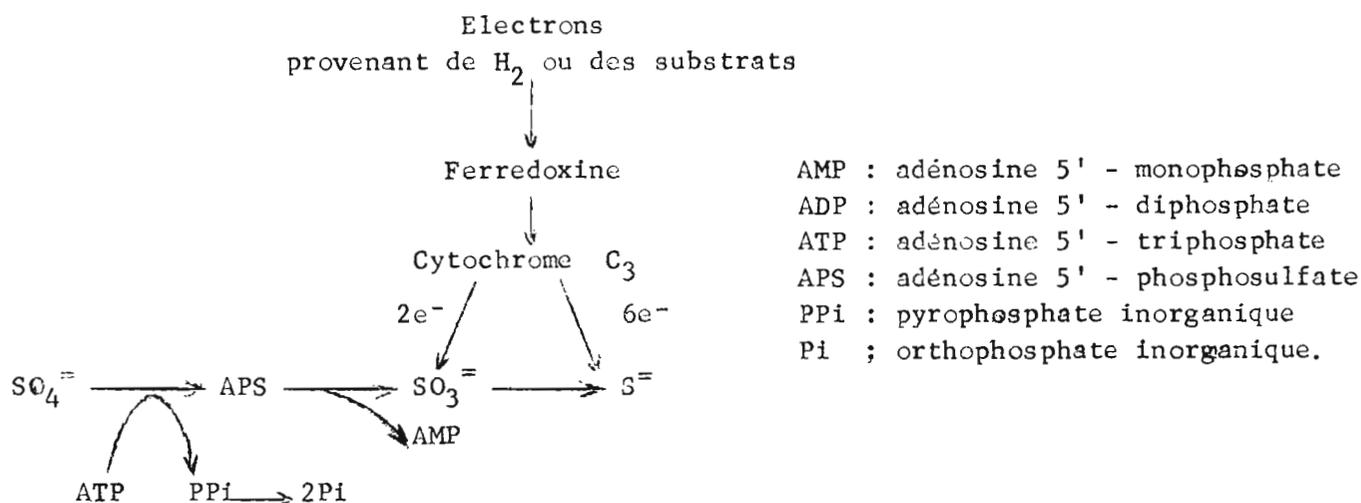
Ces bactéries sont classées dans l'ordre des Spirillales, famille des Vibrionaceae (PREVOT et al., 1967). La systématique de ces germes est actuellement en pleine évolution. Nous adopterons la classification de CAMPBELL et al.(1965 et 1966), qui distingue deux genres : Desulfovibrio et Desulfotomaculum.

Le genre Desulfovibrio est composé des espèces suivantes : D. desulfuricans, D. vulgaris, D. salexigens, D. africanus et D. gigas, non sporulantes, mésophiles, en général monotriches. Gram-négatives, elles ont une forme de vibrions faiblement incurvés. D. vulgaris, variété Hildenborough mesure 1,5 à 3 μm x 0,2 à 0,3 μm . D. gigas est environ 5 fois plus grand. Ces germes sont caractérisés par un cytochrome C_3 et la présence de désulfovirdine.

Le genre Desulfotomaculum est composé des espèces suivantes : D. nigricans, D. orientis, D. rumenis, sporulantes, mésophiles ou thermophiles, à flagelles péritriches, sans cytochrome C_3 ni désulfovirdine.

Les composés organiques utilisables par les bactéries sulfato-réductrices sont en nombre limité; parmi les donneurs d'électrons possibles, citons les acides lactique, pyruvique, malique et formique, la choline, certains alcools primaires simples ; quand la matière organique s'avère insuffisante, l'hydrogène moléculaire est utilisable comme donneur d'électrons (DOMMERMUES, 1968).

La progression et le cheminement des transferts d'hydrogène et de réduction des sulfates peuvent être ainsi schématisés (KELLY, 1970) :



Les nombreux effets des bactéries sulfato-réductrices commencent à être connus : dans les domaines des corrosions anaérobies (STARKEY 1958, LAGARDE et MALDEREZ, 1967, PANKHURST, 1968, et des méfaits en riziculture (TAKAI et al., 1956, VAMOS, 1959, TANAKA et al., 1968).

(2) Par rhizosphère, nous entendons le volume, très limité, de sol où les exsudats (= exsorbats) racinaires diffusent, stimulant ou inhibant certains éléments constitutifs de la microflore tellurique qui, par leur activité, peuvent à leur tour, transformer l'environnement rhizosphérique.

La spermosphère est constituée par le microhabitat homologue de la rhizosphère, mais intéressant la graine aux tous premiers stades de sa germination (VERONA, 1958). Ces deux microhabitats sont caractérisés par l'intensité des interactions entre la plante et les microorganismes telluriques.

On désigne sous les termes de sol rhizosphérique et sol spermosphérique, les sols prélevés dans la zone distante au maximum de 2 à 3 mm de la racine ou de la graine la plus proche, et par sol non rhizosphérique et sol non spermosphérique, les sols prélevés en dehors des zones d'influence des racines ou des graines, c'est-à-dire correspondant à des points qui en sont éloignés d'au moins 5 cm.

Chapitre I

METHODOLOGIE

Nous décrirons successivement :

- A. Les plantes-test.
- B. Les méthodes de culture .
- C. Les sols utilisés.
- D. Les milieux de culture hydroponique.
- E. Les analyses bactériologiques.
- F. Les analyses physico-chimiques.
- G. L'exploitation statistique des résultats.

IA. PLANTES-TEST.

a) Choix :

La sulfato-réduction perturbe la croissance de nombreuses plantes : le riz (VAMOS, 1959), les agrumes (FORD, 1965) par exemple. Les observations faites à Nakta font état du dépérissement de nombreuses légumineuses, dont la fève, de plantes fourragères, dont la luzerne, de céréales enfin, dont le maïs.

Au cours d'essais préliminaires, nous avons testé des légumineuses (fève, pois, haricot) et des céréales (maïs et riz). Nous avons constaté que, sur sol comme sur milieux hydroponiques, ces deux céréales présentent, sur les légumineuses, les avantages suivants :

(1) Leur développement est plus rapide et plus régulier. De plus, l'emploi de semis sélectionnés diminue les variations individuelles de croissance entre plantes d'un même lot.

(2) Les graines peuvent être plus facilement stérilisées bactériologiquement.

(3) Le matériel à utiliser est moins encombrant, plus facile à construire, et permet ainsi l'étude de plus grandes séries.

Le maïs est cependant nettement plus sensible aux effets de la sulfato-réduction que le riz. Aussi, dans la grande majorité des expériences, seul le maïs sera utilisé. Les semences utilisées nous ont été fournies par Monsieur Y. MONTALANT de l'I.N.R.A. de Versailles (variétés hybrides n° 260 et 420) et par la Société du Maïs Angevin. Le riz a été rarement utilisé, à titre de comparaison; les semences, en provenance de Côte d'Ivoire (variété I.R. 8) nous ont été données par Monsieur RINAUDO (O.R.S.T.O.M. Dakar).

b) Stérilisation et prégermination :

Les graines sont trempées 20 minutes (riz) ou 30 minutes (maïs) dans la solution suivante, suffisante pour 100 graines environ :

- H₂O₂ à 110 volumes : 5 ml
- Teepol (mouillant) : 3 gouttes
- Eau distillée stérile : q.s.p. 100 ml.

Les graines de maïs sont ensuite transférées stérilement, sans lavage intermédiaire, dans des boîtes de Pétri contenant 5 ml environ d'une solution à 2 % de gélose, stérilisée 30 minutes à 120° C, coulée stérilement et refroidie. Cette méthode est une adaptation de celle de LIE (1964). Chaque boîte reçoit de 1 à 3 graines.

Les graines de riz sont déposées, stérilement dans des boîtes de Pétri contenant du coton stérile imbibé d'eau, également stérile. Cette méthode est utilisée par RINAUDO (1970).

Ces façons de procéder sont simples, mais 10 à 20 % des graines sont contaminées. Celles-ci, ainsi que les graines qui n'ont pas germé, sont éliminées. Les autres seront introduites stérilement dans le sol ou le milieu de culture hydroponique étudiés.

IB. METHODES DE CULTURE

Maïs et riz peuvent être cultivés sur sols, en colonnes, ou sur milieux hydroponiques. Sols et milieux de cultures hydroponiques seront décrits ultérieurement.

1) Cultures sur sols

Les vases de végétation sont des colonnes plates en chlorure de polyvinyle transparent, décrites à la figure 1, de dimensions 200 x 50 x 15 mm, elles sont fermées à la base, mais s'ouvrent latéralement pour permettre d'accéder facilement aux racines.

Chaque colonne reçoit un poids connu de sol, 150 g en moyenne, tamisé et homogénéisé à l'état sec.

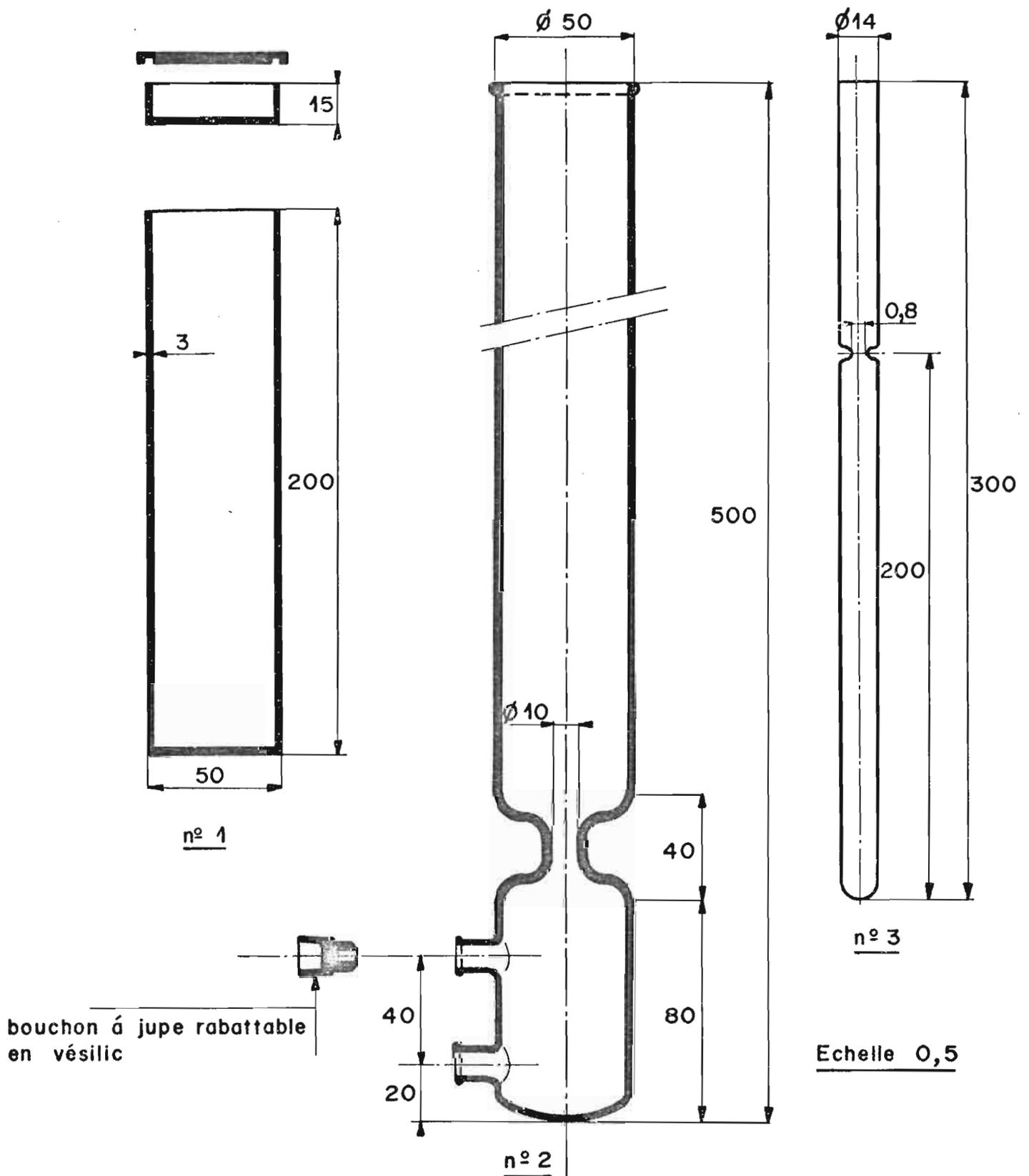
Un calcul d'humidité et une mesure de la hauteur du sol dans la colonne ^{permettent} le calcul de la densité apparente. Un gradient de densités apparentes est obtenu en tassant le sol, après le semis, par des chocs d'intensités croissantes.

L'engorgement du sol est obtenu par immersion des colonnes dans un récipient plus grand, contenant de l'eau distillée.

2) Cultures hydroponiques

Les cellules d'étude sont les tubes en pyrex de 500 mm de haut et de 50 mm de diamètre, décrits à la figure 1. La solution nutritive remplit, jusqu'au niveau de l'étranglement, la partie inférieure fermée par deux bouchons à jupe rabattable en vésilic. Ce volume représente 125 à 135 ml de milieu suivant les tubes.

Les graines de maïs sont déposées directement au niveau de l'étranglement, la racine principale vers le bas. Celles de riz sont déposées sur une mince couche de laine de verre, disposée en plateau au dessus de l'étranglement et imbibée de milieu. Les racines traversent facilement



- n°1** Colonne en chlorure de polyvinyle, pour culture sur soi
- n°2** Tube en pyrex pour cultures hydroponiques
- n°3** Tube en verre pour cultures de bactéries sulfato-réductrices

Figure 1 - MATERIEL EXPERIMENTAL

cette laine de verre assez lâche et pénètrent dans le liquide nutritif.

Enfin, un bouchon de coton cardé, inséré à la partie supérieure du tube permet de le maintenir stérile, mais autorise la diffusion des gaz. La partie inférieure de chaque tube est enveloppée d'une feuille d'aluminium, pour maintenir les racines à l'obscurité.

3) Conditions générales de l'expérimentation

Colonnes de sol et tubes de culture hydroponique sont placés dans l'une ou l'autre des deux chambres climatisées, où sont contrôlés les facteurs physiques suivants :

- (1) La température : $28^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$ en général, 25°C dans certains cas.
- (2) L'humidité ambiante : le degré hygrométrique de l'air peut varier de 20 à 80 %.
- (3) La photopériodisme et l'intensité d'éclairement (mesurée au luxmètre).

La photopériode la plus fréquemment utilisée est la suivante : 16 h de lumière, 8 h d'obscurité, mais un autre réglage (12 h/12 h) est possible.

La première chambre est équipée de deux rampes de tubes fluorescents "lumière naturelle" de marque SYLVANIA, modèle Gro-lux standard, de 120 cm de long et de 40 watts de puissance. La première rampe donne un éclairement moyen de 8 000 lx, à 30 cm, ou de 6 000 lx quand est intercalée entre plantes et tubes une plaque de plexiglass. La seconde rampe donne un éclairement de 3 000 lx seulement.

La seconde chambre est équipée de 4 lampes MAZDA de 400 watts, montées au dessus d'un plan d'eau d'environ 5 cm d'épaisseur, (absorbant une partie des radiations infra-rouges) et donne un éclairement de 30 000 lx à 50 cm.

I C. SOLS UTILISES

Les sols utilisés peuvent se classer ainsi :

Les sols alluviaux salins

- de la station de Nakta (Tunisie)
- de deux stations de Camargue.

Les sols non salins

- des stations lorraines du Montet et de Pixérécourt (sols bruns calcaires).
- de la station de Bonnelles (Seine et Marne) : sol sableux hydromorphe présentant des caractères de gley.

I Ca. Station et sol de Nakta- Station :

Nakta est une station du C.R.U.E.S.I. près de la côte-Est de la Tunisie, proche de Sfax, à une latitude de $34^{\circ}39'$. Elle est située sur des alluvions récentes où existait initialement une nappe phréatique peu salée à une profondeur oscillant entre 3 et 6 m. L'irrigation par une eau saumâtre date d'une dizaine d'années. Un système de drains à une profondeur de 1,5 m a permis de maintenir la nouvelle nappe résultante à une profondeur de 1,2 m.

La teneur en sel des eaux d'irrigation varie entre 1 g/l en hiver et 3 g/l en été ; le chlorure de sodium représentant la moitié de ces chiffres.

Malgré le danger représenté par l'utilisation d'une eau chargée en sels solubles dans un terrain où existe au préalable une nappe phréatique également salée, ce qui entraîne si on n'y prend pas garde, une dégradation du sol (VAN HOORN, 1960), il est possible de cultiver ce sol en prenant toutefois quelques précautions et en particulier en maintenant la nappe à une profondeur dépassant 1 mètre.

Ce sol est mis en valeur par assolement (vesce, avoine ou ray-grass, coton, fève, sorgho fourrager, blé) ou par des cultures maraîchères (tomates, melons, asperges, oignons, carottes, artichauts).

Sol alluvial salin

Les caractéristiques physico-chimiques du sol ont été calculées par VAN HOORN (1966) ou par le service "chimie" du Centre de Pédologie de Nancy.

α) Caractéristiques physiquesAnalyse granulométrique :

Argiles (< 2 μm)	$19,7 \times 10^{-2}$
Limons fins (2-20 μm)	$15,3 \times 10^{-2}$
Limons grossiers (20-50 μm)	$3,0 \times 10^{-2}$
Sables fins (50-200 μm)	$50,5 \times 10^{-2}$
Sables grossiers (200-2000 μm)	$4,5 \times 10^{-2}$

Si la texture s'avère bien équilibrée, la densité apparente en surface est anormalement élevée :

Densité apparente mesurée <u>in situ</u> :	horizon 0-10 cm	1,71
	horizon 10-20 cm	1,65
	horizon 20-40 cm	1,60

β) Caractéristiques chimiques (1) fondamentales

Matière organique	de 1,1 à $1,3 \times 10^{-2}$	} suivant les prélève- ments
Carbone	de 5 à $7,5 \times 10^{-3}$	
Azote	de 0,6 à $0,7 \times 10^{-3}$	
Rapport C/N	de 7 à 12,5	
Fer total	$12,3 \times 10^{-3}$	
Fer libre	$5,8 \times 10^{-3}$	
Aluminium	$1,3 \times 10^{-3}$	
Silice	$0,7 \times 10^{-3}$	
Calcaire	9×10^{-2}	
Ca SO ₄	1×10^{-2}	

(2) Caractéristiques de l'extrait de pâte saturée

pH : 7,6 à 7,8 en surface (0-20 cm)
7,9 à 8,0 en profondeur (au delà de 20 cm)
Conductivité électrique en mmho/cm à 25°C : 12,9.

Anions (meq/l) =	}	Cl ⁻ : 92,7
		SO ₄ ⁼ : 65,1
		CO ₃ H ⁻ : 2,5
Cations (meq/l) =	}	Ca ⁺⁺ : 41,7
		Mg ⁺⁺ : 23,6
		K ⁺ : 0,9
		Na ⁺ : 95,3

(3) Composition du complexe adsorbant

Na de 1,3 à 1,9 meq/100 g de sol	}	suivant les prélèvements
T de 10,4 à 13,5 meq/100 g de sol		
Na/T de 9,6 à 18,3 %		

L'abondance de l'ion calcium dans le profil fait que l'ion sodium, présent sous forme de chlorure, reste relativement peu adsorbé par le complexe adsorbant (DUCHAUFOR, 1958). Ces caractéristiques font du sol de Nakta, un sol salin typique, peu dégradé, bien représentatif des sols salins de Tunisie.

I Cb. Stations et sols de Camargue

- Stations:

Les stations du Mas du Sauvage sont situées en Petite Camargue, à quelques centaines de mètres du bras occidental du Rhône, sur des alluvions quaternaires d'origine fluviale et marine (la mer est à 5 km). Ces alluvions sont très fines, imperméables, très riches en calcaire. Une hydro-morphie temporaire est favorisée par l'existence d'une couche de limons fins située à 40 cm de profondeur. Ces sols sont irrigués par une eau saumâtre, et sont en outre exposés aux inondations du Rhône. Une nappe phréatique salée existe en profondeur.

Deux stations principales ont été délimitées : l'une où le sol salin est sous prairie naturelle (Mas du Sauvage), l'autre où ce même sol a été transformé depuis 20 ans en rizière (rizière du Mas du Sauvage)

Sols alluviaux salins

Les caractéristiques physiques et chimiques ont été calculées par SALEH-RASTINE (1968) ; elles concernent uniquement le sol de rizière.

a) Caractéristiques physiquesAnalyse granulométrique

	<u>Horizons :</u>		
	<u>0-20 cm</u>	<u>20-40 cm</u>	<u>40-60 cm</u>
Argiles (< 2 μm)	27×10^{-2}	24×10^{-2}	36×10^{-2}
Limons fins (2-20 μm)	37×10^{-2}	38×10^{-2}	45×10^{-2}
Limons grossiers (20-50 μm)	18×10^{-2}	24×10^{-2}	14×10^{-2}
Sables fins (50-200 μm)	10×10^{-2}	8×10^{-2}	4×10^{-2}
Sables grossiers (200-2000 μm)	8×10^{-2}	6×10^{-2}	1×10^{-2}

Ce sol est caractérisé par sa richesse très grande en éléments fins : la fraction argile + limons représente 80 % et plus, du total.

b) Caractéristiques chimiques fondamentales

	<u>Horizons :</u>		
	<u>0-20 cm</u>	<u>20-40 cm</u>	<u>40-60 cm</u>
Matière organique	2×10^{-2}	-	-
Carbone	$1,82 \times 10^{-2}$	$1,55 \times 10^{-2}$	$1,25 \times 10^{-2}$
Azote	$1,55 \times 10^{-3}$	$1,25 \times 10^{-3}$	$1,05 \times 10^{-3}$
Rapport C/N	11,7	12,5	11,5
pH	7,74	7,79	8,01

Ce sol alluvial salin, et celui de Nakta précité, présentent de nombreuses analogies :

- (1) Le profil est peu différencié (AC), mais profond.
- (2) Les horizons profonds présentent des caractères d'hydromorphie, car il existe en permanence une nappe phréatique saumâtre.
- (3) Le sol s'est formé récemment, à partir d'alluvions très fines et riches en calcaire. Le pH est de l'ordre de 8.
- (4) La teneur en matière organique est faible, le rapport C/N de l'ordre de 8 à 12.

I Cc. Stations et sols de LorraineStations :

Le Centre de Pédologie biologique de Nancy a délimité ces stations situées dans les environs immédiats de Nancy. La station du Montet est aujourd'hui abandonnée, celle de Pixérécourt est encore étudiée. Les caractéristiques physico-chimiques des sols ont été calculées par le service Chimie de ce laboratoire, à notre intention et à celle de OULIE (1970).

Les prélèvements ont été faits dans l'horizon de surface (0-20 cm); horizon Ap du sol de Pixérécourt (cultivé), horizon superficiel du sol du Montet (sous prairie)

Solsα) Caractéristiques physiquesAnalyse granulométrique

	<u>Pixérécourt</u>	<u>Montet</u>
Argiles (< 2 μm)	22,9 x 10 ⁻²	31,4 x 10 ⁻²
Limons fins (2-20 μm)	18,1 x 10 ⁻²	16,2 x 10 ⁻²
Limons grossiers (20-50 μm)	10,7 x 10 ⁻²	11,3 x 10 ⁻²
Sables fins (50-200 μm)	18,6 x 10 ⁻²	23,9 x 10 ⁻²
Sables grossiers (200-2000 μm)	18,7 x 10 ⁻²	10,3 x 10 ⁻²

β) Caractéristiques chimiques fondamentales

	<u>Pixérécourt</u>	<u>Montet</u>
Matière organique	6,5 x 10 ⁻²	
Carbone	3,25 x 10 ⁻² (*)	2,0 x 10 ⁻²
Azote	2,14 x 10 ⁻³	2,3 x 10 ⁻³
Rapport C/N	15 (*)	9
Fer total	17,7 x 10 ⁻³	
Aluminium	5,3 x 10 ⁻³	
Silice	2,9 x 10 ⁻³	
Calcaire	8,33 x 10 ⁻²	18 x 10 ⁻²
pH	7,8	7,8

(*) Dans le cas de l'échantillon étudié, ces valeurs sont surestimées : en général le rapport C/N est proche de 10 : M. ROUILLER (communication personnelle) propose deux explications plausibles : mesure faussée par une forte teneur en carbonates ou par l'apport de fumure organique récente.

	<u>Pixérécourt</u>	<u>Montet</u>
Ca ⁺⁺	24 m.e.q./100 g	
Mg ⁺⁺	0,75 m.e.q./100 g	
K ⁺	1,57 m.e.q./100 g	non mesuré
S	Saturé	
T	16,3 m.e.q./100 g	
100 S/T	Saturé	

Ces sols sont bien représentatifs des sols bruns calcaires de la Lorraine.

I Cd. Station et sol de Bonnelles (Seine & Marne)

Station :

"Bonnelles" est une station, créée à la ferme du Clos, par la station Agronomique de Seine et Marne (Melun). Des essais actuels de compostage par résidus ménagers y sont menés par cet organisme, la C.E.T.A. de l'Ile de France, et l'A.E.R.C. (Association d'Etudes et de Recherches sur le Compostage des Résidus Ménagers).

BERNARD. et al(1969) nous ont avisés qu'"au stade 6 à 8 feuilles du maïs, toutes les parcelles ayant reçu du compost urbain étaient très en retard, et le maïs jaune citron ; cet effet néfaste était d'autant plus important que le tonnage de compost apporté était élevé".

Ces symptômes étant analogues à ceux observés à Nakta, nous avons étudié la sulfato-réduction sur des échantillons de sol et de compost que nous a fait parvenir M. BERNARD.

Nous n'avons pu procéder à des analyses complètes de ce sol mais nous avons pu obtenir les renseignements suivants : (BERNARD, et al, 1969).

Sol :

Le sous-sol est un sable de Fontainebleau, assez hydromorphe.

Le sol est sableux, légèrement caillouteux, à texture légère, très meuble : la fraction sables fins (20-50 µm) représente plus de 50 % du total. Il est riche en calcaire, en azote, en humus et en matière organique ; mais pratiquement démunie de complexe adsorbant (pauvreté en K⁺ et Mg⁺⁺).

Le pH varie entre 7,6 et 7,8 en surface, suivant les parcelles.

Le profil entier présente des caractères d'hydromorphie saisonnière : la présence, à 90 cm de profondeur, entraîne un engorgement temporaire en période humide. Il existe un gley en profondeur.

Compost

Le compost est épandu, aux doses de 25, 50 ou 100 tonnes à l'hectare, à l'épandeur de fumier. Il a la composition suivante : (HOUSSAISI, 1969)

a) Caractéristiques physiques

Analyse granulométrique	}	≥ 20 mm : 0×10^{-2}
		10-20 mm : $6,0 \times 10^{-2}$
		0-10 mm : $19,5 \times 10^{-2}$
		≤ 5 mm : $74,5 \times 10^{-2}$

Densité apparente : 0,55

pH : 8,00

b) Caractéristiques chimiques

Matière organique	$36,55 \times 10^{-2}$
Carbone	$11,21 \times 10^{-2}$
Azote	$8,2 \times 10^{-3}$
Rapport C/N	13,7
P_2O_5	$5,7 \times 10^{-3}$
K_2O	$2,3 \times 10^{-3}$
CaO	$42,5 \times 10^{-3}$

ID. MILIEUX DE CULTURE HYDROPONIQUE

Deux milieux surtout ont été utilisés, pour le maïs comme pour le riz : celui de BÖRNER-RODEMACHER, décrit par CHALVIGNAC (1958), celui de JACQUINOT (1968).

1) Milieu de BÖRNER-RODEMACHER

La composition est la suivante :

Ca (NO ₃) ₂	0,5 g
KNO ₃	0,2 g
KH ₂ PO ₄	0,2 g
MgSO ₄ , 7 H ₂ O	0,25 g
FeSO ₄ , 7 H ₂ O	0,073 g
MnCl ₂ , 4 H ₂ O	0,005 g
H ₃ B ₃	0,002 g
Solution d'oligo-éléments *	1 ml
Eau distillée	q.s.p.; 1 000 ml

* Solution d'oligo-éléments d'après POCHON et TARDIEUX (1962).

Le pH initial est de 4,50 environ, et doit être ajusté à pH 7,20 selon CHALVIGNAC, précité. Différents essais nous ont montré qu'au delà de pH 5,5, un dépôt abondant se décante et que les plantes souffrent de carences, en phosphore surtout. Aussi, nous ajustons le pH à 6,50 seulement, à l'aide de NaOH N/10, avant la stérilisation à 120° C pendant 30 minutes. Ce milieu est ensuite réparti stérilement.

Ce milieu convient particulièrement bien au maïs, quand son pH initial est de 6,00 à 6,50. Il convient moins bien au riz; dans ce cas, le pH optimal est de 4,50 à 5,00.

2) Milieu de JACQUINOT

Ce milieu est préparé à partir de quatre solutions initiales :

- a) Solution nitrate.
- b) Solution ammoniacale.
- c) Solution de microéléments .
- d) Solution de fer chélaté.

a) Solution nitrate (NO_3^-)

KNO_3	2 022 mg
KH_2PO_4	4 082 mg
K_2HPO_4	2 610 mg
NaCl	174 mg
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2, 4 \text{H}_2\text{O}$	6 962 mg
CaCl_2	1 110 mg
$\text{MgSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$	4 930 mg
$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2, 6 \text{H}_2\text{O}$	5 076 mg
Eau distillée q.s.p...	3 litres

b) Solution ammoniacale (NH_4^+)

KH_2PO_4	1 339 mg
K_2HPO_4	2 610 mg
NaCl	174 mg
$\text{MgSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$	9 835 mg
CaCl_2	2 196 mg
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	2 277 mg
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	5 326 mg
NH_4Cl	1 053 mg
Eau distillée q.s.p...	3 litres

c) Microéléments

2 857 mg d'acide borique	0,50 ppm de B	} et 0,05 ppm de Zn
2 238 mg de sulfate de manganèse	0,75 ppm de Mn	
218 mg de sulfate de cuivre	0,03 ppm de Cu	
258 mg de molybdate d'ammonium	0,02 ppm de Mo	

d) Solution de fer

Ajouter à 600 ml d'eau distillée : EDTA disodique 33,31 g
 $\text{SO}_4\text{Fe}, 7\text{H}_2\text{O}$ 21,88 g

Ajuster le pH 5,50 avec environ 190 ml de KOH N. amener à 1 litre.
 Aérer pendant une nuit. Conserver au frais.

1 ml de solution contient 5 mg de Fe ; 0,2 ml dans un litre donne une concentration de 1 ppm de fer chélaté.

25 ml de la solution a) et b) amenés à 1 litre donnent une solution à

1 m.eq./l de NO_3^- (a) ou de NH_4^+ (b)

La croissance du mil est optimale quand le milieu contient 3 m.eq./l de NO_3^- et 1 m.eq./l de NH_4^+

Le riz, et le maïs surtout, exigent un milieu plus concentré.

1 ml de la solution c), dans 1 litre du milieu suffit pour le maïs, le riz et le mil.

Les exigences en fer, apporté par la solution d), sont les suivantes :
3 ppm pour le mil, 5 ppm pour le riz, 6 ppm pour le maïs.

Le milieu complet est fait à partir de ces 4 solutions initiales, de façon différente suivant la plante à cultiver. :

- pour le mil, JACQUINOT conseille le mélange suivant :

. solution a)	75 ml	} compléter à 1 litre avec de l'eau distillée Ne pas corriger le pH. Stériliser à 110° C pendant 20 mn. Ce milieu contient 3 m.eq./l de NO_3^- , 1 m.eq. de NH_4^+ et 3 ppm de fer chélaté.
. solution b)	25 ml	
. solution c)	1 ml	
. solution d)	0,6 ml	

- nous avons cultivé maïs et riz sur le milieu suivant, plus concentré :

. solution a)	150 ml	} compléter à 1 litre avec de l'eau distillée. Amener le pH à 6,0, par addi- tion de NaOH N/10. Stériliser à 110° C pendant 20 minutes. Ce milieu contient 6 m.eq./l de NO_3^- , 4 m.eq./l de NH_4^+ , 5 ppm de fer chélaté.
. solution b)	100 ml	
. solution c)	1 ml	
. solution d)	1 ml	

Remarque : Nos essais ont montré que le milieu BÖRNER-RODEMACHER est celui qui convient le mieux au maïs, mais celui-ci peut également être cultivé sur un milieu, que nous avons testé, mais peu utilisé, celui de TRINICK(1968) ;
^{autre}
le milieu JACQUINOT convient peu au maïs mais bien au riz.

IE. ANALYSES BACTERIOLOGIQUES

IEa. Bactéries sulfato-réductrices

Les bactéries sulfato-réductrices ont été dénombrées sur le milieu suivant qui est une variante du milieu proposé par STARKEY, modifié par ABD-EL-MALEK (1958) et PICHINOTY (1966) :

NH ₄ Cl	2,0 g
KH ₂ PO ₄	0,5 g
MgSO ₄ , 7.H ₂ O.....	2,0 g
Na ₂ SO ₄	4,0 g
CaCl ₂	0,1 g
Extrait de levure Difco	1,0 g
Lactate de sodium	10,0 ml d'une solution à 60 % (poids/volume)
Eau distillée q.s.p.	1 000,0 ml

Le pH est ajusté à 6,5 par NaOH N/10, le milieu est stérilisé 20 minutes à 110° C. Après répartition en tubes 120 x 12, on ajoute dans chaque tube, stérilement, un clou de 10 mm de long, stérilisé pendant 20 minutes dans une solution de H₂O₂ à 110 volumes diluée 10 fois, et séché à la flamme. L'incubation se fait à 28° C sous vide modéré, pendant 14 jours. Sont comptés positifs les tubes présentant une coloration noire, et le calcul est fait en utilisant la méthode de calcul du nombre le plus probable (MAC CRADY) avec 5 répétitions.

Ce même milieu, sans clou, sert également à purifier des souches de bactéries sulfato-réductrices, ou à entretenir des souches pures (D. desulfuricans NCJB 8303 et D. gigas). Nous utilisons des tubes en verre modèle décrit à la figure 1, remplis à moitié par 7 ml de milieu STARKEY, préalablement stérilisé et désaéré juste avant usage. Nous ensemençons stérilement à la pipette Pasteur, chaque tube par un inoculum important :

1 ml environ, soit 100 à 200 millions de germes. Nous scellons sous vide immédiatement. L'incubation à 37° C dure 3 jours, ce qui suffit pour obtenir une bonne croissance. A la fin de cette période d'incubation, nous divisons nos tubes en deux lots :

1) Le premier lot destiné à la conservation, maintenu à + 4° C pourra ainsi être gardé intact plusieurs semaines et être réutilisé après passage d'une semaine à l'étuve à 37° C.

2) Le second lot, à employer dans les 10 jours suivants, est maintenu jusqu'à utilisation à 32° C.

Nous contrôlons régulièrement la pureté de ces souches en ensemençant au fil de platine des fioles coniques stérilisées contenant 5 ml de bouillon peptoné : une culture pure ne donne aucun développement au bout d'une semaine à 37° C tandis qu'une culture polluée présente rapidement un voile ou un dépôt. Un tel tube contaminé est immédiatement éliminé.

IE b. Autres microorganismes

D'autres numérations ont été faites :

- 1) Microflore totale (microorganismes aérobies et anaérobies) sur milieu WAKSMAN et FRED, (1922).
- 2) Ammonificateurs : sur milieu POCHON & TARDIEUX (1962).
- 3) Azotobacter : sur milieux POCHON & TARDIEUX (1962) et MOURARET (1969).
- 4) Clostridium : sur milieu POCHON & TARDIEUX (1962) modifié.

1) Milieu WAKSMAN-FRED (1922) (Milieu Sodium Albuménate Agar)

KH_2PO_4	0,5 g
$\text{Mg SO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	0,2 g
$\text{Fe (SO}_4)_3$	traces
Agar	15 g

Dextrose	1 g
Albumine d'oeuf (xx)	0,25 g
Eau distillée q.s.p.	1 000 ml

(xx) Albumine d'oeuf, dissoute dans NaOH N/10, chauffée et ajustée à pH 6,80.

Incubation : 1 semaine à 28° C.

Ce milieu isole les bactéries aérobies et les actinomycètes en aérobie, les bactéries anaérobies en anaérobiose modérée.

2) Milieu POCHON-TARDIEUX (1962) pour ammonificateurs

Solution saline standard (x)	...	50 ml
Oligo-éléments (x)	1 ml
Asparagine	0,2 g
Eau distilléeq.s.p.	1 000 ml

Incubation : 1 semaine à 28° C.

3) Milieux POCHON-TARDIEUX (1962) et MOURARET (1969) pour Azotobacter

	<u>POCHON-TARDIEUX</u>	<u>MOURARET</u>
Solution saline standard(x)	50 ml	50 ml
CaCO ₃	0,5 g	10 g
Oligo-éléments (x)	1 ml	1 ml
Mannitol	10 g	-
Glucose	-	10 g
Extrait de terre (x)	10 ml	-
Citrate de sodium trisodique	-	1,43 g
Agar Difco	10 g	-
Extrait de levure Difco ..	2 g	-
Eau distillée	1 000 ml	q.s.p. 1 000 ml

(x) Suivant POCHON & TARDIEUX (1962)

Incubation : 7 jours à 28° C.

Le milieu MOURARET semble mieux convenir aux Azotobacter.

4) Milieu POCHON-TARDIEUX (1962), modifié, pour Clostridium :

Solution saline standard (x)	50 ml
KH ₂ SO ₄	0,75 g
NaOH N/10	33 ml
Glucose	10 g
Oligo-éléments (x)	1 ml
Extrait de terre (x)	10 ml
Extrait de levure Difco	variable : 2,0 g ou <u>mieux</u>
Eau distillée	1 000 ml
	0,010 g

(x) Suivant POCHON-TARDIEUX (1962).

IF. ANALYSES PHYSICOCHEMIQUES

Ces analyses ont consisté essentiellement en :

- 1) des mesures de la teneur en fer libre (à l'état ferreux ou ferrique) du sol. Ces mesures ont été faites en utilisant la méthode au réactif de TAMM et à l'hydrosulfite et les lectures au "Techtron", par le service "chimie" du Centre de Pédologie. Cette méthode ne sera pas décrite,
- 2) des dosages de sulfures,
- 3) des dosages de sulfates,
- 4) des micro-mesures de pH, pO_2 et pCO_2 .

Seules ces trois dernières analyses seront décrites.

IFa Dosage de l'hydrogène sulfuré et des sulfures

La méthode utilisée est adaptée de celle de CHAUDHRY et CORNFIELD (1966).

Principe : L'hydrogène sulfuré est déplacé, à 60° C, de ses sulfures par l'acide chlorhydrique 4 N. Il est entraîné par un courant de CO_2 dans une solution absorbante d'acétates (de zinc et de sodium), où il est retenu. L'addition d'une quantité connue de diméthyl-p-phénylène-diamine se traduit par la formation de bleu de méthylène, en quantité proportionnelle aux ions S^{2-} . Après addition d'alun (sulfate mixte de fer ferrique et d'ammonium) l'intensité de la coloration bleue qui apparaît en 10 minutes, est mesurée au spectrophotomètre à 6 500 Å.

La description détaillée de l'appareillage de distillation, la composition des réactifs, le mode opératoire, l'étalonnage et les calculs sont décrits par ailleurs (JACQ, 1970).

IFb. Dosages des sulfates par complexométrie

La méthode utilisée a été décrite par FLASCHKA (1959) et modifiée par PELOUX (1970).

1) Principe

On ajoute à un extrait aqueux une quantité connue de nitrate de baryum en excès. Une partie du baryum en excès précipite les sulfates sous forme de SO_4Ba , laissant dans le milieu du chlorure de baryum, dosé au complexon III 0,05 N en présence d'un colorant mixte (pourpre de phthaléine, rouge de méthyle et vert diamine B) qui vire du violet au vert jaune.

2) Prélèvements

A partir d'un poids donné de sol (d'humidité donnée), on fait un extrait (au $\frac{1}{2}$ ou au $\frac{1}{10}$ suivant les sols), à l'eau tiède (40°C) ou à l'acétate d'ammonium N ou encore au nitrate de potassium N.

Sur cet extrait sont faits deux prélèvements identiques, débarrassés des humates et des carbonates par addition d'acide nitrique concentré jusqu'à pH 1,5 et ébullition 2 à 3 minutes.

Le premier prélèvement sert à la mesure du fond ionique (dosage du baryum préexistant).

Le second reçoit 10 ml de nitrate de baryum 0,1 N.

3) Dosage

A 20 ml de fond ionique, sont ajoutés: 20 ml d'ammoniaque concentrée, 50 ml d'éthanol à 95° , $\frac{1}{2}$ ml de colorant mixte. Le baryum présent est dosé au complexon III N/20 (X_3 ml).

A 20 ml de l'échantillon, sont ajoutés les mêmes produits. Le baryum présent sous forme de chlorure est dosé au complexon III N/20 (X_2 ml). Enfin, une courbe de titration du baryum en fonction du complexon versé est faite en utilisant une solution 0,1 N de chlorure de baryum : soit X_1 le volume de complexon III N/20 nécessaire à doser 10 ml de chlorure de baryum 0,1 N.

4) Calculs

$Y = X_1 - X_2 + X_3$ = nombre de ml de complexon III N/20 correspondant au baryum précipité sous forme de sulfate = même quantité de $SO_4^{=}$ N/20.

Cette quantité de SO_4 N/20 correspond à un certain poids de terre.

On exprime le résultat final en 10^{-6} S- $SO_4^{=}$.

IFc. Micromesures de pO_2 , pCO_2 et pH.

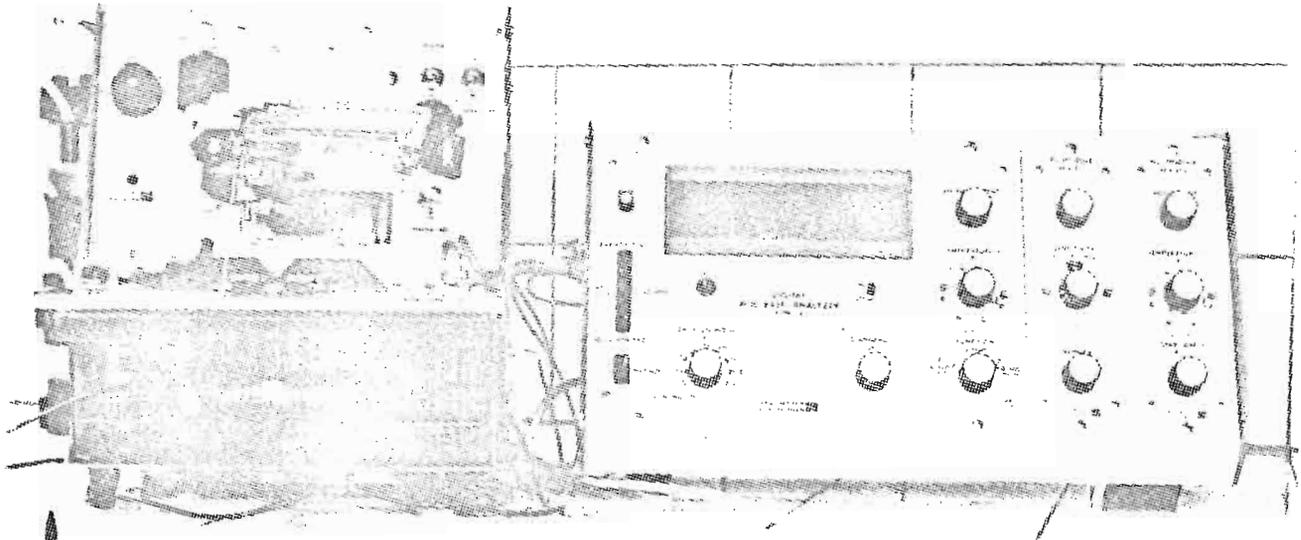
L'appareil que nous utilisons dans ce but est le micro-analyseur Radiometer "Blood Micro-system", couramment utilisé pour des contrôles en chirurgie cardiaque. Il permet de mesurer rapidement le pH et les pressions (en oxygène et gaz carbonique) d'un petit volume de sang.

Nous l'avons adapté à l'étude de ces mêmes facteurs dans les milieux de culture hydroponique, ou les milieux de culture de microorganismes. Nous ne le décrirons ici que de façon succincte ; la description détaillée de l'appareillage, la préparation des électrodes et leur étalonnage font l'objet d'une note technique publiée par le centre de Pédologie biologique (JACQ, 1971).

1) Description

L'appareillage complet se compose d'un bloc de mesure BMS₃ et d'un pHmètre PHM72. La figure 2 montre l'ensemble, et les détails, du bloc de mesure:

- Ⓐ Orifice d'injection de l'échantillon,
- Ⓑ Capillaire d'arrivée,
- Ⓒ Electrode de mesure de pCO_2 ,
- Ⓓ Microchambre de mesure de pO_2 et pCO_2 ,
- Ⓔ Electrode de mesure de pO_2 ,
- Ⓕ Chambre d'expansion de l'échantillon,



VUE D'ENSEMBLE DU MICROANALYSEUR RADIONETER (à gauche)
 ET DE L'ENREGISTREUR DIGITAL (à droite)

Vue détaillée du
 microanalyseur

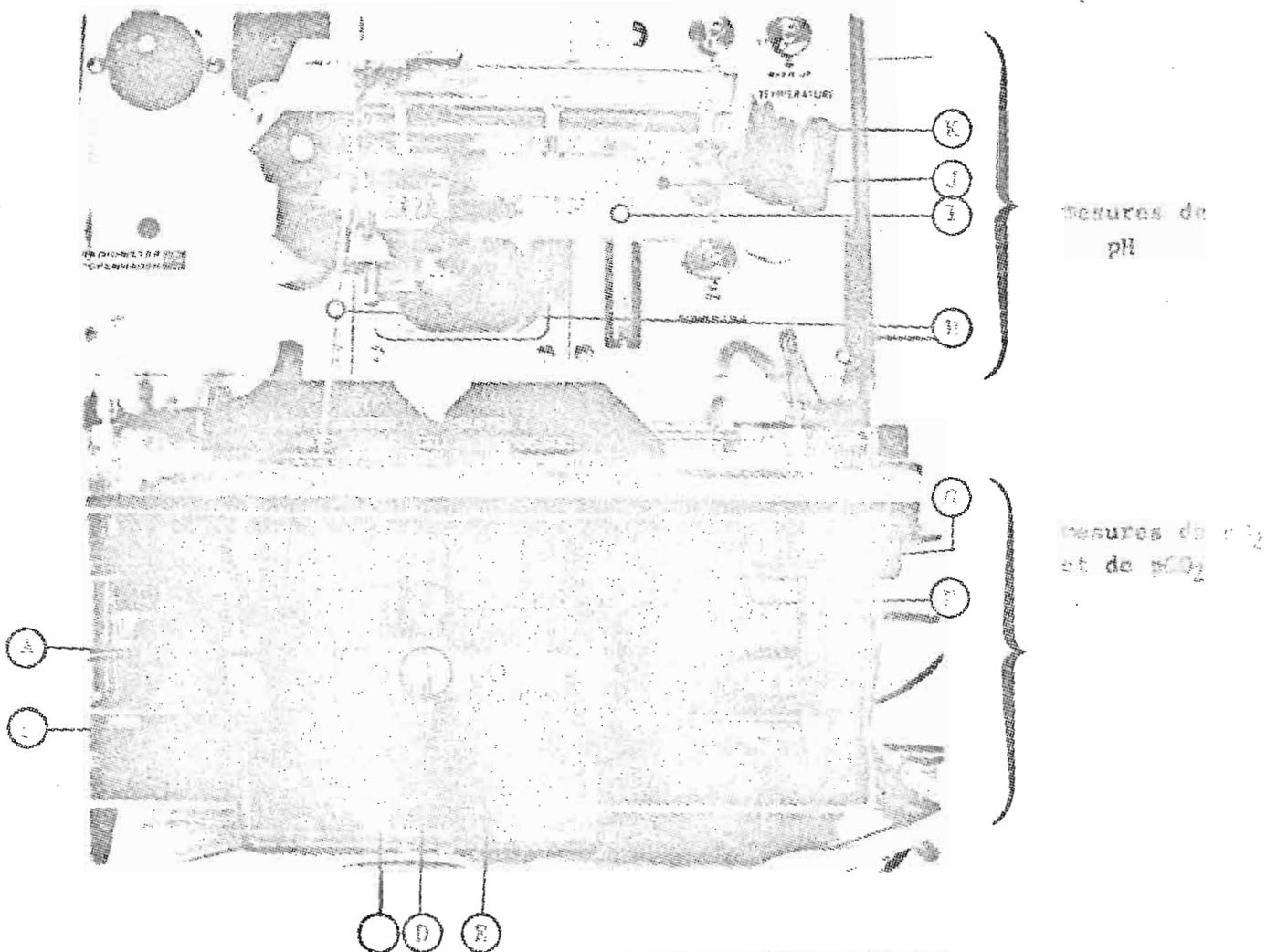


Figure 2 : MICROANALYSEUR RADIONETER

- Ⓒ Bain thermostaté .
- Ⓓ Capillaire, mobile, de reprise de l'échantillon .
- Ⓔ Electrode de mesure de pH, masquant l'électrode de référence .
- Ⓕ Enceinte, mobile, et thermostatée, pour l'électrode de pH .
- Ⓖ Orifice du dispositif d'aspiration, sous vide, de l'échantillon

2) Les électrodes

a. pH :

L'ensemble de mesure du pH comprend une électrode de référence, à KCl saturé, et une électrode en verre de forme particulière, puisqu'elle est traversée par l'échantillon, (aspiré par un tube capillaire.)

L'étalonnage se fait par deux solutions tampons :

- (1)- pH 6,841 à 37° C, pH 6,858 à 28° C
- (2)- pH 7,383 à 37° C, pH 7,402 à 28° C.

La lecture est directe, au pH digital. L'appareil mesure tous les pH, de 0 à 14 à $\pm 0,001$ unité, en 15 secondes.

b. pO₂ :

L'électrode à pO₂ est une électrode de CLARK (1956), composée d'une cathode de platine et d'une anode argent-chlorure d'argent, placées dans une solution électrolytique. Cette solution, qui est un tampon-phosphate additionné de chlorure de potassium, est séparée de l'échantillon par une membrane en polypropylène.

Une tension de 650 mV est maintenue entre les deux électrodes alimentées par une pile au mercure. L'oxygène qui diffuse au travers de la membrane précitée est réduit à l'électrode de platine et le courant de polarisation varie.

L'étalonnage se fait à l'aide d'une solution exempte de CO_2 (5 cc 0,01 M de Borax + 1g de sulfite de sodium), pour le zéro, et à l'aide d'eau distillée saturée à l'air après 15 minutes de barbotage : la pression en oxygène de cette eau est connue. :

$$p\text{O}_2 = (P - A) \frac{20,93}{100} \text{ mm de mercure}$$

formule où { P = pression atmosphérique du moment, en mm de mercure.
{ A = tension de la vapeur d'eau à la température de l'appareil

$$A = 47 \text{ mm à } 37^\circ\text{C ou } 28,3 \text{ à } 28^\circ \text{ C.}$$

La lecture est directe, l'appareil mesure toutes les pressions en oxygène allant de 0 à 800 mm de mercure, à $\pm 0,01$ mm, en 15 secondes.

c. $p\text{CO}_2$

L'électrode à $p\text{CO}_2$ est une électrode de SEVERINGHAUS (1958) composée d'une électrode à pH, et d'une électrode de référence à KCl. Ces deux électrodes sont en contact avec une solution $\text{NaHCO}_3 + \text{NaCl}$, séparée de l'échantillon par une membrane en téflon.

Entre ces deux électrodes existe une différence de potentiel, qui varie avec le pH du mélange $\text{NaHCO}_3 - \text{NaCl}$, ce pH variant lui-même avec la teneur en CO_2 dissous.

L'étalonnage se fait à l'aide de deux mélanges gazeux $\text{CO}_2 - \text{O}_2$ de composition connue (3,8 et 7,9 % de CO_2) :

$$p\text{CO}_2 \text{ inférieure} = (P - A) \frac{3,80}{100} \text{ mm de mercure}$$

$$p\text{CO}_2 \text{ supérieure} = (P - A) \frac{7,80}{100} \text{ mm de mercure}$$

formules où { P = pression atmosphérique du moment.
{ A = tension de la vapeur d'eau à la température de l'appareil.
A = 47 mm à 37°C ou 28,3 à 28° C .

La lecture est directe, l'appareil mesure toutes les pressions en gaz carbonique allant de 8 à 400 mm de mercure, à $\pm 0,01$ mm, en 30 secondes.

Utilisation de l'appareil (voir figure 2)

Un volume de 1 à 5 ml de milieu, prélevé à la seringue, est introduit en(A). Par le capillaire(B),il arrive dans la microchambre(D), où sont mesurées successivement pO_2 et pCO_2 . Par le capillaire(H), il est repris au niveau de la chambre d'expansion(F), pour être aspiré sous vide dans l'électrode à pH (J) où la mesure est immédiate. Il est ensuite éliminé par aspiration sous vide, et l'appareil rincé, à l'eau distillée.

Remarque : Il faut éviter absolument la présence de toute bulle d'air dans le circuit.

IG. EXPLOITATION STATISTIQUE DES RESULTATS

L'emploi des méthodes d'analyse statistique, quand c'est possible, c'est-à-dire quand le nombre de mesures est suffisant, permet d'affirmer que les résultats expérimentaux ne sont pas le seul fait du hasard.

Trois méthodes ont été utilisées :

- a. Interprétation statistique des résultats d'une expérience factorielle par la méthode simplifiée de VAN DEN DRIESSCHE (BECK et al., 1969)
- b. Comparaison de plusieurs traitements à un témoin (DUNNET, 1955)
- c. Calcul des droites de régression (LAMOTTE, 1957).

Ces trois méthodes ne seront pas décrites en détail : nous n'exposerons que leur principe.

IGa. Les expériences factorielles

Une expérience est dite factorielle quand y est étudiée l'influence simultanée de deux facteurs au moins, à plus d'un niveau, sur un ensemble de résultats expérimentaux. La méthode simplifiée décrite par VAN DEN DRIESSCHE s'applique pour tous les dispositifs factoriels à trois et/ou^à deux niveaux.

On désigne une expérience factorielle par la formule générale :

$(3^m \times 2^n) \times r$ en b blocs de k unités

formule où :

m = nombre de facteurs à 3 niveaux

n = nombre de facteurs à 2 niveaux

r = nombre de répétitions

b = nombre de blocs expérimentaux

k = nombre d'unités expérimentales par bloc.

Si, dans une expérience factorielle, les résultats expérimentaux révèlent l'existence d'une différence entre les réponses à deux ou n traitements, l'étude statistique permet de dire si cette différence peut être due au hasard (dans ce cas, elle est dite non significative), ou due à l'influence d'un seul facteur (dont l'effet principal, ou une composante d'effet principal, seront significatifs) ou encore à l'influence simultanée de deux facteurs (interaction), chacun à un niveau donné.

La méthode est encore appelée "test des interactions entre les facteurs, pris deux à deux," car l'influence des facteurs y est décomposée en effets factoriels :

- effets principaux à 2 niveaux (non décomposables)
- effets principaux à 3 niveaux (2 composantes)
- interactions 3 x 3 (4 composantes)
- interactions 3 x 2 (2 composantes)
- interactions 2 x 2 (non décomposables)

Tout effet factoriel qui dépassera un certain chiffre, appelé "carré moyen critique de l'erreur" est significatif. Mais une composante d'effet principal ne peut être interprétée que si elle est libre de toute interaction car, par définition, le mot interaction signifie que la réponse à un premier facteur est sous la dépendance de la réponse à un second facteur.

IGb. Comparaison de plusieurs traitements à un témoin

La méthode exposée par DUNNET (1955) est une étude statistique permettant le calcul d'un seuil, à partir d'un témoin et de la réponse à plusieurs additions, à ce témoin, de différents produits.

L'auteur définit une erreur standard estimée entre deux traitements (S), et à partir de cette erreur standard, calculé la différence (A) existant entre la moyenne des mesures des témoins et la mesure de la même donnée correspondant au seuil. Le report de cette valeur A sur une courbe expérimentale, donne la limite inférieure de la quantité de produit à ajouter pour avoir un effet réel, dans 95 % des cas.

IGc. Calcul des droites de régression (LAMOTTE, 1957)

Cette méthode permet de calculer exactement la relation entre un facteur X et son effet Y quand une étude expérimentale donne des résultats x, y tels que l'effet Y semble varier linéairement avec X.

Chapitre II

RESULTATS EXPERIMENTAUX CONCERNANT LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE

Chronologiquement, notre étude de la sulfato-réduction rhizosphérique se décompose en trois étapes distinctes :

- 1) Nos premières expériences sont directement inspirées des observations in situ et des expériences préliminaires effectuées au Centre de Pédologie biologique de Nancy et décrites par ailleurs (DOMMERMUES et al., 1969). Cette étude préliminaire a mis en évidence la présence d'un dépôt noir, riche en sulfures, autour des racines et la multiplication simultanée des bactéries sulfato-réductrices. Aussi, tout en recherchant le matériel expérimental et les méthodes d'études les plus appropriés, nous avons reproduit au laboratoire ce phénomène, et élucidé l'influence du seul facteur connu à cette date : l'engorgement du sol.
- 2) Nos expériences ont ensuite consisté à étudier l'influence d'autres conditions édaphiques, soit liées à des constantes pédologiques du sol (densité apparente et teneur en sulfates solubles), soit liées à l'intervention de facteurs extérieurs sur la plante (intensité lumineuse et fauche).
- 3) Enfin, nous avons voulu comparer l'intensité de la sulfato-réduction rhizosphérique dans cinq sols différents, par leur origine ou leur nature pédologique, mais de même pH, placés dans les conditions démontrées favorables à l'activité des bactéries sulfato-réductrices.

II A. ORIGINE BIOLOGIQUE ET NATURE RHIZOSPHERIQUE

Les buts essentiels de l'expérience présente ont été de vérifier si la sulfato-réduction pouvait être localisée à la rhizosphère, et de mettre en évidence, par l'emploi simultané de sols stériles, et non stériles, le rôle de la microflore tellurique.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Les graines de maïs (I.N.R.A. 420 dans cette expérience) ont été cultivées sur le sol de Nakta, en colonnes. Trois lots ont été comparés :

Traitement 1 : sol stérilisé par irradiation gamma à la dose de 5 Mrads ; après une semaine de croissance, système racinaire réinoculé par une dilution-suspension 10^{-1} du sol de Nakta. ;

Traitement 2 : analogue au précédent, mais cette fois-ci la dilution suspension 10^{-1} du sol de Nakta a été stérilisée à la chaleur ;

Traitement 3 : sol de Nakta non stérilisé.

Ces trois lots ont été placés dans les conditions qui paraissent les plus favorables à la sulfato-réduction constatée in situ : température de l'ordre de 25° C, et engorgement. L'engorgement a été provoqué par immersion au 7ème jour (le jour même où les sols des traitements 1 et 2 ont reçu la dilution-suspension 10^{-1} du sol de Nakta) et maintenu pendant deux semaines. Les plantes ont été soumises à un éclairage naturel (lumière de septembre).

II. RESULTATS

1) Un précipité noir de sulfures apparaît rapidement le long des racines dans le cas des traitements 1 et 3, mais pas dans celui du traitement 2. Aucune tache noire n'apparaît dans les sols non rhizosphériques. Un dosage de sulfures dans les sols rhizosphériques donne les résultats suivants, (moyennes de 4 échantillons au 21ème jour, soit 14 jours après l'engorgement):

Traitement 1 : $19,8 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{cm}}$

Traitement 2 : $0,2 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{cm}}$

Traitement 3 : $22,8 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{cm}}$

2) La gaine de sulfures disparaît très vite si le sol est ressuyé : quatre lots de sol rhizosphérique (traitement 3) ont été exposés à l'air. Les teneurs en sulfures ont été mesurées à la fin de la phase d'engorgement, puis 24 et 48 h après.

Le tableau suivant montre qu'en 24 h de ressuyage, les sulfures ont pratiquement disparu et qu'en 48 heures, il n'en reste plus que des traces

Evolution, pendant la phase de ressuyage du sol, de la teneur en sulfures (exprimée en $10^{-6} \text{S}^{\text{cm}}$) dans la rhizosphère de quatre plants de maïs cultivés dans le sol salin de Nakta engorgé.

	<u>Fin de la phase d'engorgement</u>	<u>Après 24 heures de ressuyage</u>	<u>Après 48 heures de ressuyage</u>
	24,85	1,19	0,23
	14,65	0,29	0,13
	26,60	2,35	0,27
	25,05	0,26	0,14
<u>Moyennes</u>	<u>22,79</u>	<u>1,02</u>	<u>0,19</u>

III. CONCLUSIONS

- 1) Le précipité noir de sulfures est d'origine biologique ; il ne se produit qu'en présence de bactéries sulfato-réductrices vivantes, préalablement existantes ou réintroduites (après stérilisation) dans le sol de Nakta.
- 2) Ce précipité noir est strictement localisé à la rhizosphère.
- 3) La gaine de sulfures formée dans la rhizosphère pendant une période d'engorgement disparaît très rapidement, en moins de deux jours, au cours du ressuyage du sol.

II B. INFLUENCE DES FACTEURS FAVORISANT L'ANAEROBIOSE

In situ, la sulfato-réduction rhizosphérique ne se manifeste que si si le sol, dont la densité apparente est anormalement élevée, est engorgé. Nous avons étudié successivement : (1) l'influence de l'engorgement sur les densités microbiennes, et en particulier sur le nombre de bactéries sulfato-réductrices, et sur l'accumulation de sulfures dans le sol rhizosphérique ; (2) l'influence de la densité apparente du sol engorgé.

II Ba. Influence de l'engorgement du sol

II Ba₁ - Influence de l'engorgement sur la microflore tellurique

Dans une première expérience, nous comparons l'influence de l'engorgement sur les densités de quatre groupes microbiens dans la rhizosphère du maïs cultivé dans le sol salin de Nakta. Dans la seconde expérience, conduite de façon similaire à la première, nous étudions l'évolution de deux groupes microbiens seulement dans le sol de Nakta, et a titre de témoin dans un sol non salé, le sol brun calcaire du Montet.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Des graines de maïs I.N.R.A. 260, prégermées, ont été semées dans des colonnes de sols (Nakta et Montet). Après une semaine de croissance à la capacité au champ, les traitements suivants ont été distingués :

Expérience 1 :

- (1) Sol salin engorgé (par immersion)
- (2) Sol salin non engorgé (par maintien à la capacité au champ).

Expérience 2 :

- (1) Sol salin engorgé (par immersion)
- (2) Sol salin non engorgé (par maintien à la capacité au champ)
- (3) Sol non salin engorgé (par immersion)
- (4) Sol non salin non engorgé (par maintien à la capacité au champ).

Nous avons dénombré, suivant des procédés décrits, les micro-organismes suivants :

- germes ammonificateurs (expériences 1 et 2),
- bactéries sulfato-réductrices (expériences 1 et 2),
- Clostridium (expérience 1),
- Azotobacter (expérience 1).

Les numérations ont été faites au 21ème jour, (soit 2 semaines après la différenciation des traitements). Dans le cas de l'expérience 2, nous avons en outre mesuré la teneur en sulfures dans les sols rhizosphérique et non rhizosphérique (traitement 1).

Les expériences ont été conduites à la lumière naturelle de juin et à une température variant entre 18 et 23° C.

II. RESULTATS

Après une quinzaine de jours de croissance un précipité noir de sulfures s'est révélé dans la rhizosphère correspondante aux traitements (1) seulement. Les résultats des numérations microbiennes dans la rhizosphère font l'objet des tableaux 1 (expérience 1) et 2 (expérience 2)

Nous notons les faits suivants :

1) L'engorgement du sol salin entraîne une multiplication considérable des bactéries sulfato-réductrices ; ces microorganismes sont stimulés préférentiellement : leur densité relative passe de 0,01 à 6 % (expérience 1) ou de 0,06 à 7 % (expérience 2).

Tableau 1 - INFLUENCE DE L'ENGORGEMENT SUR LA DENSITE DE QUATRE GROUPEMENTS MICROBIENS DANS LA RHIZOSPHERE DU MAIS I.N.R.A. 260 CULTIVE DANS LE SOL SALIN.

	Groupes microbiens	Sol salin de Nakta	
		Engorgé	Non engorgé
Densités absolues	Sulfato-réducteurs (R)	1 120	1
	<u>Clostridium</u> (C)	1 580	220
	<u>Azotobacter</u> (Z)	1 580	10
	Ammonificateurs (A)	16 000	8 000
Densités relatives	Sulfato-réducteurs ($\frac{R}{A} \times 100$)	6 %	0,01 %
	<u>Clostridium</u> ($\frac{C}{A} \times 100$)	10 %	2,75 %
	<u>Azotobacter</u> ($\frac{Z}{A} \times 100$)	10 %	0,12 %

N.B. - Les densités absolues sont exprimées en milliers de germes par g de sol rhizosphérique ; les densités relatives sont exprimées en pourcentage de la microflore rhizosphérique ammonifiante.

Tableau 2 - INFLUENCE DE L'ENGORGEMENT SUR LA DENSITE DE LA MICROFLORE SULFATO-REDUCTRICE ET DE LA MICROFLORE AMMONIFIANTE DANS LA RHIZOSPHERE DE MAIS CULTIVE DANS UN SOL SALIN ET DANS UN SOL NON SALIN DE MEME pH

	GROUPES MICROBIENS	Sol salin		Sol non salin	
		engorgé	non engorgé	engorgé	non engorgé
		traitement 1	traitement 2	traitement 3	traitement 4
Densités absolues	Sulfato-réducteurs (R)	7 300	3,8	0,5	0,5
	Ammonificateurs (A)	107 000	6 000	158 000	123 000
Densités relatives	Sulfato-réducteurs ($\frac{R}{A} \times 100$)	7 %	0,06 %	0,0003 %	0,0004 %

N.B.- Les densités absolues sont exprimées en milliers de germes par g de sol rhizosphérique ;
Les densités relatives sont exprimées en pourcentage de la microflore rhizosphérique ammonifiante.

2) Les numérations de Clostridium et d'Azotobacter révèlent une stimulation préférentielle par immersion, analogue à celle des bactéries sulfato-réductrices, et du même ordre de grandeur (expérience 1).

3) Dans le sol non salin, moins riche, il est vrai, en bactéries sulfato-réductrices au départ, la submersion ne provoque aucun accroissement notable de ces bactéries (expérience 1).

Enfin, la teneur en sulfures passe de $0,1 \times 10^{-6} S^=$, dans le sol salin non rhizosphérique, à $30 \times 10^{-6} S^=$ dans la rhizosphère des plantes engorgées. (expérience 2).

III. CONCLUSIONS

L'engorgement du sol salin de Nakta provoque un accroissement très important de trois groupes microbiens : bactéries sulfato-réductrices Azotobacter et Clostridium dans la rhizosphère du maïs, pendant que s'accumulent les sulfures dans ce même microhabitat.

L'engorgement d'un sol ^{non} salin (Montet) ne favorise pas particulièrement la prolifération des bactéries sulfato-réductrices dans la rhizosphère.

II Ba₂ - Influence de l'engorgement sur les densités microbiennes et l'accumulation de sulfures dans la rhizosphère.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Nous avons conduit cette expérience dans 16 colonnes de sol de Nakta humidifié initialement au niveau de la capacité au champ. Au jour J, deux lots de 8 colonnes ont été constitués : le premier seul recevant des graines de maïs prégermées, le second restant vierge de toute culture végétale.

Au jour J + 15, le sol de la moitié des colonnes de chaque lot a été submergé.

Nous avons ainsi différencié les 4 systèmes suivants :

11. Sol non rhizosphérique non engorgé et compacté,
21. Sol rhizosphérique non engorgé,
12. Sol non rhizosphérique engorgé et compacté,
22. Sol rhizosphérique engorgé.

Au jour J + 25 dans le sol des 4 systèmes ont été dénombrées les bactéries sulfato-réductrices, les Azotobacter chroococcum et les ammonificateurs, et les sulfures ont été dosés.

Les résultats sont exposés au tableau 3.

L'expérience a été entièrement conduite à 25° C sous éclairage artificiel (6 000 lx), cet éclairage durant 10 h par jour.

II. RESULTATS

L'analyse statistique de ce dispositif factoriel 2^2 à 4 répétitions (numérations) ou 3 seulement (sulfures), en un seul bloc, confirme :

- l'existence d'une interaction engorgement x rhizosphère pour chacune des trois variables suivantes, considérées isolément : densité des bactéries sulfato-réductrices, densité des Azotobacter, teneur en sulfures. La figure 3 met d'ailleurs en évidence le parallélisme entre le nombre de bactéries sulfato-réductrices et la production de sulfures dans le cas des quatre traitements.
- un effet principal libre de toute interaction pour la variable densité des microorganismes ammonificateurs : leur prolifération est stimulée indépendamment, soit par l'effet rhizosphère, soit par l'engorgement.

Figure 3 - INFLUENCE DE L'ENGORGEMENT ET DE LA COMPACTION SUR LA SULFATO-REDUCTION DANS LE SOL NON RHIZOSPHERIQUE ET DANS LE SOL RHIZOSPHERIQUE

(Sol alluvial salin de Nakta, Tunisie , maïs INRA 420)

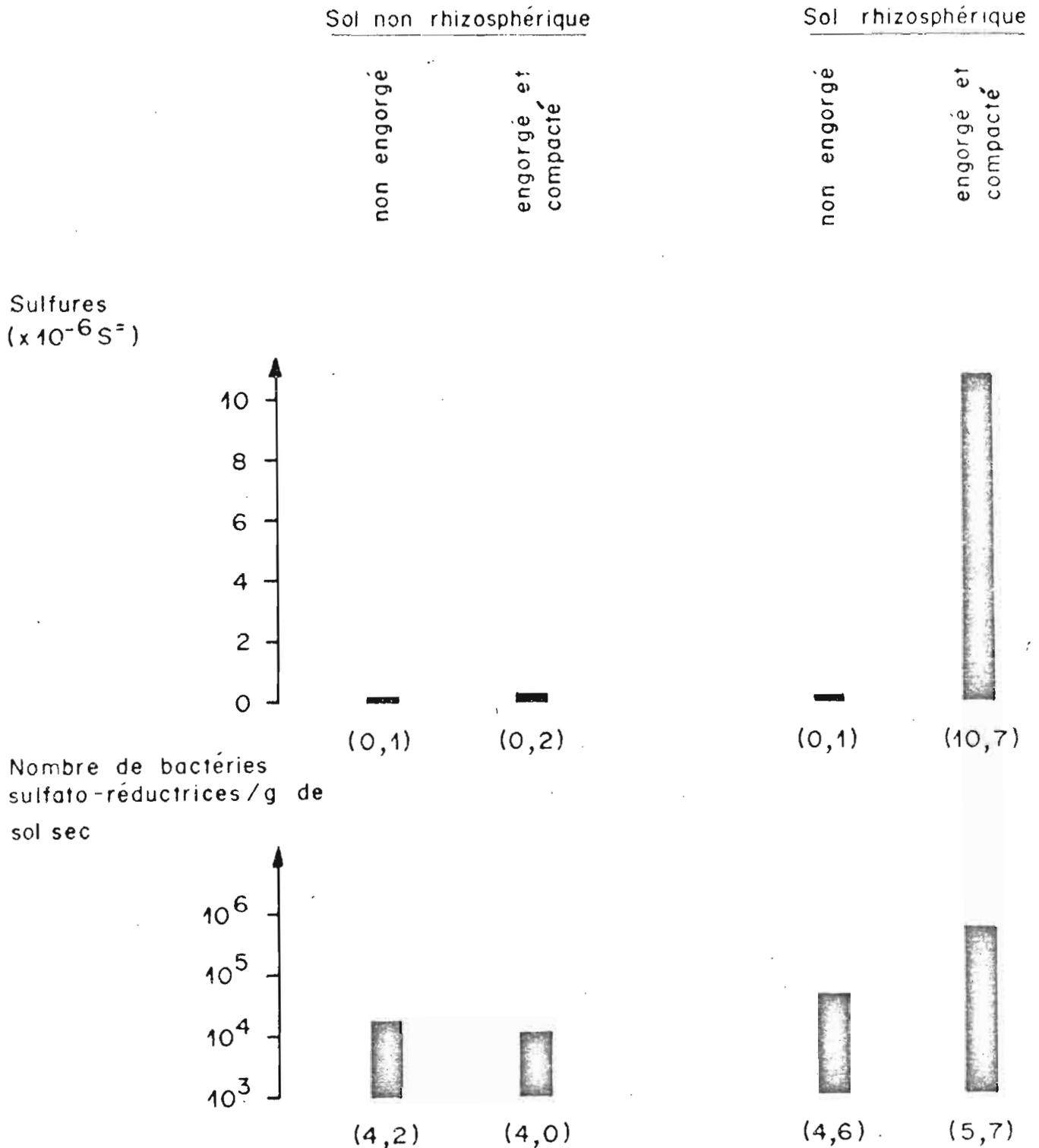


Tableau 3 - INFLUENCE DE L'ENGORGEMENT SUR LA DENSITE DES BACTERIES SULFATO-REDUCTRICES ET DE DEUX AUTRES GROUPES MICROBIENS AINSI QUE SUR LA TENEUR EN SULFURES DANS LE SOL RHIZOSPHERIQUE ET NON-RHIZOSPHERIQUE

		Densités microbiennes (\log_{10})			Teneur en sulfures ($10^{-6} S^{=}$)
		Sulfato-réducteurs	<u>Azotobacter chroococcum</u>	Ammonificateurs	
Sol non engorgé (capacité au champ)	Sol non rhizosphérique (système 11)	4,11	3,00	6,47	0,07
		4,55	3,08	7,65	0,08
		4,38	3,00	7,25	0,06
		3,92	2,61	7,32	-
		<u>4,24</u>	<u>2,92</u>	<u>7,17</u>	<u>0,07</u>
	Sol rhizosphérique (système 21)	3,57	3,00	9,62	0,09
		5,17	3,11	12,91	0,12
		4,58	3,00	8,24	0,09
		5,23	2,61	7,70	-
		<u>4,64</u>	<u>2,93</u>	<u>9,62</u>	<u>0,10</u>
Sol engorgé (submersion)	Sol non rhizosphérique (système 12)	2,84	2,85	7,04	0,16
		4,41	3,00	6,84	0,32
		4,00	3,11	5,60	0,19
		4,80	2,77	7,14	-
		<u>4,01</u>	<u>2,93</u>	<u>6,65</u>	<u>0,22</u>
	Sol rhizosphérique (système 22)	5,43	3,11	7,47	11,10
		5,91	3,52	7,23	8,10
		5,43	3,90	7,27	12,96
		6,20	4,54	7,38	-
		<u>5,74</u>	<u>3,77</u>	<u>7,34</u>	<u>10,72</u>

N.B. - Les moyennes sont soulignées.

III. CONCLUSIONS

Cette expérience confirme les résultats des deux expériences précédentes et nous permet de conclure sur les effets de l'engorgement:

L'engorgement est la cause, dans la rhizosphère du maïs cultivé dans le sol salin, non seulement de l'augmentation rapide du nombre des Azotobacter, mais surtout d'une prolifération "explosive" des bactéries sulfato-réductrices, et de l'accumulation simultanée, et limitée à ce seul microhabitat, des sulfures produits par ces bactéries.

Le tableau suivant résume les effets de l'engorgement et "les effets rhizosphère" du maïs. Dans ce tableau, le rapport $\frac{R}{S}$ représente le quotient du nombre de germes d'un groupement microbien donné dans le sol rhizosphérique (R), par le nombre de ces mêmes germes dans le sol (S) non rhizosphérique. Par analogie, nous appelons $\frac{r}{s}$ le rapport des teneurs en sulfures des sols rhizosphérique et non rhizosphérique.:

Sol de Nakta	Rapports R/S		Rapport r/s Sulfures
	Bactéries sulfato- réductrices	<u>Azotobacter</u>	
non engorgé	2	1	1
engorgé	50	6	48

II Bb. Influence de la densité apparente du sol

L'expérience présente a pour but de vérifier que l'anaérobiose favorable aux bactéries sulfato-réductrices, et dont la cause principale est l'engorgement du sol, est aggravée, dans le cas des sols salins comme celui de Nakta, par le tassement du sol. Ce tassement se traduit par une densité apparente en surface, dépassant couramment 1,70.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Nous avons utilisé le sol salin de Nakta homogénéisé et broyé pour détruire les agrégats. Il est réparti, à l'état sec en colonnes et un gradient de densités apparentes de 1,30 à 1,70 est obtenu en tassant ce sol par chocs d'intensités croissantes. Des graines de maïs I.N.R.A. 420 préalablement prégermées y sont semées. Elles s'y développent pendant une semaine. On provoque alors l'engorgement du sol en le submergeant.

Pendant toute la durée de l'expérience, la température est maintenue à 28° C et l'intensité de l'éclairement est de 6 000 lx environ, la photopériode est de douze heures de lumière par jour.

Au 25ème jour (soit après 17 jours d'engorgement), on a dosé les sulfures dans la rhizosphère.

II. RESULTATS

1) Il existe un seuil de densité apparente, situé entre 1,45 et 1,50, à partir duquel la sulfato-réduction rhizosphérique s'intensifie très vite quand la densité augmente (figure 4).

2) Au-dessus du seuil, les sulfures sont produits plus tôt (5 à 6 jours en général) et en plus grande quantité que dans les sols moins denses.

3) L'intensité de la sulfato-réduction est maximale quand elle apparaît au niveau de racines situées à plus de 5 cm de profondeur.

Remarque

Une expérience similaire à celle-ci a été faite, à titre de contrôle, en utilisant le même sol, tassé de façon à ce que sa densité apparente varie entre 1,60 et 1,80, mais maintenu à une humidité proche de la capacité au champ. Au 25ème jour, aucune tache de sulfato-réduction n'est apparue : une densité apparente élevée, même au-delà du seuil, ne provoque pas la sulfato-réduction rhizosphérique si le sol n'est pas simultanément engorgé.

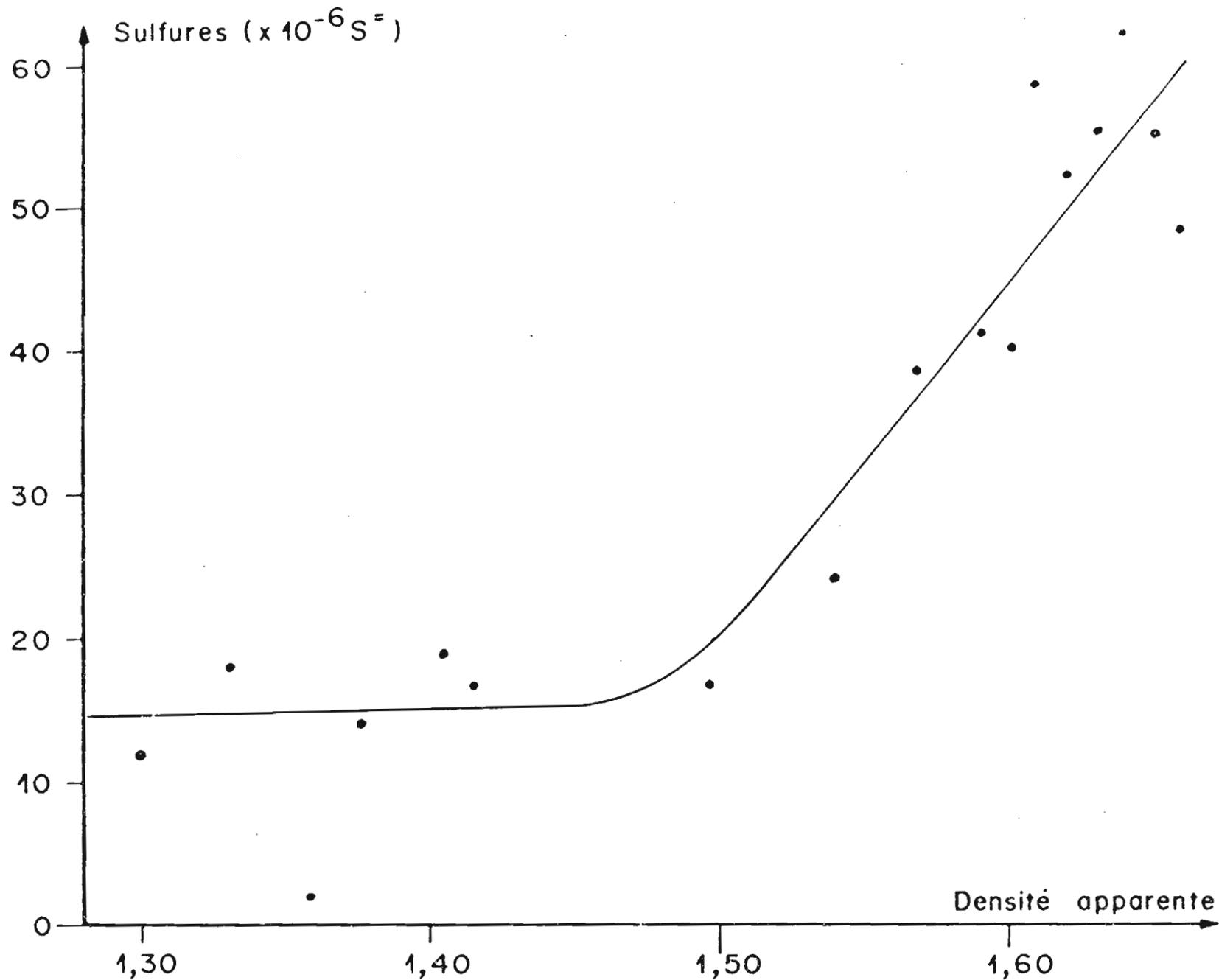


Figure 4 - INFLUENCE DE LA DENSITE APPARENTE DU SOL SUR LA TENEUR EN SULFURES DE LA RHIZOSPHERE DU MAIS I.N.R.A. 420 SEME DANS LE SOL SALIN DE NAKTA ENGORGE (dosages effectués au 17ème jour).

III. CONCLUSIONS

Dans le sol alluvial de Nakta, la densité apparente élevée, (1,70 : en surface) n'est pas la cause de la sulfato-réduction rhizosphérique. Mais elle contribue, quand ce sol est engorgé, à favoriser l'installation de conditions suffisamment anaérobies pour provoquer une sulfato-réduction rhizosphérique intense. In situ, elle se situe en effet bien au-delà du seuil de 1,45 mis en évidence par cette étude.

II C - INFLUENCE DE LA TENEUR DU SOL EN SULFATES SOLUBLES

Le sol salin de Nakta, utilisé pour mettre en évidence la sulfato-réduction rhizosphérique, est caractérisé par des teneurs en sulfates solubles ($602 \times 10^{-6} \text{ S-SO}_4^=$) et insolubles, particulièrement élevées.

La présente étude cherche à vérifier l'hypothèse que cette richesse en sulfates solubles favorise effectivement la production de sulfures dans la rhizosphère par les bactéries sulfato-réductrices.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Deux sols ont été utilisés : le sol alluvial salin de Nakta, modérément lavé, de façon que sa teneur en sulfates solubles devienne $124 \times 10^{-6} \text{ S-SO}_4^=$ seulement, et le sol brun calcaire de Pixérécourt, caractérisé par de faibles teneurs en sulfates solubles ($83 \times 10^{-6} \text{ S-SO}_4^=$) et insolubles.

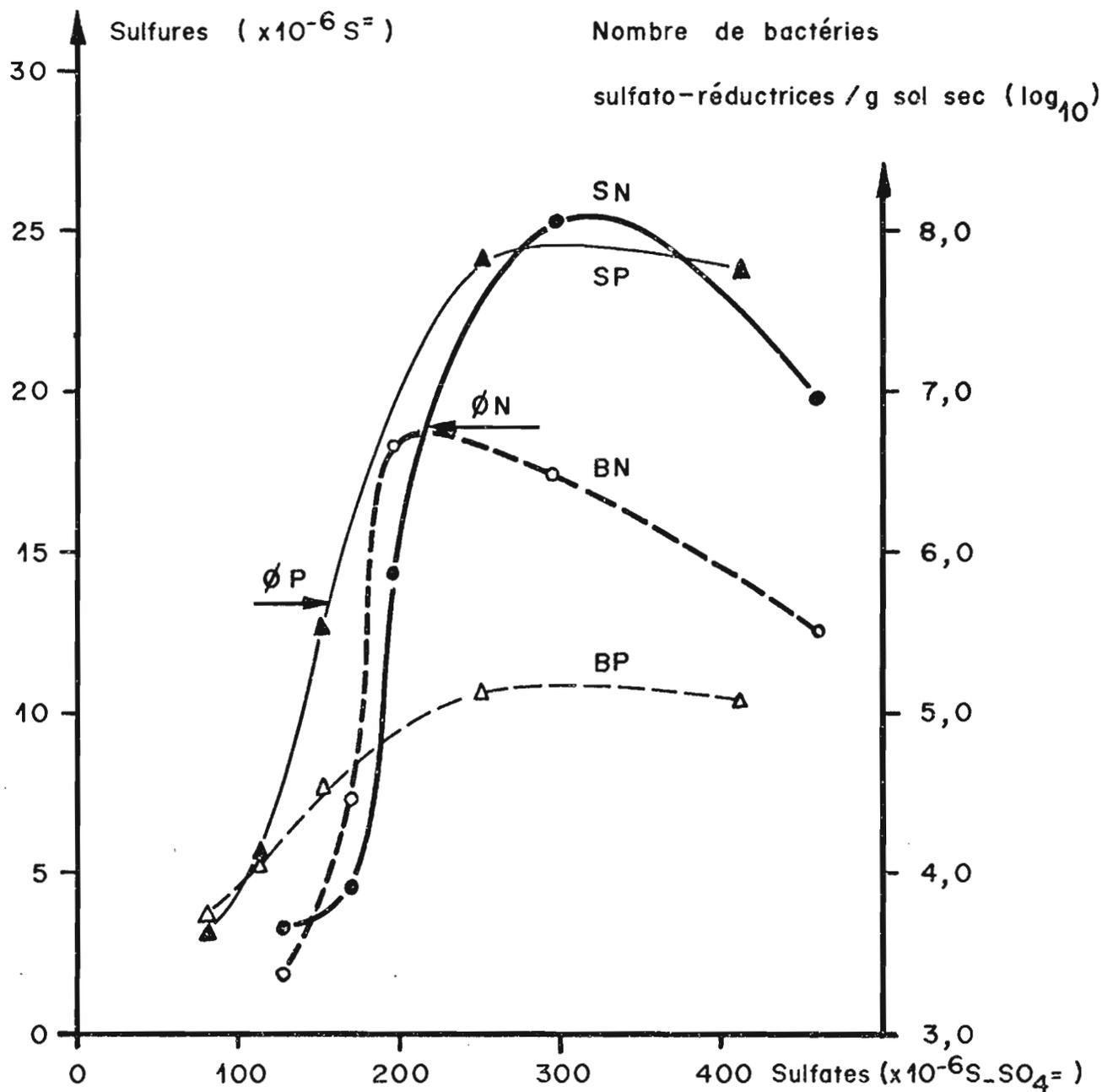
A chacun de ces sols ont été ajoutées, après broyage modéré, des doses croissantes de sulfates sous forme de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$. Ces sols ont été ensuite répartis en colonnes et on y a semé du maïs I.N.R.A. 420.

L'engorgement a été provoqué le 8ème jour; et au 18ème jour, soit après une phase d'engorgement d'une durée de 10 jours, on a dosé les sulfures et dénombré les bactéries sulfato-réductrices dans la rhizosphère.

II. RESULTATS

La figure 5 regroupe nos résultats, et permet les commentaires suivants :

(1) Le nombre de bactéries sulfato-réductrices présente un maximum très marqué pour le sol de Nakta (BN), moins net pour le sol de Pixérécourt (BP) pour des teneurs comprises entre 200 et $300 \times 10^{-6} \text{ S-SO}_4^=$.



- BN** Nombre de bactéries sulfato-réductrices dans le sol rhizosphérique de Nakta.
BP Nombre de bactéries sulfato-réductrices dans le sol rhizos. de Pixérécourt.
SN Teneur en sulfures du sol rhizosphérique de Nakta
SP Teneur en sulfures du sol rhizosphérique de Pixérécourt
ØN Seuil de sulfates dans le sol de Nakta ($220 \times 10^{-6} \text{ S-SO}_4=$)
ØP Seuil de sulfates dans le sol de Pixérécourt ($150 \times 10^{-6} \text{ S-SO}_4=$)

Les dosages ont été effectués au 18ème jour, soit 10 jours après l'engorgement.

Figure 5 - INFLUENCE DE LA TENEUR EN SULFATES SUR LE NOMBRE DES BACTERIES SULFATO-REDUCTRICES ET LA TENEUR EN SULFURES DE DEUX SOLS RHIZOSPHERIQUES (SOL SALIN DE NAKTA LAVE ET SOL BRUN CALCAIRE DE PIXERECOURT, ENGORGES)

(2) La production de sulfures est sensiblement égale dans les deux sols (Nakta : SN et Pixérécourt:SP) : elle croît avec la teneur en sulfates solubles à partir d'un seuil situé plus bas dans le sol de Pixérécourt, plus tassé (densité apparente 1,50) que celui de Nakta (1,45).

Les seuils de sulfates au-delà desquels la sulfato-réduction rhizosphérique se manifeste avec une probabilité de 95 % ont été calculés par la méthode de DUNNET (1955) : pour le sol de Nakta (\emptyset N) il est de $220 \times 10^{-6} \text{ S-SO}_4^=$, et pour le sol de Pixérécourt (\emptyset P), il est de $150 \times 10^{-6} \text{ S-SO}_4^=$.

III. CONCLUSION

Extrapolés à l'hectare en se fondant sur un poids de 3 000 t de sol à l'hectare, les seuils de sulfates solubles sont respectivement de 660 et 450 kg/ha.

II D - INFLUENCE DES FACTEURS FAVORISANT L'EXSUDATION RACINAIRE

Les premières observations in situ (DOMMERCUES et col., 1969) ont mis en évidence deux phénomènes particuliers :

(1) La mort des plantes en liaison avec une modification brutale de l'éclairement :

Une sulfato-réduction intense apparaît quand une période de forte insolation succède à une période de nébulosité. Les plantes atteintes (luzerne, haricot, maïs et coton, par exemple) dépérissent très vite, les feuilles jaunissent puis brunissent, pendant que les racines se couvrent d'un dépôt noir de sulfures. La mort survient 7 à 10 jours après l'apparition de ces premiers symptômes.

(2) Le dépérissement de certains fourrages après une fauche :

Quand certaines plantes fourragères (la luzerne par exemple) sont coupées et quand cette fauche est suivie de l'engorgement du sol, les racines se couvrent du même dépôt rhizosphérique et le rendement en fourrage de la récolte suivante représente 50 % seulement de celui des parcelles non engorgées.

Il est possible d'expliquer ces deux phénomènes par une modification quantitative et/ou qualitative des exsudats rhizosphériques. On sait que la lumière agit sur l'abondance et la nature de ces exsudats (ROVIRA, 1965).

La présente étude a pour but de vérifier expérimentalement si la lumière d'une part, et la fauche, d'autre part, favorisent effectivement l'accumulation de sulfures et la prolifération des bactéries sulfato-réductrices dans la rhizosphère.

II Da - INFLUENCE DE L'INTENSITE D'ECLAIREMENT ET DE L'AGE DE LA PLANTE SUR LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL ET METHODES D'ETUDE

Nous utilisons de jeunes plants de maïs hybride, variété I.N.R.A. 420, cultivés sur le sol salin tunisien de Nakta, réparti dans les colonnes,

et tassé, de sorte que la densité apparente soit comprise entre 1,35 et 1,55.

Chaque graine préalablement stérilisée est mise à germer sur gélose avant d'être introduite dans le sol. L'humidité du sol est maintenue à une valeur proche de la capacité au champ pendant une semaine, temps nécessaire pour obtenir des pousses atteignant 10 cm de hauteur. On provoque alors l'engorgement du sol en le submergeant. Les plantes sont séparées en deux lots soumis, l'un à une intensité d'éclairement de 3 000 lx, l'autre à une intensité d'éclairement de 8 000 lx. La durée de l'éclairement est de 12 heures par jour, la température est de 28° C.

Dans le sol, au moment du semis, puis dans la rhizosphère, aux 9ème, 16ème, 23ème et 30ème jours après le semis, nous dosons les sulfures et dénombrons les bactéries sulfato-réductrices suivant les méthodes décrites antérieurement.

Pour effectuer l'analyse statistique des résultats, nous avons considéré deux ensembles de données : un premier ensemble correspond à la phase de croissance active de la plante (du 1er au 16ème jour inclus) ; un deuxième ensemble correspond à la phase de dépérissement (du 16ème au 30ème jour). Chacun de ces ensembles constitue un dispositif de type factoriel 3 x 2 à 3 répétitions, dans lequel l'âge de la plante intervient à 3 niveaux et l'intensité d'éclairement à 2 niveaux. Les calculs sont effectués suivant la méthode rapide décrite par ailleurs (BECK, DOMMERGUES et VAN DEN DRIESSCHE, 1969).

II. RESULTATS

1 - Phase de croissance active de la plante

A) Teneur de la rhizosphère en sulfures (exprimée en $10^{-6}S^{=}$)

L'analyse statistique des résultats exposés au tableau 4, révèle l'existence d'une interaction "intensité d'éclairement x âge de la plante", hautement significative, se décomposant comme suit :

Tableau 4 - INFLUENCE DE L'INTENSITE DE L'ECLAIREMENT SUR LA TENEUR EN SULFURES DE LA RHIZOSPHERE D'UN MAIS CULTIVE SUR SOL SALIN ENGORGE (phase de croissance active).

Age de la plante (en jours)	Régime hydrique	Teneur en sulfures (en $10^{-6}S^{-}$) sous une intensité d'éclaircment de	
		3 000 lx	8 000 lx
0 (semis)	capacité au champ	0,07	0,08
		0,09	0,09
		0,05	0,04
		<u>0,07</u>	<u>0,07</u>
9	engorgement	0,39	0,42
		0,18	0,22
		0,69	0,08
		<u>0,42</u>	<u>0,24</u>
16	engorgement	6,87	30,54
		6,61	31,10
		11,27	34,60
		<u>8,25</u>	<u>32,08</u>

N.B. L'engorgement est provoqué le 8ème jour.
Les moyennes sont soulignées.

		Eclairnement	
		3 000 lx	8 000 lx
Age (en jours)	1	0,07	0,07
	9 et 16	4,35	16,16

		Eclairnement	
		3 000 lx	8 000 lx
Age(en jours)	9	0,42	0,24
	16	8,25	32,08

Le premier jour, la teneur en sulfures est négligeable, et bien entendu, la lumière n'a exercé aucun effet, ces mesures pouvant être considérées comme des mesures-témoins. L'effet de l'intensité de l'éclairnement est très marqué le 16ème jour : sous 8 000 lx, les sulfures sont quatre fois plus abondants que sous 3 000 lx.

B) Densité des bactéries sulfato-réductrices (exprimée en \log_{10})

L'analyse statistique des résultats exposés au tableau 5 montre :

a. l'absence d'effet principal significatif du facteur "intensité de l'éclairnement" sur la micropopulation sulfato-réductrice, quelle que soit la date considérée.,

b. l'existence d'un effet principal significatif du facteur "âge de la plante" sur la densité des bactéries sulfato-réductrices. Cet effet principal est décomposable ainsi :

Age (en jours)		Age (en jours)	
1	9 et 16	9	16
4,89	7,18	7,70	6,59

Tableau 5 - INFLUENCE DE L'INTENSITE DE L'ECLAIREMENT SUR LA DENSITE DES BACTERIES SULFATO-REDUCTRICES DANS LA RHIZOSPHERE D'UN MAIS CULTIVE SUR SOL SALIN ENGORGE (phase de croissance active)

Age de la plante (en jours)	Régime hydrique	Densité des bactéries sulfato-réductrices (en \log_{10}) sous une intensité d'éclairement de :	
		3 000 lx	8 000 lx
0 (semis)	capacité au champ	5,16	4,72
		4,60	5,01
		4,94	4,91
		<u>4,90</u>	<u>4,88</u>
9	engorgement	7,59	8,77
		7,75	6,82
		8,12	7,57
		<u>7,82</u>	<u>7,72</u>
16	engorgement	6,02	7,70
		6,40	6,44
		6,21	6,74
		<u>6,21</u>	<u>6,96</u>

N.B. L'engorgement est provoqué le 8ème jour.
Les moyennes sont soulignées.

La densité des bactéries sulfato-réductrices qui, à l'origine, est assez élevée (environ 100 000/g sol sec), augmente considérablement au 8ème jour (c'est-à-dire après l'engorgement), puis diminue légèrement du 9ème au 16ème jour.

2 - Phase de déperissement

A) Teneur de la rhizosphère en sulfures (exprimée en $10^{-6}S^=$)

L'analyse statistique des résultats exposés au tableau 6 révèle l'existence de deux effets principaux, libres de toute interaction, et hautement significatifs, pour les facteurs : "intensité de l'éclairement" et "âge de la plante".

a. Effet de l'intensité d'éclairement :

Eclairement	
3 000 lx	8 000 lx
21,00	42,38

Sous une intensité d'éclairement de 8 000 lx, la quantité de sulfures accumulés est, en moyenne, deux fois plus élevée que sous une intensité d'éclairement de 3 000 lx.

b. Effet de l'âge de la plante :

Age (en jours)		
16	23	30
20,17	15,75	59,15

La production de sulfures marque un palier entre les 16ème et 23ème jours, mais croît rapidement ensuite.

Tableau 6 - INFLUENCE DE L'INTENSITE DE L'ECLAIREMENT SUR LA TENEUR EN SULFURES DE LA RHIZOSPHERE D'UN MAIS CULTIVE SUR SOL SALIN ENGORGE (phase de dépérissement)

Age de la plante (en jours)	Sous une intensité d'éclairnement de			
	3 000 lx		8 000 lx	
	Sulfures (en $10^{-6}S^{\equiv}$)	Etat de la plante	Sulfures (en $10^{-6}S^{\equiv}$)	Etat de la plante
16	6,87	saine	30,54	dépérisante
	6,61	saine	31,10	dépérisante
	11,27	saine	34,60	dépérisante
	<u>8,25</u>		<u>32,08</u>	
23	5,40	saine	14,80	dépérisante
	5,20	saine	20,15	dépérisante
	6,65	saine	42,30	morte
	<u>5,75</u>		<u>25,75</u>	
30	30,60	dépérisante	77,80	morte
	55,30	morte	67,90	morte
	61,10	morte	62,20	morte
	<u>49,00</u>		<u>69,30</u>	

N.B. L'engorgement est provoqué le 8ème jour.
Les moyennes sont soulignées.

Tableau 7 - INFLUENCE DE L'INTENSITE DE L'ECLAIREMENT SUR LA DENSITE DES BACTERIES SULFATO-REDUCTRICES DANS LA RHIZOSPHERE D'UN MAIS CULTIVE SUR SOL SALIN ENGORGE (phase de dépérissement)

Age de la plante (en jours)	Sous une intensité d'éclairnement de			
	3 000 lx		8 000 lx	
	Sulfato- réducteurs (en log ₁₀)	Etat de la plante	Sulfato- réducteurs (en log ₁₀)	Etat de la plante
16	6,02	saine	7,70	dépérisante
	6,40	saine	6,44	dépérisante
	6,21	saine	6,74	dépérisante
	<u>6,21</u>		<u>6,96</u>	
23	5,74	saine	5,63	dépérisante
	5,41	saine	5,55	dépérisante
	4,12	saine	5,53	morte
	<u>5,09</u>		<u>5,57</u>	
30	3,00	dépérisante	5,00	morte
	4,17	morte	5,72	morte
	3,00	morte	4,94	morte
	<u>3,39</u>		<u>5,22</u>	

N.B. L'engorgement est provoqué le 8ème jour.
Les moyennes sont soulignées.

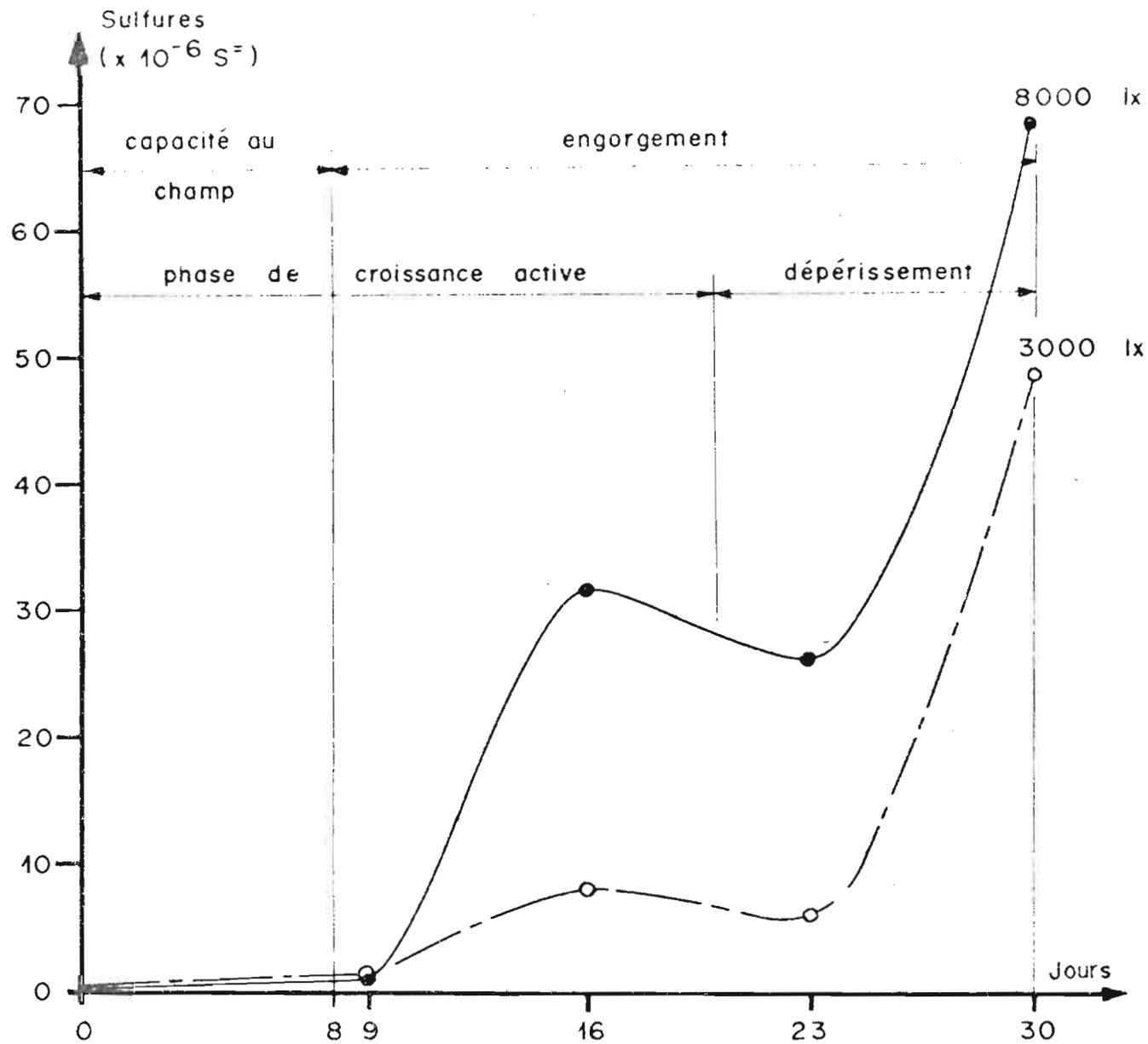


Figure 6 - INFLUENCE DE L'INTENSITE DE L'ECLAIREMENT SUR LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE
(Sol alluvial salin de Nakta, Tunisie ; mafs INRA 420)

B) Densité des bactéries sulfato-réductrices (exprimée en log₁₀)

L'analyse statistique des résultats exposés au tableau 7 montre l'existence de ces deux mêmes effets principaux, toujours libres de toute interaction, et hautement significatifs.

a. Effet de l'intensité d'éclairement :

Eclairement	
3 000 lx	8 000 lx
4,90	5,92

Une intensité d'éclairement forte favorise les bactéries sulfato-réductrices.

b. Effet de l'âge de la plante :

Age (en jours)		
16	23	30
6,59	5,53	4,30

La baisse de la densité des bactéries sulfato-réductrices amorcée entre les 9ème et 16ème jours se poursuit régulièrement.

III. CONCLUSIONS

1 - Effet de l'intensité de l'éclairement sur l'accumulation de sulfures dans la rhizosphère

L'intensité d'éclairement de la plante exerce un effet très marqué sur l'accumulation de sulfures dans le sol rhizosphérique. Comme le montre la figure 6, cet effet se fait sentir dès que le sol est engorgé.

Pendant la phase de croissance active, l'accumulation de sulfures est quatre fois plus importante dans la rhizosphère des plantes éclairées par 8 000 lx que dans celle des plantes soumises à un éclairement de 3 000 lx.

Pendant la phase de dépérissement, la rhizosphère des plantes éclairées par 8 000 lx est seulement deux fois plus riche en sulfures que celle des plantes moins éclairées (3 000 lx). La stimulation de la sulfato-réduction observée dans cette phase est due au fait que les racines des plantes intoxiquées par les sulfures se décomposent et libèrent ainsi de nouvelles quantités de substrats.

2 - Effet de l'intensité de l'éclairement sur la densité des bactéries sulfato-réductrices

L'intensité de l'éclairement exerce sur la densité des bactéries sulfato-réductrices un effet moins marqué que sur l'accumulation des sulfures, mais cet effet est encore significatif. Toutefois, il n'y a pas parallélisme entre la densité des bactéries sulfato-réductrices dans la rhizosphère et la production de sulfures, vraisemblablement par suite de l'effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries sulfato-réductrices des sulfures accumulés (POSTGATE, 1965).

Des expériences sont prévues, dans le futur, dans le but de chiffrer les relations existant entre intensité lumineuse et exsudats racinaires et de déterminer parmi ces derniers ceux qui favorisent le mieux les bactéries sulfato-réductrices.

En définitive, dans les sols riches en sulfates et engorgés, un fort éclairement de la plante accélère les processus de sulfato-réduction rhizosphérique, en stimulant l'exsudation racinaire. Il en résulte que la sulfato-réduction rhizosphérique est beaucoup plus à craindre sous des climats à fort ensoleillement, où l'intensité de l'éclairement peut atteindre 100 000 lx (ce qui est le cas des régions méditerranéennes, par exemple), que sous des climats à faible ensoleillement.

II Db - INFLUENCE DE LA COUPE SUR LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE

Cette étude a été menée en utilisant deux techniques : celle des cultures hydroponiques d'une part, celle des cultures sur sol, en colonnes, d'autre part.

II Db 1 - Influence de la coupe de la tige sur l'évolution des bactéries sulfato-réductrices dans un milieu de culture hydroponique.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Nous avons préparé une série de cultures hydroponiques axéniques de maïs (variété I.N.R.A. 260) sur milieu BÖRNER-RODEMACHER en tubes. L'expérience a été menée à 28° C et sous une lumière de 3 000 lx.

Au 7ème jour, ces tubes ont étéensemencés par une dilution-suspension 10^{-1} de sol de Nakta, après que trois lots aient été distingués :

- 1) Traitement A : nous avons laissé les plantes pousser normalement, le 1/5 supérieur du système racinaire étant exondé.
- 2) Traitement B : nous avons coupé la partie aérienne des plantes, ne laissant dans le tube que les racines excisées.
- 3) Traitement C : la plante entière a été ôtée.

En outre, une série de tubes contenant le même milieu nutritif, mais n'ayant jamais supporté la moindre culture végétale, a étéensemencée au même moment par un inoculum identique (traitement D). Nous avons ainsi différencié quatre séries de milieux contenant une population mixte où le nombre initial de bactéries sulfato-réductrices par tube était de 100 unités environ.

Tableau 8 - MULTIPLICATION DES BACTERIES SULFATO-REDUCTRICES DANS
LA SOLUTION MINERALE DE BÖRNER et RODEMACHER SOUMISE
A DIVERS TRAITEMENTS

Prétraitement de la solution minérale stérile	Inoculation avec une suspension- dilution de sol de Nakta	Traitement appliqué après l'inoculation	Densité des bactéries sulfato-réductrices exprimée en milliers/ml	
			le jour de l'inoculation	13 jours après l'inoculation
Culture axénique de maïs sur la solution minérale pendant 7 jours	+	Maintien de la plante entière (le 1/5 supérieur du système racinaire étant exondé) (traitement A)	0,1	1
	+	Maintien des raci- nes excisées seules (traitement B)	0,1	13 400
	+	Extraction totale de la plante (traitement C)	0,1	4
Aucune culture de maïs (milieu intact)	+	Aucune culture végétale (traitement D)	0,1	0,1

II. RESULTATS

Les bactéries sulfato-réductrices ont été dénombrées 13 jours après l'inoculation. Les résultats de ces numérations font l'objet du tableau 8.

Nous constatons que dans les témoins (traitement D) le nombre de bactéries sulfato-réductrices est resté stationnaire. Par contre, elles se sont multipliées de façon "explosive" en présence des racines excisées (traitement B) qui, en 13 jours, ont libéré de grandes quantités de substrats, moins intensément dans les tubes vides de plantes (traitement C) qui contenaient seulement les exsudats produits pendant les 7 premiers jours de croissance. Où les résultats peuvent paraître paradoxaux, c'est quand nous constatons que la multiplication est un peu moindre encore en présence de la plante entière (traitement A).

Cette dernière remarque est peut-être à rapprocher de la constatation faite in situ qu'une plante vivante soumise à la sulfato-réduction, mais sans gravité notable, non seulement reprend une vie normale quand cesse l'engorgement, mais encore devient plus vigoureuse qu'une plante voisine non atteinte.

III. CONCLUSIONS

La coupe des parties aériennes favorise, en culture hydroponique du moins, la prolifération rapide des bactéries sulfato-réductrices, mais l'interprétation des résultats d'une telle expérience, conduite avec des modèles rhizosphériques par trop simplifiés, doit être confirmée par une étude dans le sol lui-même.

II Db 2 - Influence de la coupe de la tige sur la sulfato-réduction rhizosphérique dans le sol alluvial salin de Nakta.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL ET METHODES D'ETUDE

Nous utilisons de jeunes plants de maïs hybride, variété I.N.R.A. 420,

cultivé sur le sol salin tunisien de Nakta, réparti dans les colonnes, et tassé à la densité apparente de 1,5 environ.

L'humidité du sol est maintenue à la capacité au champ pendant 10 jours, temps nécessaire pour obtenir des pousses de 10 cm de hauteur exemptes de toute sulfato-réduction.

Nous distinguons alors quatre lots :

- Traitement A : plantes entières, sol engorgé par submersion.
- Traitement B : plantes excisées au 10ème jour (la tige est coupée juste en dessous du collet) ; sol maintenu à la capacité au champ.
- Traitement C : plantes excisées au 10ème jour, sol engorgé par submersion.
- Traitement D : plantes excisées au 20ème jour, sol engorgé dès le 10ème jour.

Pendant toute la durée de l'expérience, la température est maintenue à 28° C et les plantes éclairées par 6 000 lx, 12 heures par jour.

II. RESULTATS

1 - Influence de l'engorgement consécutif à une coupe sur la teneur en sulfures dans les sols rhizosphérique et non rhizosphérique

Le tableau suivant compare, au 24ème jour, (soit 14 jours après la coupe) les teneurs moyennes en sulfures, dans les sols rhizosphérique et non rhizosphérique de 10 échantillons des lots B et C :

Traitement	Teneurs en sulfures (en $10^{-6}S^{2-}$) dans le sol	
	rhizosphérique	non rhizosphérique
B : maintien à la capacité au champ	5,3	4,7
C : engorgement	34,1	4,9

Seule la rhizosphère des plantes excisées et maintenues dans un sol engorgé s'enrichit notablement en sulfures : le phénomène est de nature rhizosphérique, et la coupe doit être suivie de l'engorgement du sol pour provoquer une accumulation de sulfures dans la rhizosphère.

2 - Influence de la coupe sur la densité des bactéries sulfato-réductrices et la teneur en sulfures dans la rhizosphère du maïs cultivé dans un sol salin engorgé.

La figure 7 compare l'évolution des teneurs en sulfures (SR) d'une part, et des micropopulations sulfato-réductrices (BR) d'autre part, dans la rhizosphère des plantes des lots A (SRe et BRe) et B (SRc et BRc).

L'effet de la coupe sur le nombre de bactéries sulfato-réductrices dans la rhizosphère des plants cultivés dans le sol de Nakta, est beaucoup moins marqué que celui, analogue, décrit dans le cas de l'étude en cultures hydroponiques.

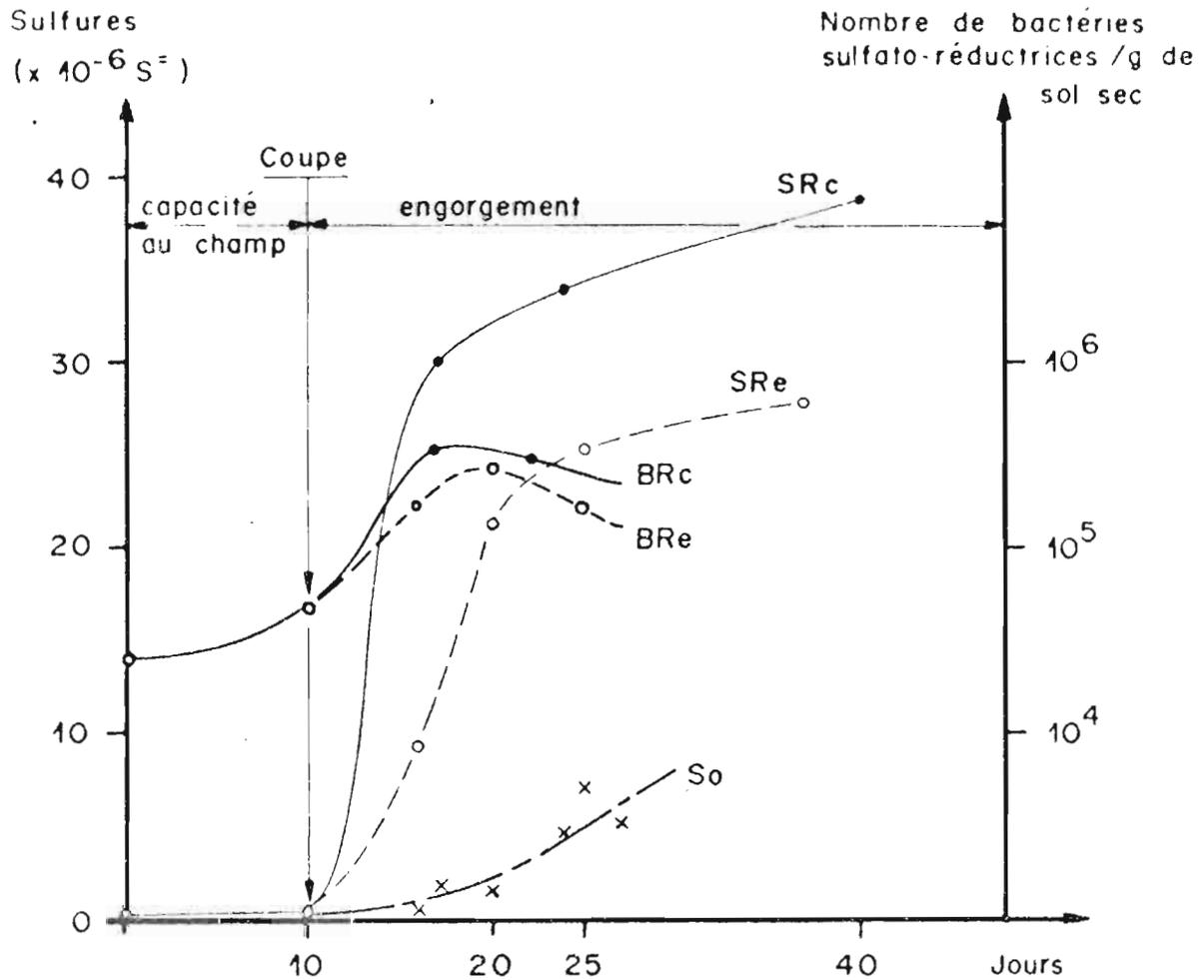
Cet effet est beaucoup plus net en ce qui concerne l'accumulation des sulfures: entre le 10ème et le 25ème jour, la rhizosphère des plantes excisées s'enrichit plus vite que celle des plantes entières : la différence entre deux lots (SRc - SRe) représente, 15 jours après la coupe, $10 \times 10^{-6} S^=$, soit 40 % de l'accumulation des sulfures qui se produit du seul fait de l'engorgement (SRe). Cette différence devient constante après cette date : l'effet de la coupe est sensible pendant deux semaines environ.

3 - Influence de la date de la coupe sur les densités des bactéries sulfato-réductrices et les teneurs en sulfures dans la rhizosphère du maïs cultivé sur sol salin engorgé.

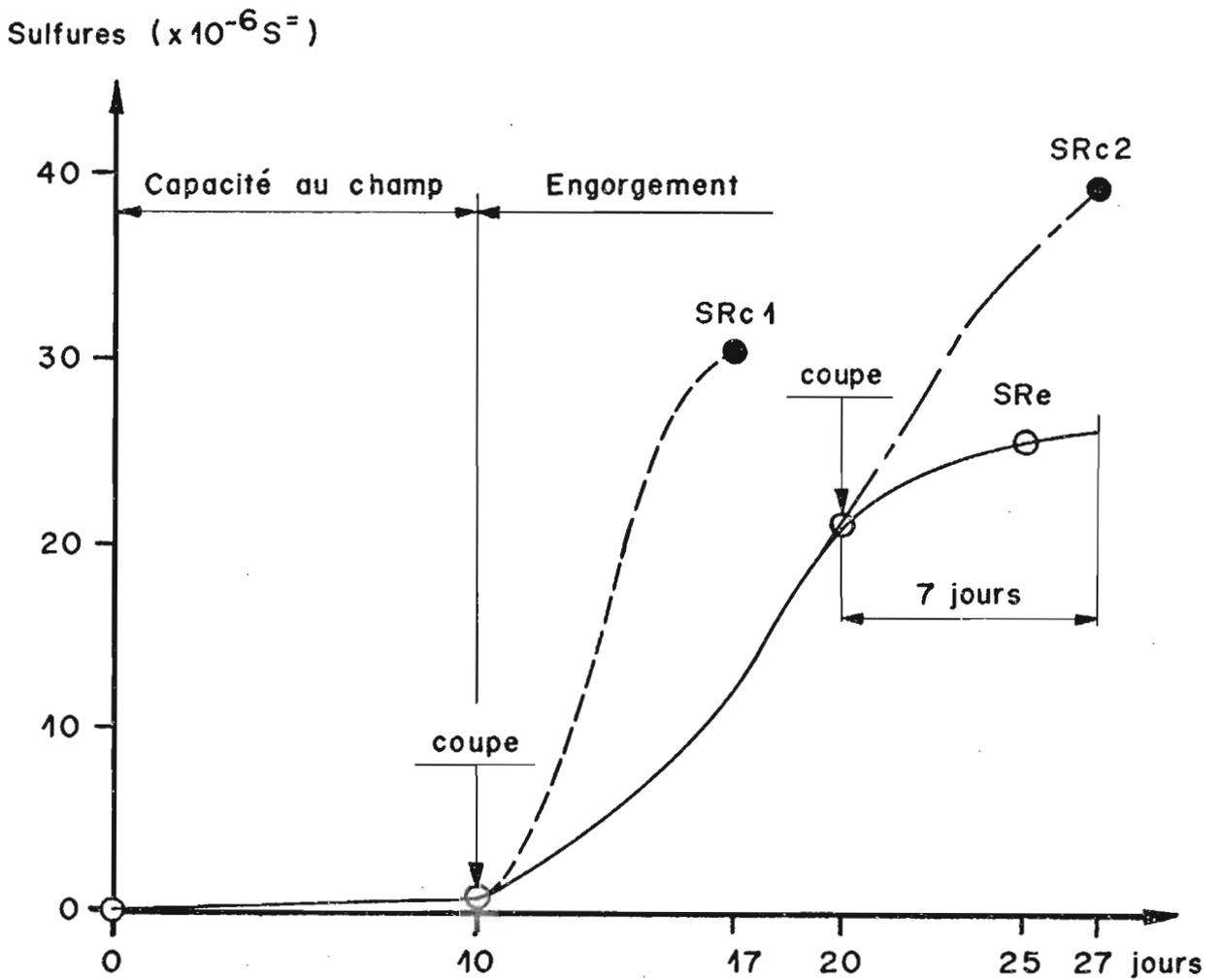
Les figures 8 et 9 qui comparent les traitements C (coupe au 10ème jour) et D (coupe au 20ème jour) ne montrent aucune différence sensible quant à l'accumulation de sulfures (SRc₁ et SRc₂). La coupe au 20ème jour semble favoriser davantage les bactéries sulfato-réductrices, mais une part de cette augmentation du nombre de germes est à créditer à l'actif des 10 jours d'engorgement qui ont précédé cette coupe.

Figure 7 - INFLUENCE DE LA COUPE DE LA TIGE DE MAIS SUR LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE

(Sol alluvial salin de Nakta, Tunisie ; maïs INRA 420)



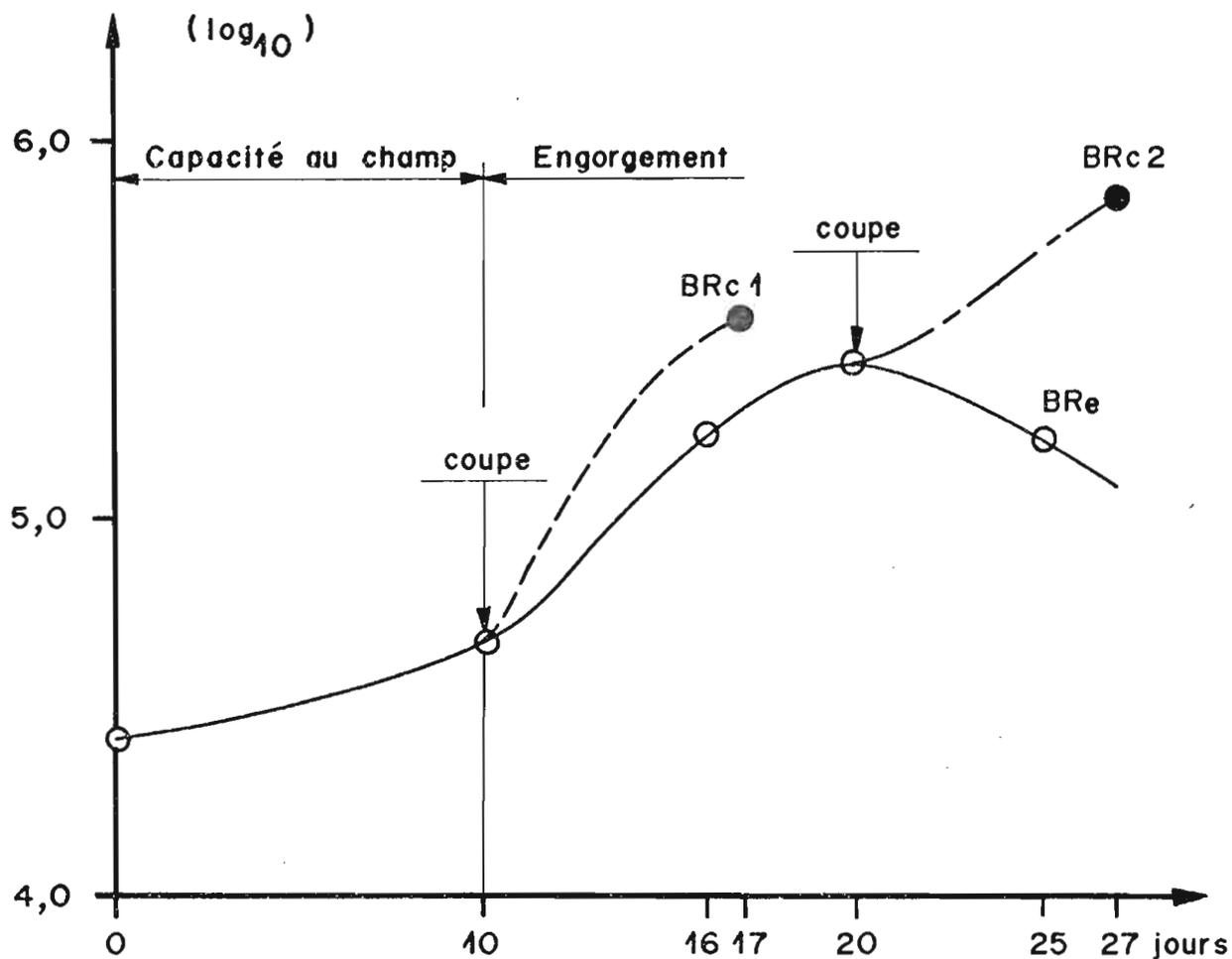
- SRc Teneur en sulfures de la rhizosphère de la plante coupée.
- SRe Teneur en sulfures de la rhizosphère de la plante entière.
- BRc Nombre de bactéries sulfato-réductrices dans la rhizosphère de la plante coupée.
- BRe Nombre de bactéries sulfato-réductrices dans la plante entière.
- So Teneur en sulfures du sol non rhizosphérique.



- SRe** Sol rhizosphérique : plantes-témoins non coupées
SRc 1 Sol rhizosphérique : plantes coupées au 10e jour
SRc 2 Sol rhizosphérique : plantes coupées au 20e jour

Figure 8 - INFLUENCE DE LA DATE DE LA COUPE SUR LA TENEUR EN SULFURES DANS LA RHIZOSPHERE D'UN MAIS I.N.R.A. 420 CULTIVE DANS UN SOL SALIN ENGORGÉ

Nombre de bactéries
sulfato-réductrices / g sol sec



BRe Sol rhizosphérique : plantes-témoins entières
BRc1 Sol rhizosphérique : plantes coupées au 10e jour
BRc2 Sol rhizosphérique : plantes coupées au 20e jour

Figure 9 - INFLUENCE DE LA DATE DE LA COUPE SUR LA DENSITE DES BACTERIES SULFATO-REDUCTRICES DANS LA RHIZOSPHERE D'UN MAIS I.N.R.A. 420 CULTIVE DANS UN SOL SALIN ENGORGE

III. CONCLUSIONS

La coupe de la partie aérienne d'un plant de maïs cultivé dans le sol salin de Nakta a pour effet, si elle est suivie immédiatement d'une phase d'engorgement du sol, et dans ce cas seulement, d'intensifier la sulfato-réduction rhizosphérique.

Le nombre de bactéries sulfato-réductrices augmente peu, mais les exsudats libérés en deux semaines environ permettent à ces microorganismes de produire, dans la rhizosphère, une quantité de sulfures de 40 % supérieure à celle que permettrait l'intervention de l'engorgement seul. La date à laquelle est effectuée cette coupe semble ne pas avoir d'importance.

II E - SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE DANS DIFFERENTS SOLS

L'étude de la sulfato-réduction dans la rhizosphère du maïs cultivé dans le sol alluvial salin de Nakta, nous a permis de mettre en évidence l'influence de deux facteurs directement liés au type pédologique du sol étudié : la densité apparente (fonction de la granulométrie et de la structure) et la teneur en sulfates solubles (caractéristique constante des sols salins).

Dans cette expérience seront comparé toutes conditions égales par ailleurs : durée de la phase d'engorgement (9 jours), plante test (maïs I.N.R.A. 420), éclaircissement (3 000 lx) et température (28° C), cinq sols de même pH, mais pédologiquement différents.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Nous avons testé :

- deux sols alluviaux salins de Camargue : le premier, en provenance de la station "Mas du Sauvage" est un sol sous prairie, le second provient d'une station voisine, la "Rizière du Mas du Sauvage", créée il y a 20 ans sur un sol identique. Trois prélèvements ont été effectués sur le premier de ces sols (0-20cm, 20-40cm et 40-60cm), deux sur le second (0-20cm et 20-40cm).
- trois sols témoins (horizon superficiel 0-20cm exclusivement)
 - (1) le sol alluvial salin de Nakta, lavé au préalable,
 - (2) le sol brun calcaire de Pixérécourt,
 - (3) le sol sableux hydromorphe de Bonnelles.

Tous les sols ont été décrits précédemment.

Nous avons ainsi différencié 8 groupes de 3 colonnes de sols, où ont été semées, à une profondeur de 3 cm, des graines de maïs I.N.R.A. 420 prégermées. Au 7ème jour, les sols ont été engorgés, et les prélèvements ont été effectués le 16ème jour, soit neuf jours après l'engorgement.

Le jour du semis ont été mesurés la teneur en sulfates solubles, le pH, et les densités apparentes de chaque sol.

Au 16ème jour ont été mesurés les humidités et les pH des sols non rhizosphériques, les teneurs en sulfures des sols rhizosphériques et non rhizosphériques, et les bactéries sulfato-réductrices ont été dénombrées dans la rhizosphère.

II. RESULTATS

Le tableau 9 qui résume nos résultats permet les remarques suivantes :

1) L'engorgement favorise les bactéries sulfato-réductrices dans la rhizosphère, de façons différentes suivant les sols ; leur nombre, par gramme de sol sec est de l'ordre de :

- 10^3 dans les deux sols non salins (Pixérécourt et Bonnelles).
- 10^5 dans le sol salin, lavé de Nakta .
- 10^6 dans les trois horizons du sol alluvial salin de Camargue, sous prairie (Mas du Sauvage).
- 10^8 dans les deux horizons du sol salin de rizière.

2) L'accumulation des sulfures dans la rhizosphère n'est pas strictement proportionnelle au nombre de bactéries sulfato-réductrices dans ce même habitat (ce résultat a déjà été constaté par ailleurs).

Les teneurs moyennes sont :

- très faibles dans les sols non salins (inférieures à $1 \times 10^{-6} S^=$)

Tableau 9 - SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE DANS DEUX SOLS DE CAMARGUE

ORIGINE			DONNEES INITIALES		MESURES AU JOUR J + 16 (engorgement au jour J + 7)						
Nature du sol	Station	Horizon	Sulfates en $10^{-6}S-SO_4^{=}$	pH	humidité en %	densité apparen- te	Sulfures (en $10^{-6}S^{=}$) dans la rhizosphère	Sulfures (en $10^{-6}S^{=}$) hors de la rhizosphère	Bactéries sulfato- réductrices par g de sol sec	pH	
salins	Alluvial salin	Mas du Sauvage	0-20cm	506	7,70	38,4	1,38	15,9	3,26	$4,2 \times 10^6$	8,02
			20-40cm	421	8,02	32,5	1,38	18,9	3,11	$4,9 \times 10^6$	8,05
			40-60cm	284	8,51	33,8	1,39	6,92	2,88	$4,4 \times 10^6$	8,15
	Rizière du Mas du Sauvage	0-20cm	517	7,74	51,3	1,16	51,5	2,69	$4,6 \times 10^6$	8,14	
		20-40cm	395	7,79	57,5	1,12	40,0	2,22	$4,4 \times 10^6$	8,08	
	Alluvial salin (lové)	Nakta	0-20cm	124	7,98	35,5	1,35	22,8	0,58	$8,9 \times 10^5$	7,84
non salins	brun calcaire	Pixérécourt	0-20cm	83	7,98	39,2	1,33	1,04	0,47	$3,2 \times 10^3$	7,13
	sableux hydromorphe	Bonnelles	0-20cm	227	7,88	40,7	1,36	0,16	0,33	$7,7 \times 10^3$	7,53

Chaque chiffre est la moyenne de 3 mesures.

- faibles dans l'horizon 40-60 cm du sol salin sous prairie ($7 \times 10^{-6} \text{S}^=$), mais plus importantes dans les deux horizons supérieurs de ce même sol (16 et $19 \times 10^{-6} \text{S}^=$),
- plus élevées dans le sol de Nakta lavé ,
- très élevées dans les deux horizons du sol salin de rizière ($52 \times 10^{-6} \text{S}^=$ en surface, $40 \times 10^{-6} \text{S}^=$ en profondeur).

3) Dans les sols non rhizosphériques, l'accumulation de sulfures est minime, mais non négligeable, dans les sols de Camargue.

4) La sulfato-réduction dans le sol de rizière est très intense, bien qu'elle se produise dans un sol peu tassé, puisque la densité apparente des échantillons étudiés varie entre 1,12 et 1,16. Mais il faut noter la grande capacité de rétention en eau de ces sols : leur humidité est supérieure à 50 %, alors qu'elle n'est que de 30 à 40 % dans les autres sols.

III. CONCLUSIONS

- 1) Les sols alluviaux salins de Camargue et de Tunisie sont nettement plus propices à la sulfato-réduction rhizosphérique que ne le sont les sols non salins, de même pH, placés dans des conditions identiques d'engorgement.
- 2) Le nombre de bactéries sulfato-réductrices et, à un degré moindre, les teneurs en sulfures, dans la rhizosphère, augmentent avec les teneurs en sulfates solubles des sols.
- 3) Les sols de Camargue sont aussi (cas du sol sous prairie) ou plus (cas du sol de rizière) favorables à la sulfato-réduction rhizosphérique que ne l'est le sol de Nakta. Trois caractéristiques pédologiques peuvent l'expliquer:

(1) une richesse en sulfates solubles similaire :

506 et $517 \times 10^{-6} \text{S-SO}_4^{2-}$ dans les horizons superficiels des sols de Camargue, $602 \times 10^{-6} \text{S-SO}_4^{2-}$ dans l'horizon de surface du sol de Nakta non lavé.

(2) une texture plus fine : la fraction granulométrique inférieure à $50 \mu\text{m}$ (argiles + limons) représente 82 % dans les sols salins de Camargue et 43 % seulement dans le sol salin de Nakta.

(3) une plus grande teneur en matière organique : 2 % en Camargue, 1,3 % à Nakta. Cette teneur en matière organique peut aussi expliquer la sulfato-réduction faible dans le sol non rhizosphérique.

(4) Enfin dans le sol de rizière, la sulfato-réduction rhizosphérique est très intense. Outre les facteurs pédologiques précités, un facteur agronomique peut en être la cause : ce sol est inondé pendant de longues périodes : les bactéries sulfato-réductrices se multiplient pendant ces phases d'engorgement, même dans le sol non rhizosphérique.

II F. CONCLUSIONS CONCERNANT LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE

1) La rhizosphère du maïs est un microhabitat favorable à la prolifération des bactéries sulfato-réductrices, quand sont réunies certaines conditions, et est le siège d'une sulfato-réduction dite rhizosphérique.

2) Cette sulfato-réduction se manifeste quand sont réunies les deux conditions suivantes : (1) anaérobiose, (2) teneur en sulfates solubles suffisamment élevée.

L'anaérobiose est consécutive à l'engorgement du sol, et favorisée par une densité apparente élevée : la sulfato-réduction rhizosphérique est intense dans le sol alluvial salin de Nakta engorgé, quand sa densité apparente dépasse un seuil de 1,45 environ.

Le seuil de la teneur en sulfates solubles se situe à 200×10^{-6} S-SO₄ (environ 600 kg/ha).

3) Quand les plantes sont soumises à un fort éclaircissement, ou quand elles sont coupées (fauche des plantes fourragères), les effets de la sulfato-réduction rhizosphérique sont plus marqués.

4) La sulfato-réduction rhizosphérique est fréquente dans les sols suivants :

- Les sols alluviaux salins des zones arides ou semi-arides (Nakta).
- Les sols alluviaux salins en bordure de mer (Camargue).
- Les sols de rizières.

Chapitre III

RESULTATS EXPERIMENTAUX CONCERNANT LA SULFATO-REDUCTION SPERMOSPHERIQUE

La graine, en cours de germination, laissant diffuser des exsudats, comme le fait la racine, la question se posait de savoir si l'environnement immédiat de la graine ou spermosphère pouvait constituer également un habitat favorable à la prolifération et à l'activité de la microflore sulfato-réductrice lorsque sont réalisées certaines conditions édaphiques qui seront précisées. La but de la présente étude consiste précisément à vérifier l'existence de ce dernier processus que nous désignons sous le nom de sulfato-réduction spermosphérique.

Le matériel expérimental et les méthodes d'étude sont, à quelques variantes près, ceux utilisés pour l'étude de la sulfato-réduction rhizosphérique :

- la plante-test est le maïs hybride, variété I.N.R.A. 420
- les sols utilisés, en colonne sont le sol alluvial salin de Nakta, le sol brun calcaire de Pixérécourt, le sol sableux hydromorphe de Bonnelles, et deux sols alluviaux salins de Camargue.
- la température est maintenue à 28° C pendant toute la durée des expériences.
- les graines, également stérilisées et prégermées sur gélose, sont, cette fois-ci, semées à une profondeur connue, en général 3 à 4 cm, quand la racine atteint 1 à 2 mm de long seulement, dans un sol immédiatement engorgé.
- les sulfures et sulfates sont dosés, et les bactéries sulfato-réductrices dénombrées comme précédemment.

III A. ORIGINE BIOLOGIQUE ET NATURE SPERMOSPHERIQUE

Au cours d'une expérience -précitée- portant sur l'étude de l'influence de la densité apparente du sol de Nakta sur la sulfato-réduction rhizosphérique, un petit nombre de graines, pourtant prégermées avant d'être semées dans un sol dont la densité apparente dépasse 1,50, ne se sont pas développées dans le sol engorgé ; en quelques jours, elles se sont entourées d'un abondant précipité noir.

Un tel phénomène, inconnu jusqu'alors - mais présentant quelques analogies avec la sulfato-réduction rhizosphérique-a pu être reproduit au laboratoire, dans les conditions précisées ci-dessous.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Après une prégermination sur gélose de deux jours seulement, des graines de maïs I.N.R.A. 420 ont été semées à une profondeur de 5 cm environ, dans des colonnes de sol de Nakta non lavé. Pour favoriser au maximum les bactéries sulfato-réductrices, ce sol a été tassé à une densité apparente de 1,55 et a été engorgé immédiatement après le semis.

II. RESULTATS

En 2 ou 3 jours seulement, un dépôt noir, contenant des sulfures, entoure chaque graine et empêche tout développement ultérieur. La figure 10 montre l'évolution pendant 17 jours, de la micropopulation sulfato-réductrice et l'accumulation des sulfures dans les sols spermosphérique et non spermosphérique.

Le nombre des bactéries sulfato-réductrices a augmenté pendant les cinq premiers jours jusqu'à des valeurs comprises entre 10^5 et 10^6 unités par g de sol sec, puis a diminué assez lentement. Le nombre des bactéries dans le sol spermosphérique (Bsp) est plus élevé que dans le sol non spermosphérique (Bo) ; mais la différence entre les deux sols est faible.

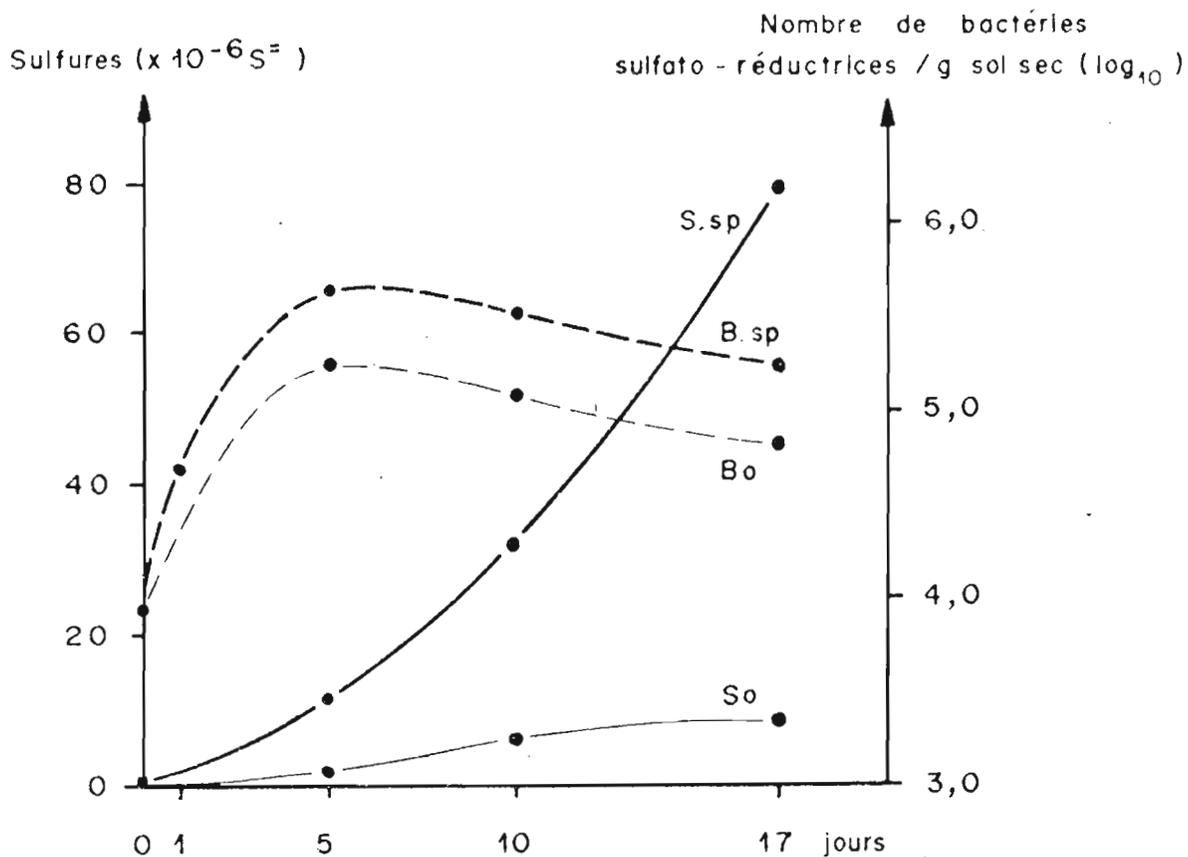


Figure 10 - SULFATO-REDUCTION DANS UN SOL SPERMOSPHERIQUE ET NON SPERMOSPHERIQUE

(Sol salin de Nakta, Tunisie ; maïs INRA 420)

- Bsp Bactéries sulfato-réductrices dans le sol spermosphérique
- Bo Bactéries sulfato-réductrices dans le sol non spermosphérique
- Ssp Teneur en sulfures dans le sol spermosphérique.
- So Teneur en sulfures dans le sol non spermosphérique.

Il n'y a pas parallélisme entre la croissance des bactéries sulfato-réductrices et la production de sulfures, celle-ci continuant à s'élever fortement dans la spermosphère après le 5ème jour. L'accumulation de sulfures dans le sol non spermosphérique (So) a été négligeable par rapport à l'accumulation de sulfures dans le sol spermosphérique (Ssp) qui atteint $30 \times 10^{-6}S^=$ au bout de 10 jours, c'est-à-dire le seuil léthal pour la graine.

III. CONCLUSIONS

La nature spermosphérique du phénomène est indéniable.

L'accumulation de sulfures, dans ce microhabitat est de même nature que celle qui se produit dans la rhizosphère, et est le fait des bactéries sulfato-réductrices. L'hypothèse de l'existence d'une sulfato-réduction spermosphérique est ainsi vérifiée.

III B. INFLUENCE DES FACTEURS FAVORISANT L'ANAEROBIOSE

Nous avons mis en évidence l'analogie existant entre les sulfato-réductions rhizosphérique et spermosphérique : il apparaît logique de penser que l'anaérobiose dans l'un et l'autre cas, a des causes similaires : l'engorgement du sol et sa densité apparente élevée. Dans la présente étude, nous avons voulu tenir compte, en outre, d'une éventuelle influence de la profondeur du semis.

III Ba. Influence de l'engorgement du sol

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Des graines de maïs ont été semées dans deux lots de sol alluvial salin de Nakta non lavé à la densité apparente 1,40 - 1,52 : le premier lot a été maintenu à l'humidité équivalente, le deuxième lot a été submergé.

II. RESULTATS

Au bout de 10 jours, la teneur de la spermosphère en sulfures était de $0,40 \times 10^{-6} \text{g}^{\text{cm}^{-3}}$ dans le sol à l'humidité équivalente et $31,6 \times 10^{-6} \text{g}^{\text{cm}^{-3}}$ dans le sol engorgé (moyennes de 10 mesures).

C'est dans le sol engorgé, et dans lui seul, que la germination a été arrêtée : les graines sont mortes en moins de 6-7 jours et se sont décomposées progressivement.

III. CONCLUSIONS

L'engorgement est un facteur édaphique nécessaire à l'établissement dans la spermosphère des graines de maïs semées dans le sol salin de Nakta, tassé, de conditions suffisamment anaérobies pour y provoquer une sulfato-réduction intense.

III Bb. Influences de la densité apparente du sol et de la profondeur
du semis

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Une centaine de graines de maïs ont été semées à des profondeurs variant entre 0 et 15 cm dans des colonnes de sol alluvial salin de Nakta non lavé de densité croissante (1,30 à 1,70), engorgé immédiatement après le semis.

II. RESULTATS

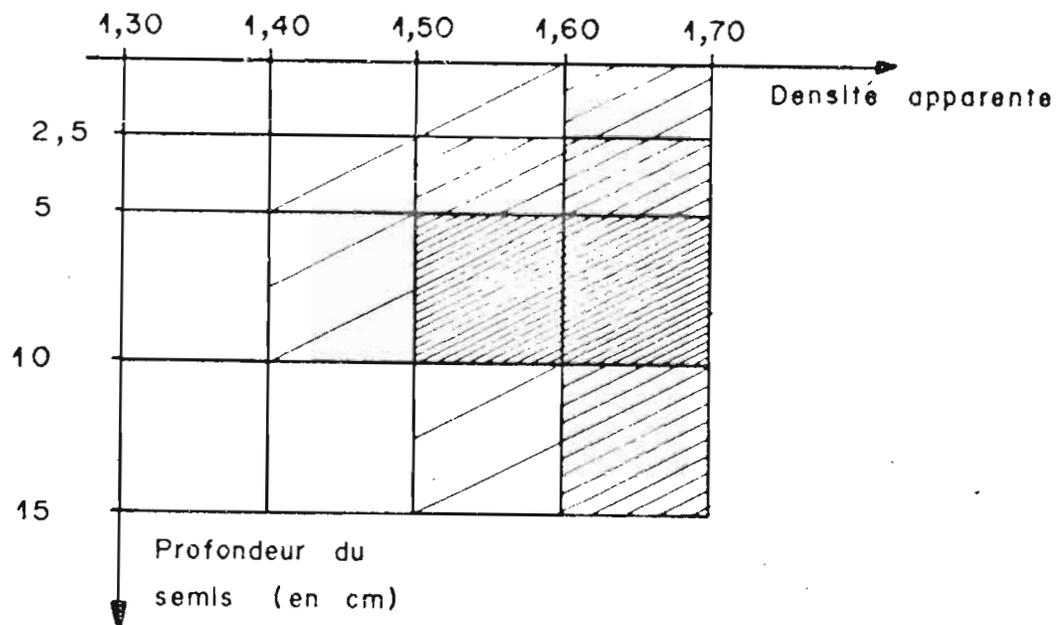
Les résultats des dosages de sulfures dans la spermosphère, effectués après 10 jours, ont été regroupés dans la figure 11.

On peut distinguer 3 zones de densités apparentes où la mortalité est différente :

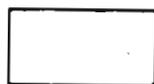
1- Dans la zone où la densité apparente dépasse 1,50, la production de sulfures a été très rapide : les premières taches noires caractéristiques apparaissent en trois jours ; en six jours, les concentrations atteintes sont de l'ordre de $30 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{cm}}$ et dépassent couramment $60 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{cm}}$ en dix jours dans la spermosphère des graines placées à une profondeur supérieure à 5 cm : 90 % sont mortes. Celles qui ont été semées à une profondeur moindre ont survécu, dans 70 % des cas, car les plantules ont réussi à dépasser la surface du sol suffisamment tôt.

2- Dans la zone où la densité apparente est comprise entre 1,40 et 1,50, 10 à 15 % seulement des graines sont mortes, même lorsqu'elles ont été semées au-delà de 5 cm de profondeur.

3- Dans la zone où la densité apparente est inférieure à 1,40, la faible quantité de sulfures produits a ralenti la germination, mais ne l'a pas arrêtée.



Teneur en sulfures $\times 10^{-6} S^=$



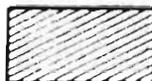
moins de 15



de 35 à 45



de 15 à 25



plus de 45



de 25 à 35

Figure 11 - INFLUENCES DE LA DENSITE APPARENTE DU SOL ET DE LA PROFONDEUR DU SEMIS SUR LA TENEUR EN SULFURES DE LA SPERMOSPHERE DU MAIS I.N.R.A. 420 SEME DANS LE SOL SALIN DE NAKTA ENGORGE NON LAVE (dosages effectués au 10ème jour)

Remarque

Comme les colonnes de chlorure de polyvinyle utilisées pour les expériences ne sont pas étanches à leur base, l'oxygène a diffusé par la partie inférieure et a ralenti sensiblement la sulfato-réduction dans la spermosphère des graines semées entre 10 et 15 cm de profondeur, c'est-à-dire à la base des colonnes de sol.

III. CONCLUSIONS

1) Au delà d'une densité apparente du sol de Nakta engorgé de 1,50 :

En surface, la spermosphère n'est pas le siège d'une sulfato-réduction sensible, de sorte que les graines restent vivantes et peuvent donner naissance à des plantes normales.

A une profondeur supérieure à 5 cm, la sulfato-réduction, qui se manifeste par une auréole noire de sulfures de fer entraîne la mort des graines : en effet, même replacées dans des conditions favorables (c'est-à-dire après ressuyage du sol) elles ne poursuivent pas leur germination.

2) En deçà de ce double seuil (densité du sol apparente 1,50, profondeur du semis 5 cm) les risques de sulfato-réduction spermosphérique dans le sol de Nakta engorgé sont faibles.

III C. INFLUENCE DE LA TENEUR DU SOL EN SULFATES SOLUBLES

L'existence de teneurs minimales en sulfates solubles, nécessaires à la manifestation de la sulfato-réduction rhizosphérique a été démontrée. Il est probable que dans les sols de Nakta et de Pixérécourt, la sulfato-réduction spermosphérique ne soit sensible qu'au delà de tels seuils. La présente étude a pour but de les déterminer.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Cette expérience a été conduite d'une part, avec le sol alluvial salin de Nakta lavé, d'autre part avec le sol brun calcaire de Pixérécourt, auxquels on a ajouté des doses croissantes de sulfate sous forme de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ avant d'effectuer les semis et de provoquer l'engorgement. Au bout de 14 jours, on a dosé les sulfures et on a dénombré les bactéries sulfato-réductrices dans la spermosphère.

II. RESULTATS

La figure 12 où sont regroupés les résultats montre les faits suivants :

(1) Si la production de sulfures croît avec la dose de sulfates solubles présents dans le sol, le nombre des bactéries sulfato-réductrices dans l'un et l'autre sol (BN, BP) présente un maximum pour une teneur en $\text{S-SO}_4^{=}$ de 200 à 300 x 10⁻⁶.

(2) Dans l'un des sols (Pixérécourt : SP) la production de sulfures est moins importante que dans l'autre (Nakta : SN), cette différence pouvant s'expliquer par le fait que la densité apparente du premier sol est un peu inférieure à celle du deuxième (1,41 en moyenne contre 1,47) et surtout par le fait que le deuxième présente une importante réserve en sulfates insolubles.

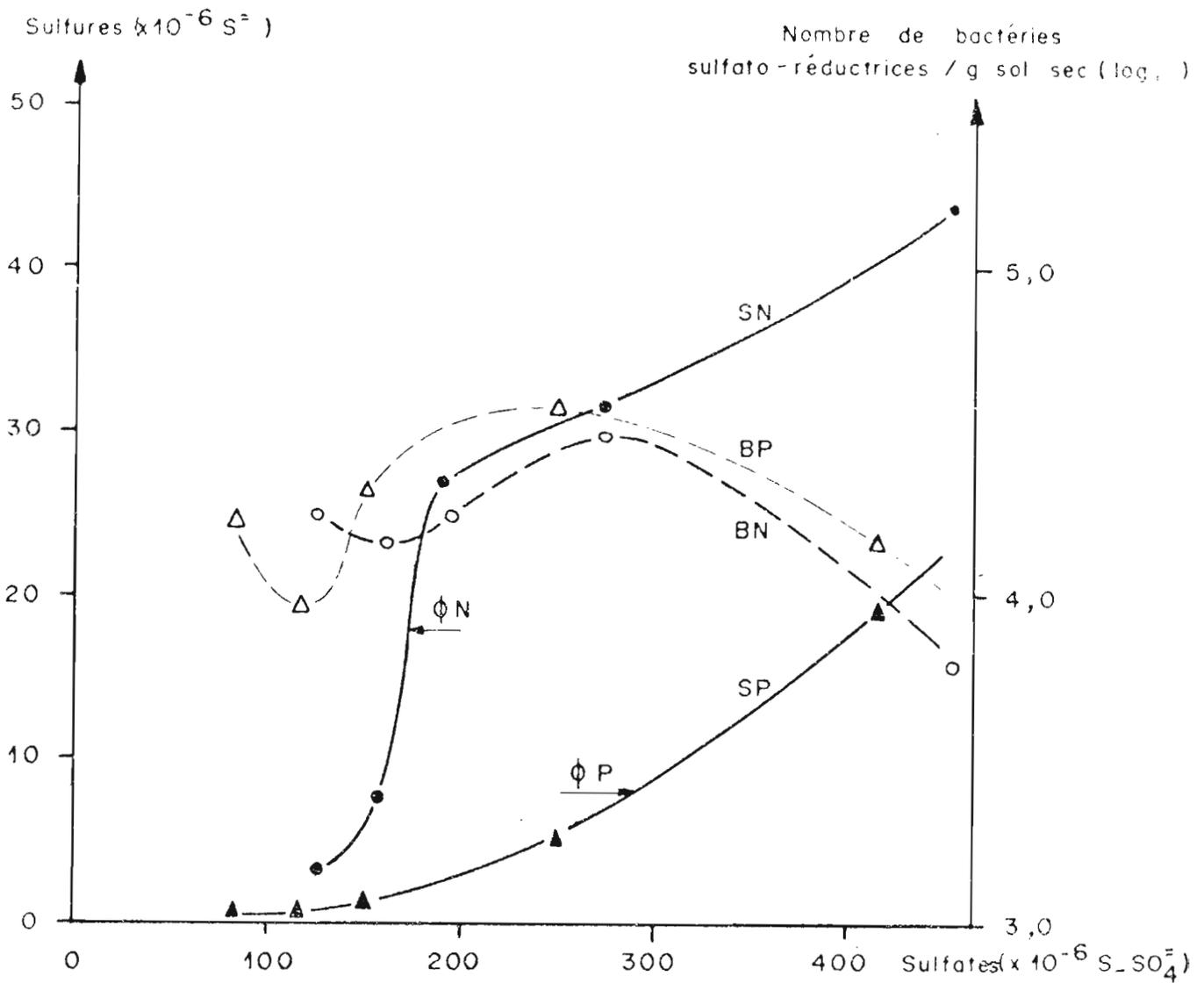


Figure 12 - INFLUENCE DE LA TENEUR EN SULFATES SUR LE NOMBRE DES BACTERIES SULFATO-REDUCTRICES ET LA TENEUR EN SULFURES DE DEUX SOLS SPERMOSPHERIQUES (SOL SALIN DE NAKTA LAVE ET SOL BRUN CALCAIRE DE PIXERECOURT ENGORGES)

- BN Nombre de bactéries sulfato-réductrices dans le sol spermosphérique de Nakta.
- BP Nombre de bactéries sulfato-réductrices dans le sol spermosphérique de Pixierécourt.
- SN Teneur en sulfures du sol spermosphérique de Nakta.
- SP Teneur en sulfures du sol spermosphérique de Pixierécourt.
- ϕN Seuil de sulfates dans le sol de Nakta ($170 \times 10^{-6} S-SO_4^2$).
- ϕP Seuil de sulfates dans le sol de Pixierécourt ($280 \times 10^{-6} S-SO_4^2$).

Les dosages ont été effectués au 14ème jour.

Les seuils de sulfates au-delà desquels la sulfato-réduction spermosphérique se manifeste avec une probabilité de 95 % ont été calculés par la méthode de DUNNET (1955) : pour le sol de Nakta (\emptyset N) il est de $170 \times 10^{-6} \text{S-SO}_4^-$ et pour le sol de Pixérécourt (\emptyset P) il est de $280 \times 10^{-6} \text{S-SO}_4^-$.

III. CONCLUSIONS

Extrapolés à l'hectare, en se fondant sur un poids de 3 000 t de sol à l'hectare, ces seuils sont respectivement de 510 kg/ha pour le sol alluvial salin de Nakta, de 840 kg/ha pour le sol brun calcaire de Pixérécourt.

III D. SULFATO-REDUCTION SPERMOSPHERIQUE DANS DIFFERENTS SOLS

Cette étude est analogue à celle, déjà décrite, concernant l'étude de la sulfato-réduction rhizosphérique dans cinq sols de même pH, mais pédologiquement différents. Ces sols sont comparés dans des conditions identiques : durée de la phase d'engorgement (10 jours), plante-test (maïs I.N.R.A. 420), profondeur du semis (6 cm) et température (28° C).

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Nous avons testé :

- (1) le sol alluvial salin du Mas du Sauvage (Camargue) : trois horizons 0-20 ; 20-40 et 40-60 cm.
- (2) le sol alluvial salin de la rizière du Mas du Sauvage : deux horizons : 0-20 et 20-40 cm.
- (3) le sol alluvial salin de Nakta, lavé (horizon 0-20 cm).
- (4) le sol brun calcaire de Pixérécourt (horizon 0-20 cm) .
- (5) le sol sableux hydromorphe de Bonnelles (horizon 0-20 cm).

Ainsi ont été différenciés 8 groupes de 3 colonnes de sols, où ont été semées, à une profondeur de 6 cm, des graines de maïs I.N.R.A. 420 prégermées. Les sols ont été engorgés immédiatement, et les prélèvements faite le 12ème jour.

Le jour du semis ont été mesurés la teneur en sulfates solubles, le pH et la densité apparente de chaque sol.

Au 10ème jour ont été mesurés les densités apparentes, les humidités et les pH des sols non spermosphériques, les teneurs en sulfures des sols spermosphériques et non spermosphériques et les bactéries sulfato-réductrices ont été dénombrées dans la spermosphère.

II. RESULTATS

La tableau 10 résume ces résultats et permet les remarques suivantes :

1) Le nombre de bactéries sulfato-réductrices, dans la spermosphère, est de l'ordre de :

- 10^2 dans les deux sols non salins
- 10^3 à 10^4 dans les deux sols alluviaux salins de Camargue
- 10^4 dans le sol salin lavé de Nakta.

2) Les teneurs en sulfures sont :

- inférieures à $5 \times 10^{-6} S^{=}$ dans les sols non salins, ou dans deux horizons profonds du sol alluvial salin de Camargue sous prairie.

- environ de $15 \times 10^{-6} S^{=}$ dans les horizons 0-20 cm du sol de Nakta lavé et du sol de Camargue sous prairie.

- très importantes dans les deux horizons du sol de rizière de Camargue : $55,7 \times 10^{-6} S^{=}$ en surface ; $23,2 \times 10^{-6} S^{=}$ en profondeur.

3) L'accumulation de sulfures dans les sols non spermosphériques est minime, mais non négligeable dans les sols de Camargue.

III. CONCLUSIONS

Ces conclusions sont sensiblement identiques à celles qu'avait permis l'étude de la sulfato-réduction rhizosphérique dans ces mêmes sols :

1) Les sols alluviaux salins sont également plus favorables à la manifestation d'une sulfato-réduction spermosphérique, que les sols non salins de même pH.

2) La richesse en sulfates solubles favorise les bactéries sulfato-réductrices et la production de sulfures dans la spermosphère de ces sols salins.

Tableau 10 - SULFATO-REDUCTION SPERMOSPHERIQUE DANS DEUX SOLS DE CAMARGUE

ORIGINE			DONNEES INITIALES		MESURES AU JOUR J + 10 (engorgement au jour J)						
Nature du sol	Station	Horizon	Sulfates en $10^{-6}S-SO_4$	PH	Humidité en %	densité apparen- te	Sulfures (en $10^{-6}S$) dans la spermos- phère	Sulfures (en $10^{-6}S$) hors de la spermosphère	Bactéries sulfato- réductrices par g de sol sec	pH	
salins	Alluvial salin	Mas du Sauvage	0-20cm	506	7,70	37,6	1,26	13,3	5,50	$3,4 \times 10^4$	8,01
			20-40cm	421	8,02	36,7	1,31	4,80	1,93	$3,1 \times 10^3$	7,95
		40-60cm	284	8,01	33,5	1,36	4,23	2,31	$1,3 \times 10^3$	7,92	
	Rizière du Mas du Sauvage	0-20cm	517	7,74	50,6	1,16	55,7	3,69	$2,6 \times 10^3$	6,90	
		20-40cm	395	7,79	54,5	1,12	23,2	2,33	$3,1 \times 10^3$	6,92	
	alluvial salin(lavé)	Nakta	0-20cm	124	7,98	40,8	1,40	14,8	0,52	$8,6 \times 10^4$	8,05
non salins	brun calcaire	Pixérécourt	0-20cm	83	7,98	46,2	1,40	3,40	0,57	$2,1 \times 10^2$	7,23
	sableux hydromorphe	Bonnelles	0-20cm	227	7,88	38,1	1,40	0,34	0,15	$8,1 \times 10^2$	7,03

Chaque chiffre est la moyenne de 3 mesures.

3) Le sol alluvial salin de Camargue, sous prairie (station du Mas du Sauvage) est, dans son horizon superficiel (0-20 cm) presque aussi favorable au processus de sulfato-réduction spermosphérique que ne l'est le sol alluvial salin de Nakta, du fait probablement de sa richesse en sulfates solubles, de sa granulométrie et de sa teneur en matière organique.

4) Le sol alluvial salin de Camargue de la Rizière du Mas du Sauvage se prête à une intense sulfato-réduction spermosphérique du fait de la durée des périodes d'engorgement.

III E. CONCLUSIONS CONCERNANT LA SULFATO-REDUCTION SPERMOSPHERIQUE

1) La spermosphère du maïs est, comme la rhizosphère, un microhabitat propice à la prolifération des bactéries sulfato-réductrices. Elle peut être le siège d'une sulfato-réduction (désignée sous le nom de sulfato-réduction spermosphérique) dans certains cas suffisamment importante pour entraîner la mort des semences.

2) La sulfato-réduction spermosphérique se manifeste lorsque dans le sol sont réunies les deux conditions suivantes : (1) anaérobiose (2) teneur en sulfates solubles suffisamment élevée.

L'anaérobiose est consécutive à l'arrêt de la diffusion de l'oxygène dans la spermosphère. Cette condition est remplie quand le sol est engorgé (soit par des pluies excessives, soit par une irrigation mal conduite) et quand, sa structure étant défectueuse, la densité apparente atteint un seuil critique (environ 1,50 dans le sol alluvial salin de Nakta, moins élevé dans le sol alluvial salin de Camargue). Bien entendu, l'oxygène parvient d'autant plus difficilement dans la spermosphère que la graine est semée plus profondément.

La deuxième condition est réalisée dans les sols dont la teneur en sulfates est supérieure à $200-300 \times 10^{-6} \text{ S-SO}_4$. C'est notamment le cas (1) des sols gypseux qui sont très fréquents en zone aride et semi-aride; le sol alluvial salin de Nakta en est un exemple, (2) des sols alluviaux salins proches de la mer, comme le sont ceux de Camargue, (3) de certains sols de rizières renfermant des sulfates.

Chapitre IV

ETUDE EXPERIMENTALE D'UNE SULFATO-REDUCTION DIFFUSE

Dans certains sols cultivés, en particulier dans les horizons Ap, de nombreux auteurs, dont TAKAI et KAMURA (1966), HENIN et al. (1969), BLOOMFIELD (1969) signalent la présence de sulfures au contact de débris organiques : résidus de récoltes ou fumures organiques par exemple. Nous avons été avisés récemment (BERNARD, al. 1969) que le maïs cultivé dans un sol sableux hydromorphe de la région parisienne (station de Bonnelles), enrichi en compost urbain présente des signes de carence offrant quelques similitudes avec le dépérissement causé par la sulfato-réduction rhizosphérique.

Il nous a semblé utile de rapporter ici les résultats de l'étude expérimentale d'une telle forme de sulfato-réduction.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Suivant la technique de cultures sur sol en colonnes déjà décrite, nous avons semé des graines de maïs I.N.R.A. 420 dans le sol de Bonnelles^{*} auquel ont été ajoutées des doses connues (0, 1, 2, 5, 10 et 20 %) de compost urbain.^{*} L'homogénéisation du mélange sol-compost a été faite très soigneusement.

Deux lots ont été différenciés :

- 1) Lot A : Sol engorgé après une semaine de croissance, pour l'étude d'une éventuelle sulfato-réduction rhizosphérique.
- 2) Lot B : Sol engorgé immédiatement après le semis, pour l'étude d'une éventuelle sulfato-réduction spermosphérique.

La température a été maintenue à 28°C et les plantes éclairées par 3 000 lx.

* Décrit par ailleurs

Tableau 11 - INFLUENCE DE L'APPORT DE QUANTITES CROISSANTES DE COMPOST URBAIN
A UN SOL SABLEUX HYDROMORPHE
SUR LES SULFATO-REDUCTIONS RHIZOSPHERIQUE ET SPERMOSPHERIQUE

DONNEES INITIALES		RHIZOSPHERE Engorgement au jour J + 7 Mesures au jour J + 15								SPERMOSPHERE Engorgement au jour J Mesures au jour J + 10							
Pourcentage de compost dans le mélange compost-sol (en poids)	pH	Humidité en %	Densité apparente	Compost en T/ha (1)	Compost en T/ha (2)	Sulfures (en 10^{-6} S ⁼) dans la rhizosphère	Sulfures (en 10^{-6} S ⁼) hors de la rhizosphère	Bactéries sulfato réductrices/g sol scc (rhizosphère)	pH	Humidité en %	Densité apparente	Compost en T/ha (1)	Compost en T/ha (2)	Sulfures (en 10^{-6} S ⁼) dans la spermosphère	Sulfures (en 10^{-6} S ⁼) hors de la spermosphère	Bactéries sulfato réductrices/g sol scc (spermosphère)	pH
Témoin	7,88	40,7	1,36	0	0	0,16	0,33	$7,7 \times 10^3$	7,53	38,1	1,40	0	0	0,34	0,15	$8,1 \times 10^2$	7,03
1	7,87	40,4	1,40	28	21	0,31	0,16	$6,5 \times 10^2$	7,71	38,5	1,47	29,4	22,1	0,62	0,83	$1,2 \times 10^2$	6,99
2	7,82	45,7	1,40	56	42	0,58	0,41	$9,3 \times 10^3$	7,42	38,3	1,53	61,2	45,9	1,66	1,54	$1,8 \times 10^2$	7,39
5	7,81	32,1	1,44	144	108	13,3	6,92	$2,4 \times 10^6$	7,49	41,5	1,39	139	104,3	6,9	6,2	$4,1 \times 10^3$	7,31
10	7,72	41,2	1,43	280	210	20,4	13,9	$1,7 \times 10^7$	7,37	44,7	1,24	248	186	57,3	24,0	$1,8 \times 10^4$	7,34
20	7,69	43,7	1,28	512	384	51,0	39,1	$9,3 \times 10^6$	7,56	33,6	1,19	476	357	65,5	48,6	$4,9 \times 10^5$	7,38

(1) Pour un labour profond de 20 cm.

(2) Pour un labour profond de 15 cm.

Chaque chiffre correspond à la moyenne de 3 mesures.

II. RESULTATS

Le tableau 11 résume nos mesures, au 15ème jour pour la série A (rhizosphère) au 10ème jour pour la série B (spermosphère), moyennes de 3 répétitions : densité apparente, humidité, teneurs en compost à l'hectare, sulfures produits dans la rhizosphère ou la spermosphère et dans le voisinage immédiat des particules ou débris de compost, numérations de bactéries sulfato-réductrices dans la rhizosphère et la spermosphère, pH.

Nous constatons les faits suivants :

- 1) Le nombre de bactéries sulfato-réductrices et l'accumulation de sulfures dans la rhizosphère et dans la spermosphère augmentent avec la teneur du sol en compost urbain.
- 2) La production de sulfures est plus abondante dans la rhizosphère et la spermosphère, mais elle n'est plus strictement localisée à ces deux microhabitats. L'emploi de colonnes transparentes permet de vérifier que de très nombreuses taches noires de sulfures sont localisées autour des débris de compost, source de substrats énergétiques. Nous appellerons cette nouvelle forme de sulfato-réduction sous le nom de sulfato-réduction diffuse.
- 3) L'emploi de la méthode de calcul des seuils de DUNNET (1955) précitée permet le calcul des teneurs en compost à partir desquelles le sol devient sensible, dans 95 % des cas, à l'une ou l'autre des trois formes de sulfato-réductions. La mesure de la densité apparente (1,40 en moyenne) et de la hauteur de sol dans chaque colonne (15 cm environ) nous autorise à exprimer ces seuils en tonnes de compost à l'hectare dans le cas d'un labour de 15 cm de profondeur, en supposant une répartition régulière dans cet horizon Ap. Nous donnons aussi les seuils pour un labour de 20 cm de profondeur, dans le tableau suivant :

Additions de compost urbain, en tonnes par hectare, au sol de Bonnelles, d'une densité apparente moyenne de 1,40, ensemencé en maïs I.N.R.A. 420, entraînant, dans 95 % des cas, les sulfato-réductions :

	Pour un labour profond de	
	15 cm	20 cm
Rhizosphérique	60	80
Spermosphérique.....	132	175
Diffuse	157	210

III. CONCLUSION

Dans les sols hydromorphes, enrichis par apport de compost urbain et engorgés pendant plusieurs jours par des pluies excessives par exemple, la production biologique de sulfures dans la rhizosphère ou la spermosphère, ou encore autour des débris de compost, augmente avec les teneurs en compost.

L'emploi de 60 tonnes de compost à l'hectare, addition courante dans ces sols (BERNARD & al 1969) entraîne un risque certain de sulfato-réduction rhizosphérique. L'existence d'amas de compost en décomposition, d'autant plus fréquents que le labour est moins profond et que la dispersion des particules de compost est réduite, augmente les risques de sulfato-réduction, diffuse à l'origine, qui pourra s'étendre ultérieurement à la rhizosphère et à la spermosphère.

Chapitre V

ETUDE EXPERIMENTALE DE L'EXSORPTION DES GAZ (O_2 et CO_2)
ET DE L'EVOLUTION DU pH EN CULTURES HYDROPONIQUES

Dans les expériences faites sur sols, en colonnes, la baisse de la teneur en oxygène au niveau de la rhizosphère n'a pu être chiffrée, et le rôle de la plante sur l'installation de conditions anaérobies dans ce microhabitat n'a pu être précisé.

Dans la présente série d'expériences, le micro-analyseur RADIOMETER sera utilisé pour tenter d'élucider ces deux problèmes, dans le cas de modèles simplifiés : milieu nutritif + plante + microorganismes (milieux de cultures hydroponiques.).

V A. INFLUENCE DE LA RHIZOSPHERE DU MAIS

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Dans cette expérience ont été utilisés les tubes décrits antérieurement (fig. I). Chacun d'eux a reçu 125 à 135 ml de milieu BORNER-RODEMACHER stérile, de pH 6,0 : ce volume varie légèrement suivant les tubes mais est tel que le récipient inférieur du tube soit rempli jusqu'à l'étranglement.

Dans 40 tubes ont été introduites, stérilement, à raison d'une graine par tube, des graines de maïs I.N.R.A. 420, prégermées sur gélose ; 20 tubes sont restés vides de toute culture : ils servent de témoins. Au bout de 7 jours, les plantes ont atteint une hauteur de 6 à 12 cm ; deux lots ont été distingués : la moitié des tubes a été inoculée par injection à la seringue de 5 ml de dilution-suspension 10^{-1} de sol de Nakta. Nous avons ainsi défini trois traitements :

Traitement 1) milieu stérile, sans plante ;

Traitement 2) milieu stérile, avec plante ;

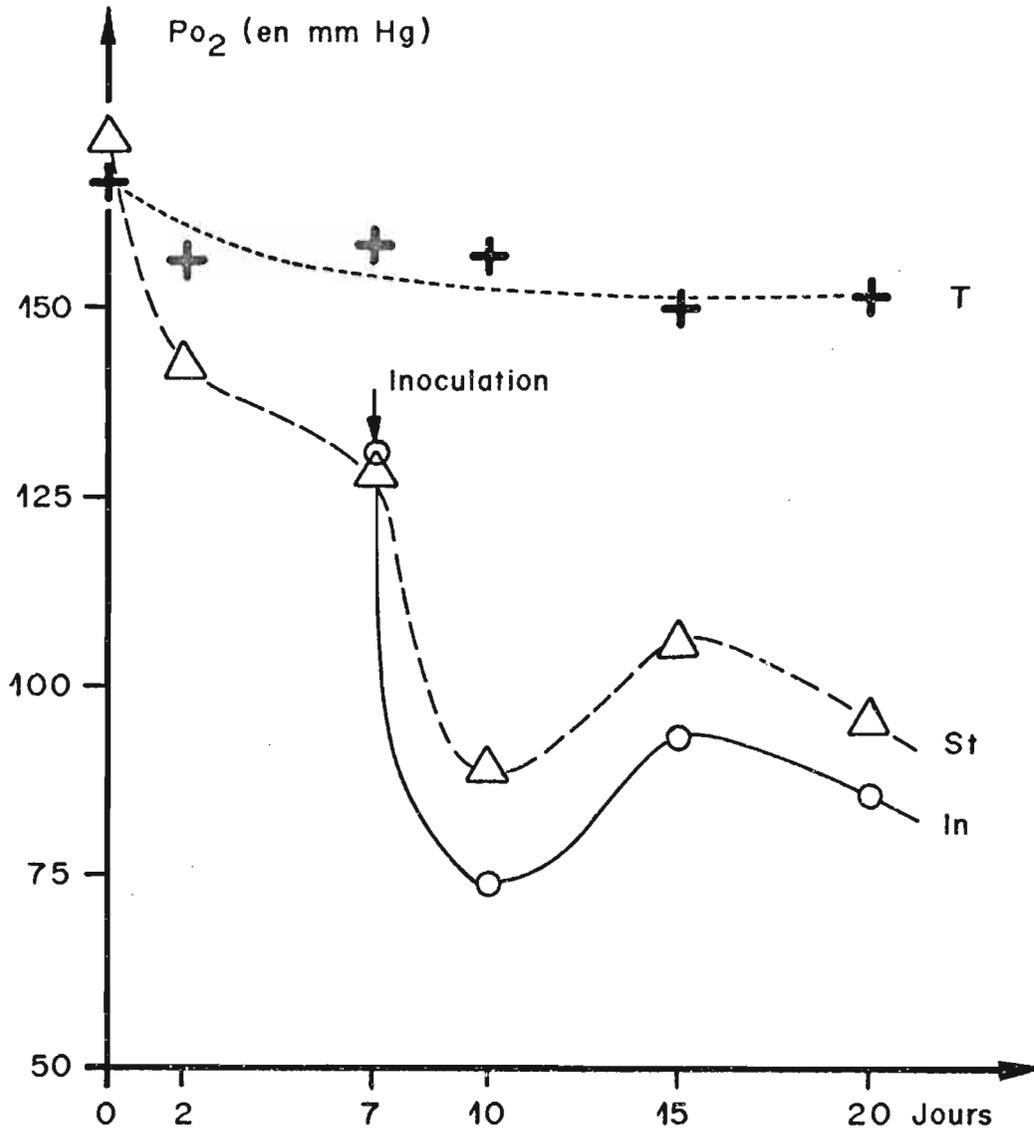
Traitement 3) milieu non stérile, avec plante.

Les mesures de pO_2 , pCO_2 et pH ont été faites au micro-analyseur RADIOMETER. Deux ponctions de 10 ml, à deux niveaux différents ont été faites dans chaque tube. Nous ne retenons que la moyenne de ces deux mesures. Trois tubes de chaque série ont été utilisés à chaque fois.

Pendant toute la durée de l'expérience, les plantes ont été éclairées par une lumière artificielle de 3 000 lx, et maintenues à la température de 28°C.

II. RESULTATS

Ces résultats sont résumés au tableau 12 . La figure 13 illustre plus particulièrement l'évolution de la seule pression partielle en oxygène dissous (pO_2).



T Milieu témoin, sans plante et stérile

St Rhizosphère stérile

In Rhizosphère inoculée au jour J + 7 par la microflore totale du sol de Nakta.

Figure 13 - INFLUENCE DE LA RHIZOSPHERE STERILE ET NON STERILE DU MAIS SUR LA PRESSION PARTIELLE EN OXYGENE DISSOUS DANS UN MILIEU DE CULTURE HYDROPONIQUE

Tableau 12 - INFLUENCE DE LA RHIZOSPHERE STERILE ET NON STERILE DU MAÏS SUR LES PRESSIONS PARTIELLES EN O₂ et CO₂ DISSOUS, ET SUR LE pH D'UN MILIEU DE CULTURE HYDROPONIQUE.

Traitement	(1) Témoïn sans plante			(2) Milieu stérile			(3) Inoculum : Dilution 10 ⁻¹ de sol de Nakta au jour J + 7		
	Mesure Jour	pO ₂ mm Hg	pCO ₂ mm Hg	pH mm Hg	pO ₂ mm Hg	pCO ₂ mm Hg	pH	pO ₂ mm Hg	pCO ₂ mm Hg
0	167,5	6,6	5,85	174,3	5,0	5,97	-	-	-
2ème	155,9	2,7	5,97	142,8	9,1	5,76	-	-	-
7ème	158,8	3,4	5,92	128,9	17,3	5,70	130,0	25,3	6,06
10ème	156,4	7,0	5,93	89,0	24,0	5,88	74,6	21,8	6,69
15ème	149,9	5,5	6,02	105,7	23,3	6,54	93,9	24,9	6,79
20ème	151,3	6,0	6,12	95,5	18,8	6,84	90,8	18,3	6,98

Chaque chiffre correspond à la moyenne de 3 mesures.

Ces résultats permettent les commentaires suivants :

- 1°) La teneur en oxygène du milieu de culture, qui se traduit par la pression partielle en oxygène (pO_2) mesurée en mm de mercure, est différente suivant le traitement :

-Traitement 1) (milieu stérile sans plante) : pO_2 se stabilise lentement à 150 mm.

-Traitement 2) (milieu stérile avec plante) : pO_2 diminue assez rapidement pendant 10 jours, atteignant 90 mm, puis remonte légèrement ensuite.

-Traitement 3) (milieu non stérile, avec plante) : pO_2 diminue davantage que dans le cas du traitement 2). Sa valeur minimale est de 75 mm, 3 jours après l'inoculation. La différence entre les traitements 2) et 3) est sensiblement constante ensuite, et représente 10 mm environ.

Remarques :

(1) La baisse de pO_2 dans les témoins (traitement 1)) est due à une lente désaturation en oxygène. Rappelons que l'eau distillée saturée, à la pression atmosphérique de 760 mm, a une pression partielle en O_2 (pO_2) de 153 mm.

(2) La légère remontée de pO_2 , à partir du 10ème jour, dans les tubes des traitements 2) et 3) est vraisemblablement liée à la baisse du niveau du liquide, au-dessous de l'étranglement du tube; la surface de contact milieu-atmosphère augmente, le milieu se resature lentement en oxygène.

- 2°) La teneur en gaz carbonique du milieu, chiffrée par la pression partielle pCO_2 , en mm de mercure, est stable dans les témoins (traitement 1)), augmente régulièrement pendant la première semaine et diminue lentement ensuite (traitements 2) et 3)).

Entre les 7ème et 20ème jours, la différence entre les traitements 2) et 3) n'est pas significative.

Comme précédemment, nous pouvons expliquer la baisse de $p\text{CO}_2$, après 10 jours environ, par la baisse du niveau du milieu, qui perd du CO_2 dissous à la surface de contact milieu-atmosphère.

- 3°) Le pH est stable dans les tubes témoins (traitement 1)). Il baisse lentement, jusqu'au 7ème jour, puis augmente relativement vite du 10ème au 20ème jour (traitement 2)). L'inoculation (traitement 3)) provoque une remontée du pH de 0,30 unité environ. Ces tubes ont toujours un pH plus élevé que les tubes stériles.

Remarque :

Dans cette expérience, aucun tube inoculé par une dilution-suspension de sol de Nakta n'a présenté de symptômes de sulfato-réduction rhizosphérique.

III. CONCLUSIONS

1°) Dans le milieu de culture hydroponique BÖRNER -RODEMACHER, stérile, l'effet rhizosphérique du maïs peut se traduire (1) par l'épuisement graduel, mais assez rapide de l'oxygène dissous : en 10 jours la teneur en oxygène du milieu représente les 3/5 environ de la teneur initiale, (2) par la production de gaz carbonique en 10 jours, la teneur représente quatre fois environ la teneur initiale ; (3) par une légère baisse du pH, pendant une semaine environ, suivie d'une rapide remontée, de telle sorte qu'au 20ème jour, le pH est proche de 7.

2°) Dans ce même milieu, mais inoculé, au bout d'une semaine de croissance, par l'ensemble des microorganismes telluriques du sol de Nakta, l'épuisement de l'oxygène dissous est légèrement (10 % environ) plus important, la production de gaz carbonique analogue, la remontée du pH immédiate et plus rapide.

V B. INFLUENCE DE L'INTENSITE LUMINEUSE

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Comme dans le cas précédent, nous avons semé du maïs I.N.R.A. 420 dans 64 tubes contenant 130 ml environ de milieu BORNER-RODEMACHER stérile.

Au bout de 7 jours, outre les témoins (stériles et sans plantes), on a différencié quatre traitements :

- Traitement 1) milieu stérile, avec plante ; éclairage 3 000 lx,
- Traitement 2) milieu inoculé, avec plante ; éclairage 3 000 lx,
- Traitement 3) milieu stérile, avec plante ; éclairage 30 000 lx,
- Traitement 4) milieu inoculé, avec plante ; éclairage 30 000 lx ,

L'inoculum (traitements 3 et 4) a été fait par injection à la seringue de 5 ml de dilution-suspension 10^{-1} de sol de Nakta. La température a été de 28°C pendant toute l'expérience.

II. RESULTATS

Les résultats d'ensemble (évolution des pO_2 , pCO_2 et pH , et hauteur de tige) sont résumés au tableau 13.

Nous avons constaté, en outre, que dans 3 tubes sur 16, du traitement 2 (3 000 lx, milieu réinoculé) et dans 6 tubes sur 16, du traitement 4 (30 000 lx, milieu réinoculé) s'est produite une sulfato-réduction rhizosphérique.

Le tableau 13 permet les commentaires suivants :

-1°) Les résultats de l'expérience précédente sont confirmés :

- (1) stabilité des témoins (pO_2 , pCO_2 , pH variant peu).
- (2) baisse de pO_2 plus sensible dans les tubes inoculés (traitements 2 et 4) que dans les tubes stériles (traitements 1 et 3).
- (3) teneurs en CO_2 maximales au 7ème jour.
- (4) baisse de pH jusqu'au 7ème jour, puis remontée plus sensible dans les tubes inoculés.

Tableau 13 - INFLUENCE DE L'INTENSITE LUMINEUSE SUR L'EVOLUTION DES TENEURS EN O₂ et CO₂ DISSOUS ET CELLE DU pH DANS UN MILIEU DE CULTURE HYDROAPONIQUE DE MAÏS I.N.R.A. 420

Mesure		pO ₂ (en mm Hg)					pCO ₂ (en mm Hg)					pH					Hauteur de tige (en cm)			
		3 000 lx		30 000 lx			3 000 lx		30 000 lx			3 000 lx		30 000 lx			3 000 lx		30 000 lx	
Lumière		T	S ¹	I ²	S ³	I ⁴	T	S ¹	I ²	S ³	I ⁴	T	S ¹	I ²	S ³	I ⁴	S ¹	I ¹	S ³	I ⁴
Traitement (*)		T	S ¹	I ²	S ³	I ⁴	T	S ¹	I ²	S ³	I ⁴	T	S ¹	I ²	S ³	I ⁴	S ¹	I ¹	S ³	I ⁴
JOUR	2ème	176,1	163,4	-	163,4	-	6,3	10,9	-	10,9	-	5,98	5,89	-	5,89	-	3	-	3	-
	7ème	158,9	114,7	-	114,7	-	5,4	23,3	-	23,3	-	5,97	5,69	-	5,69	-	6	-	6	-
	15ème	154,5	113,5	104,7	114,8	106,1	2,0	21,1	19,7	19,2	26,3	6,00	6,44	6,68	6,67	6,66	30	31	32	36
	20ème	151,4	105,9	94,6	95,6	83,9	2,3	16,4	18,9	15,4	24,8	6,10	6,67	6,85	6,83	6,92	39	38	38	40

(*) T : témoin stérile
 S : tube stérile avec plante
 I : tube non stérile, avec plante.

Chaque chiffre est la moyenne de 3 mesures (2e et 7e jour)
 ou de 5 mesures (15e et 20e jour).

-2°) La comparaison des résultats au 20ème jour permet de considérer que les effets de l'intensité lumineuse élevée sont :

(1) sensibles sur la baisse de pO_2

- dans les tubes stériles (30 000 lx 96 mm ; 3 000 lx 106 mm).
- dans les tubes inoculés (30 000 lx 84 mm ; 3 000 lx 95 mm).

(2) sensibles sur la remontée de pH

- dans les tubes stériles (30 000 lx 6,83 ; 3 000 lx 6,67).
- dans les tubes inoculés (30 000 lx 6,92 ; 3 000 lx 6,85).

(3) moins marqués sur pCO_2

- nuls dans les tubes stériles (30 000 lx 15,4 ; 3 000 lx 16,4).
- ~~nuls~~ dans les tubes inoculés (30 000 lx 24,8 ; 3 000 lx 18,9).

III. CONCLUSIONS

Dans un milieu de culture hydroponique, les effets de la rizosphère du maïs : baisse de la teneur en oxygène, enrichissement du milieu en gaz carbonique et élévation du pH, sont d'autant plus marqués que l'intensité lumineuse à laquelle la plante est soumise est élevée.

Cette méthode d'étude permet de confirmer, ce qu'a montré par ailleurs une étude sur sol, que la sulfato-réduction est plus fréquente sous une lumière forte (30 000 lx) qu'elle ne l'est sous une lumière faible (3 000 lx).

V C. INFLUENCE DE L'EVOLUTION DES CARACTERES PHYSIQUES ET BIOLOGIQUES
D'UN MILIEU DE CULTURE HYDROPONIQUE SUR L'APPARITION
DE LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Dans l'expérience précédente, nous avons constaté que parmi les tubes inoculés, 3 sur 16 de ceux éclairés par 3 000 lx et 6 sur 16 de ceux éclairés par 30 000 lx, présentaient des caractères de sulfato-réduction rhizosphérique.

Aussi, avons-nous comparé les évolutions de pO_2 , pCO_2 et du pH, dénombré les bactéries sulfato-réductrices et dosé les sulfures dans les tubes éclairés par 30 000 lx, quand il y a, et qu'il n'y a pas, sulfato-réduction : tableau 14..

En plus, au 21^{ème} jour, nous avons comparé le nombre de bactéries aérobies (sur milieu WAKSMAN (1922), en aérobiose), de bactéries anaérobies (sur ce même milieu, en anaérobiose) et les bactéries sulfato-réductrices, dans les cas suivants (tableau 15).

- 3 000 lx ; sulfato-réduction nulle
- 3 000 lx ; sulfato-réduction positive
- 30 000 lx ; sulfato-réduction nulle
- 30 000 lx ; sulfato-réduction positive.

II. RESULTATS

-1°) La sulfato-réduction apparaît, dans le bas de quelques tubes seulement, au 12^{ème} jour environ, soit 5 jours après l'inoculation par les germes du sol de Nakta. Les sulfures produits s'accumulent assez lentement dans le milieu : au 21^{ème} jour, la teneur atteint $7,7 \times 10^{-6}$ S seulement.

-2°) Au point de vue physico-chimique, ces tubes diffèrent de ceux où la sulfato-réduction ne survient pas;

(1) par une baisse très nette de pO_2 , surtout en bas de tube (au 15^{ème} jour 72 mm contre 100 mm dans les témoins, au 21^{ème} jour 65 mm contre 77 mm dans les témoins).

Tableau 14 - EVOLUTION DES CARACTERES PHYSIQUES ET BIOLOGIQUES DANS UN MEME MILIEU DE CULTURE HYDROPONIQUE, QUAND IL S'Y PRODUIT, OU PAS, UNE SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE.

Age de la plante	Prélèvements H : haut } du B : bas } tube M : moyenne (H + B)/2	PC ₂ (en mm Hg)		PCO ₂ (en mm Hg)		pH		longueur de tige (en cm)		Nombre de bactéries sulfato-réductrices par ml de milieu		Teneur en sulfures (en 10 ⁻⁶ g=)	
		N *	P *	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P
7	H	114,3	-	24,1	-	5,68	-	6	-	25	-	0,05	-
	B	115,2	-	22,5	-	5,69	-						
	M	114,7	-	23,3	-	5,69	-						
15	H	106,3	91,7	26,8	26,3	6,68	6,84	30	11	3,2 × 10 ⁵	2,05 × 10 ⁶	0,05	1,88
	B	105,9	72,4	25,8	20,5	6,67	6,82						
	M	106,1	82,1	26,3	23,4	6,68	6,83						
21	H	91,0	63,6	20,8	26,8	6,84	6,95	38	12	6,0 × 10 ⁴	7,5 × 10 ⁴	0,07	7,69
	B	76,8	64,6	22,2	26,4	6,85	6,95						
	M	83,9	64,1	21,5	26,6	6,85	6,95						

* { N tube où il n'y a pas eu sulfato-réduction
P tube où la sulfato-réduction est intervenue.

Chaque chiffre correspond à la moyenne de 6 mesures différentes.

Tableau 15 - RELATION ENTRE LE NOMBRE DE GERMES DE 3 MICROPOPULATIONS MICROBIENNES ET LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE DANS UN MILIEU HYDROPONIQUE.

Sulfato-réduction	Nombre de germes par ml de milieu					
	Bactéries aérobies		Bactéries anaérobies, autres que sulfato- réductrices		Bactéries sulfato- réductrices	
	3 000 lx	30 000 lx	3 000 lx	30 000 lx	3 000 lx	30 000 lx
Nullc	$1,1 \times 10^7$	$3,4 \times 10^7$	$6,3 \times 10^5$	$5,2 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$
Positive	$1,5 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	$5,7 \times 10^6$	$4,7 \times 10^6$	$8,0 \times 10^3$	$7,5 \times 10^4$

(2) un pH plus élevé (de 0,15 unité environ)

(3) par une remontée de pCO_2 (26 mm contre 21 mm, dans les témoins au 21ème jour).

-3°) Au point de vue bactériologique, 3 tubes différent de ceux où la sulfato-réduction ne survient pas. :

(1) par une micropopulation anaérobie plus nombreuse, sous 3 000 lx comme sous 30 000 lx : voir tableau 15.

(2) par une micropopulation sulfato-réductrice plus nombreuse initialement (2×10^6 dans les tubes où survient la sulfato-réduction, 3×10^5 dans les autres).

Remarques :

(1) le nombre de bactéries sulfato-réductrices dans l'inoculum est très faible (25 germes par tube) : ceci peut expliquer que tous les tubes ne présentent pas de sulfato-réduction.

(2) En fin d'expérience, la teneur en oxygène reste assez élevée, même dans les tubes où s'accumulent des sulfures, et le nombre de bactéries aérobies est important, de l'ordre de 10^7 dans tous les tubes.

III. CONCLUSIONS

L'accumulation de sulfures, dans un milieu de culture hydroponique inoculé par une dilution-suspension du sol de Nakta se fait parallèlement à la multiplication du nombre de bactéries sulfato-réductrices et à une baisse rapide de la teneur en oxygène dissous.

Ce résultat confirme notre étude sur sol. Mais cette baisse de la teneur en oxygène qui se traduit par la baisse de la pression partielle en oxygène dissous, qui passe de 115 mm à 72 mm en une semaine, puis à 65 mm une semaine plus tard, est rapide, mais incomplète : le milieu, dans son ensemble, contient suffisamment d'oxygène pour permettre la présence de très nombreuses bactéries aérobies.

V D. EFFETS RHIZOSPHERE COMPARES DU MAIS ET DU RIZ,
EN MILIEU HYDROPONIQUE STERILE.

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Nous avons comparé le maïs I.N.R.A. 420 et le riz I.R. 8, cultivés dans les mêmes conditions d'éclairément (3 000 lx) et de température (23°C) sur trois milieux de culture hydroponique.

- Milieu 1 BORNER-RODEMACHER, pH initial 6,50 ;
- Milieu 2 BORNER-RODEMACHER, pH initial 4,50 ;
- Milieu 3 JACQUINOT, pH initial 6,00.

Chaque tube a reçu soit une seule graine de maïs, soit cinq graines de riz.

II. RESULTATS

Le tableau 16 exprime la comparaison des évolutions des pressions partielles en oxygène et gaz carbonique dissous, et celle des pH. La figure 14 résume nos résultats concernant les variations de pO_2 .

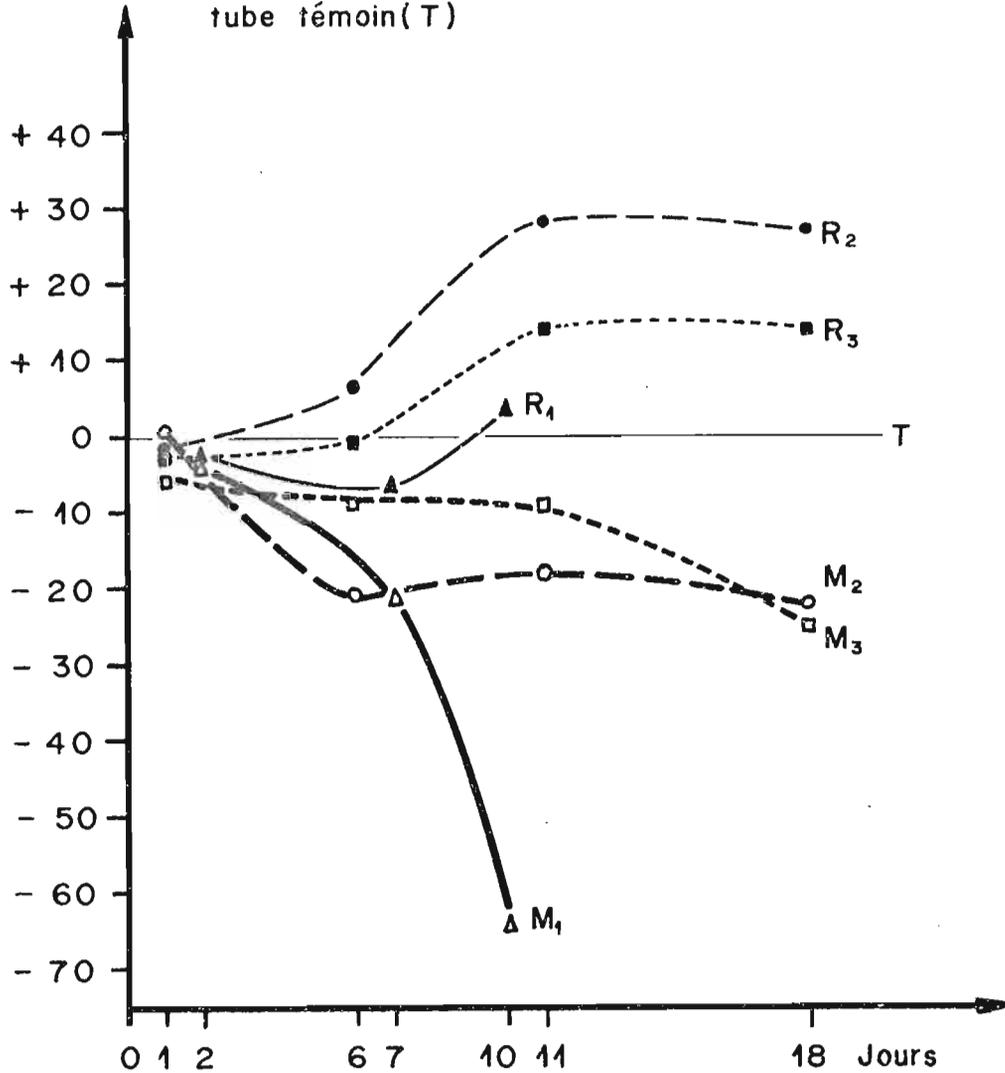
-1°) Les effets rhizosphère du maïs diffèrent de ceux du riz: quelque soit le milieu nutritif, la pression partielle en oxygène diminue dans les tubes de maïs, augmente dans les tubes de riz. Ces effets sont d'autant plus marqués que le milieu convient bien à la plante : milieux BORNER-RODEMACHER, pH 6,50 pour le maïs, et pH 4,50 pour le riz.

-2°) L'accumulation de CO_2 dans le milieu semble plus importante dans le cas du maïs, mais il est difficile de comparer la production de CO_2 par les racines d'un seul plant de maïs et ^{par} celles de cinq plants de riz, beaucoup moins développés au même âge.

-3°) L'évolution du pH est fonction du milieu de culture : aucune règle générale ne peut être avancée.

$PO_2 - PO_{2T}$

Différence entre tube avec plante et
tube témoin (T)



- M₁** Maïs sur milieu Börner pH 6,50
R₁ Riz sur milieu Börner pH 6,50
M₂ Maïs sur milieu Börner pH 4,50
R₂ Riz sur milieu Börner pH 4,50
M₃ Maïs sur milieu Jacquinet pH 6,00
R₃ Riz sur milieu Jacquinet pH 6,00

Figure 14 - COMPARAISON ENTRE LES PRESSIONS PARTIELLES EN O_2 DISSOUS DANS DES CULTURES HYDROPONIQUE AXENIQUES DE MAÏS (I.N.R.A. 420) ET DE RIZ (I.R.8)

Tableau 16 - COMPARAISON ENTRE LES EVOLUTIONS DES PRESSIONS PARTIELLES EN O₂ et CO₂ DISSOUS ET DU pH DANS DES CULTURES HYDROPONIQUES AXENIQUES DE MAIS (I.N.R.A. 420) ET² DE RIZ (I.R. 8).

MILIEU	Jour	Pression partielle en O ₂ :pO ₂ (mmHg)				Pression partielle en CO ₂ :pCO ₂ (mmHg)				pH			
		MAIS		RIZ		MAIS		RIZ		MAIS		RIZ	
		pO _{2M}	pO _{2M} -pO _{2T} *	pO _{2R}	pO _{2R} -pO _{2T}	pCO _{2M}	pCO _{2M} -pCO _{2T} *	pCO _{2R}	pCO _{2R} -pCO _{2T}	pH _M	pH _M -pH _T *	pH _R	pH _R -pH _T
BÖRNER-RODEMÄCHER pH 6,50	2	139,3	- 4,0	139,4	- 3,9	4,3	+ 3,6	0,6	- 0,1	5,76	- 0,25	6,07	+ 0,06
	7	131,1	- 20,6	145,1	- 6,6	13,4	+ 12,1	5,1	+ 3,8	5,53	- 0,36	6,16	+ 0,27
	10	89,3	- 64,6	158,1	+ 4,2	28,6	+ 23,7	6,5	+ 1,6	5,53	- 0,39	6,62	+ 0,70
BÖRNER-RODEMÄCHER pH 4,50	1	161,8	+ 0,3	160,2	- 1,3	2,3	+ 0,1	2,5	+ 0,3	4,04	- 0,46	4,26	- 0,24
	6	141,0	- 20,7	167,0	+ 5,3	18,7	+ 15,4	6,1	+ 2,8	5,11	+ 0,61	5,01	+ 0,51
	11	135,0	- 17,2	181,1	+ 28,9	31,4	+ 25,0	15,1	+ 8,7	5,45	+ 0,89	5,53	+ 0,99
	18	128,5	- 22,0	178,2	+ 27,7	35,1	+ 30,6	18,1	+ 13,6	5,89	+ 1,41	6,32	+ 1,84
JACQUINOT pH 6,00	1	153,8	- 5,9	157,3	- 2,6	2,7	- 0,1	2,6	- 0,2	5,70	- 0,03	5,75	+ 0,02
	6	145,4	- 9,2	154,0	- 0,6	16,3	+ 13,0	7,4	+ 4,1	5,26	- 0,63	5,86	- 0,03
	11	151,3	- 9,1	174,4	+ 14,0	27,1	+ 20,9	15,3	+ 9,1	4,26	- 1,75	5,75	- 0,26
	16	131,7	- 24,9	170,0	+ 13,4	27,4	+ 21,1	20,6	+ 14,3	4,96	- 1,12	6,00	- 0,08

* pO_{2T}, pCO_{2T} et pH_T : mesures dans le milieu stérile et sans plante.

Chaque chiffre correspond à la moyenne de 6 mesures.

III. CONCLUSIONS

L'étude, en milieux de cultures hydroponiques, stériles de l'exsorption d'oxygène, au niveau de la rhizosphère a mis en évidence l'existence de deux types de plantes : certaines comme le riz libèrent de l'oxygène d'autres comme le maïs en consomment. Cette différence fondamentale peut expliquer que le riz soit moins sensible que le maïs aux effets de la sulfato-réduction rhizosphérique.

°
° ° °

VE. CONCLUSIONS GENERALES DE L'ETUDE EN MILIEUX DE CULTURES HYDROPONIQUES

1) L'installation de conditions d'anaérobiose dans la rhizosphère du maïs est favorisée :

- (1)- par la plante elle-même : elle consomme de l'oxygène ;
- (2)- par la microflore tellurique : la baisse de la pression en oxygène est toujours plus nette dans le milieu non stérile ;
- (3)- par une intensité lumineuse élevée.

2) La sulfato-réduction peut apparaître dans un milieu de culture hydroponique contenant encore des quantités importantes d'oxygène : il faut supposer que dans ce milieu aérobie, il existe des microsites où l'oxygène a été consommé, permettant la prolifération des bactéries sulfato-réductrices strictement anaérobies.

3) Le riz, contrairement au maïs, exsorbe de l'oxygène au niveau de sa rhizosphère.

Chapitre VI

ETUDE EXPERIMENTALE DE LA TOXICITE

L'analyse exacte des composés organiques et minéraux, qui constituent les dépôts rhizosphérique et spermosphérique n'a pu être faite, mais l'existence dans ces gaines noires, de sulfures formés à partir de l'hydrogène sulfuré dégagé par l'action des bactéries sulfato-réductrices, est prouvée.

Il est bien connu que l'hydrogène sulfuré et les sulfures sont phytotoxiques, mais aucune étude précise n'a été faite, à notre connaissance sur ce sujet. Aussi, nous avons voulu étudier leur toxicité propre sur des plants de maïs cultivés dans le milieu hydroponique de Börner et Rodemacher, et comparer les résultats obtenus avec l'observation des symptômes de dépérissement des plantes et graines en cultures sur sol.

VI A. ESSAIS PRELIMINAIRES

En présence de bactéries sulfato-réductrices vivantes, il est aisé de provoquer le dépôt d'une gaine de sulfures autour des racines et de la graine en cours de germination.

Les graines de maïs I.N.R.A. 420, stérilisées et prégermées, ont été semées dans des tubes, décrits par ailleurs, contenant du milieu Börner-Rodemacher stérile.

L'injection, à la seringue, de quelques millilitres de culture pure de bactéries sulfato-réductrices (variété D. Gigas) a pour effet, quand elle suit immédiatement le semis, de provoquer le dépôt d'une gaine de sulfures autour de la graine en cours de germination.

De même, cette injection, quand elle est faite dans des tubes où les plants sont hauts de plusieurs centimètres, reproduit le dépôt de cette même gaine autour des racines.

Ces dépôts de sulfures, de consistance grasse au toucher, sont stables quand le milieu contient des bactéries sulfato-réductrices vivantes.

Suivant une méthode conseillée par M. METCHE (communication personnelle), nous avons, dans le même milieu de culture hydroponique stérile, mais enrichi en fer ferrique (sous forme de citrate ammoniacal) introduit des volumes connus d'eau distillée stérile saturée en hydrogène sulfuré par barbottage prolongé. De fines particules noires de sulfures de fer apparaissent, mais elles n'adhèrent pas aux racines, ou à la graine, et se déposent au fond du tube.

Ces deux expériences nous permettent de supposer que le dépôt rhizosphérique et spermosphérique n'est pas constitué de sulfures de fer uniquement.

VI B. TOXICITE PROPRE DE L 'HYDROGENE SULFURE

I. MATERIEL EXPERIMENTAL

Nous avons introduit des graines de maïs I.N.R.A. 420 dans 10 tubes contenant un milieu BÖRNER-RODEMACHER modifié (sans FeSO_4).

Après une semaine de croissance, nous divisons notre série expérimentale en deux lots : un premier qui poursuivra sa croissance sans autre traitement et nous servira de témoin, un second où chaque échantillon recevra stérilement, par injections à la seringue, des doses connues, d'une solution de H_2S (préparée par nos soins et préalablement dosée) de l'ordre de $2 \times 10^{-6}\text{S}^{\equiv}$ d'hydrogène sulfuré, par jour.

L'expérience a été conduite à une température de 28°C , et les plants exposés à la lumière naturelle de juin.

Nos observations ont porté sur les points suivants :

- 1) Apparition et développement des nécroses foliaires et hauteur de la partie aérienne.
- 2) Aspect du système racinaire
- 3) Poids sec des tiges et racines en fin d'expérience.

II. RESULTATS1. Apparition et développement des nécroses foliaires

- a) Témoins : aucune nécrose apparente au jour J + 15.
- b) Plantes soumises à l'action de H_2S :

- Au jour J + 7, quand la dose de H_2S atteint $15 \times 10^{-6}\text{S}^{\equiv}$, se manifestent les premières nécroses se présentant comme un jaunissement suivi d'un dessèchement de l'extrémité des feuilles les plus basses. Cette nécrose s'étend lentement de haut en bas à toute la feuille atteinte.

- Au jour J + 10, alors que les feuilles précédemment touchées sont déjà entièrement mortes, la nécrose en bout de feuille s'est généralisée. La dose est alors de $20 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{F}}$ environ.

- Au jour J + 12 (teneur en sulfures de $25 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{F}}$) la première plante est morte ; toutes sont mortes au jour J + 15 (teneur $30 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{F}}$).

La figure 15 résume ces résultats, et compare les hauteurs de tiges (mesurées entre le collet et l'extrémité de la feuille la plus haute) des plantes témoins d'une part, et intoxiquées d'autre part. Les plantes soumises à l'action de H_2S à partir de l'apparition des premières nécroses foliaires, ne se développent plus.

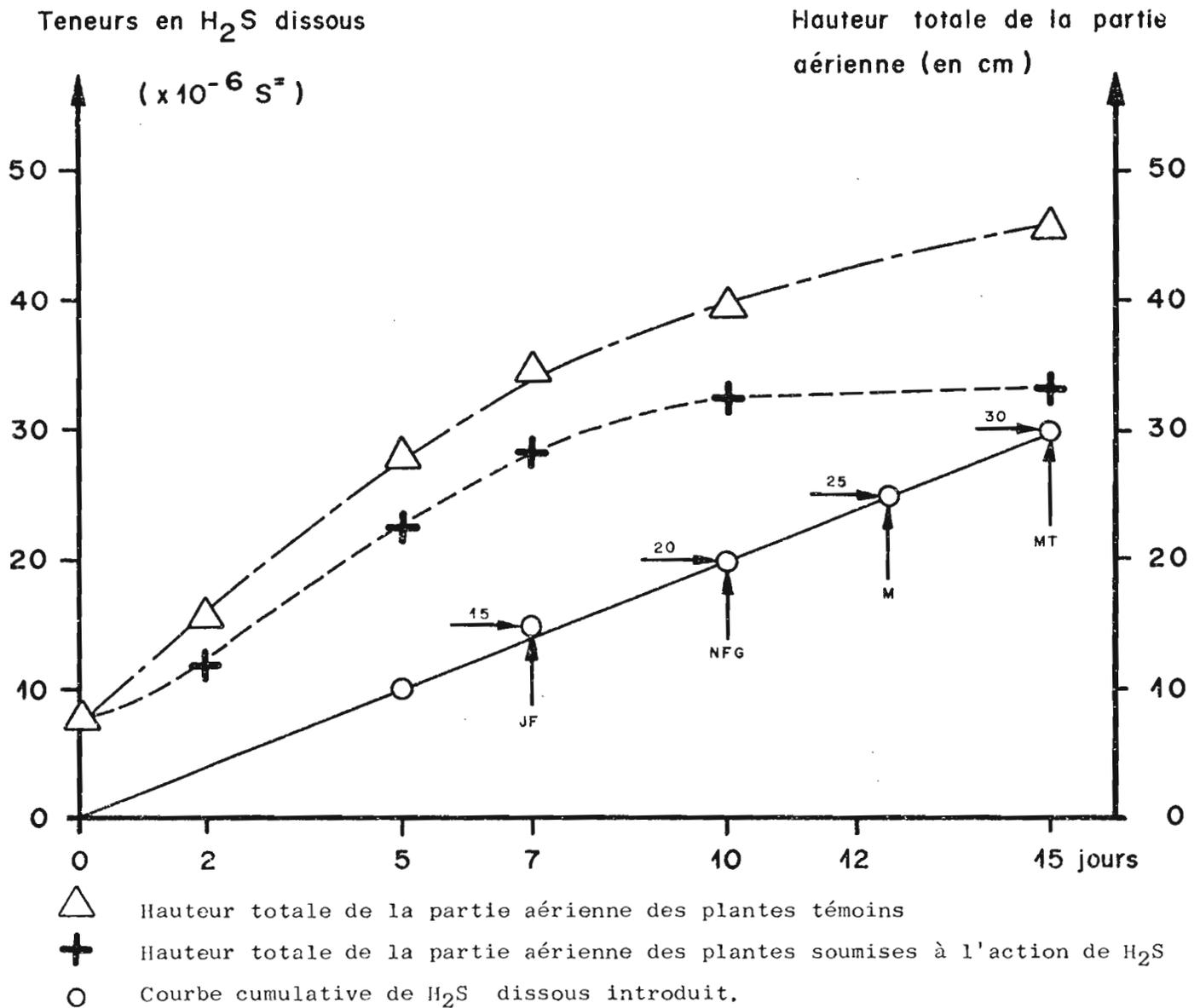
2. Aspect du système racinaire

Par rapport à celles des plantes témoins, les racines des plants de maïs intoxiqués sont moins nombreuses, mais plus courtes, plus épaisses et beaucoup plus ramifiées.

3. Poids sec des tiges et racines en fin d'expérience

Le tableau suivant résume nos mesures au jour J + 15 :

Traitement	Poids sec (en mg)		
	Racines (R)	Tiges (T)	Total R + T
Témoins	52	170	222
$30 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{F}}$	39	112	151



Evolution du dépérissement :

- JF : jaunissement et dessèchement de l'extrémité des feuilles
- NFG : nécroses foliaires généralisées
- M : mort des premières plantes
- MT : mort de toutes les plantes.

Figure 15 - EVOLUTION DU DEPERISSEMENT DES PLANTS DE MAIS SOUS L'EFFET D'ADDITIONS SUCCESSIVES DE H_2S DANS UN MILIEU DE CULTURE HYDROPONIQUE.

Le poids sec total des plantes qui ont été soumises à l'action progressive de l'hydrogène sulfuré ($30 \times 10^{-6} S^{\equiv}$ en 15 jours) ne représente que 70 % environ du poids sec des plantes témoins du même âge.

III. CONCLUSION

En culture hydroponique stérile, l'hydrogène sulfuré dissous, qui ne peut précipiter sous forme de sulfures de fer, arrête la croissance du maïs quand sa concentration atteint $20 \times 10^{-6} S^{\equiv}$ environ, et est léthal à la dose de 25 à $30 \times 10^{-6} S^{\equiv}$.

VI C. EFFETS PHYTOTOXIQUES DES SULFURES SUR LES CULTURES
DANS LE SOL SALIN DE NAKTA.

L'expérience précédente, en cultures hydroponiques, ne reproduit pas ce qui se passe en fait dans le sol, pour trois raisons, en particulier :

- (1) un milieu de culture hydroponique, aussi complet soit-il, n'a pas la complexité du sol,
- (2) l'emploi d'hydrogène sulfuré préparé chimiquement, ne permet pas l'installation du dépôt de sulfures;
- (3) les effets des différents microorganismes du sol sur la plante ne sont pas reproduits dans le milieu stérile.

Aussi, est-il indispensable de comparer les résultats précédents avec les observations in situ, ou faites au laboratoire quand on utilise des cultures sur sol.

VICa. LES SYMPTOMES DE DEPERISSEMENT DE LA FEVE IN SITU

Nous reproduisons ici les observations faites sur une culture de fèves dans le sol alluvial salin de Nakta (COMBREMONT, 1969) :

"Les symptômes consistent en un flétrissement rapide des plantes : ce flétrissement affecte d'abord les feuilles périphériques, puis progresse vers l'axe principal. Les feuilles brunissent sans se dessécher. En même temps, les racines se recouvrent d'une gaine noire de sulfure de fer. En moins de 8-10 jours après l'apparition des premiers signes de flétrissement, les plantes meurent. Lors du ressuyage du sol, la gaine de sulfure disparaît rapidement par réoxydation et les quelques plantes qui ont survécu continuent à croître normalement ; cette dernière observation confirme qu'il ne s'agit pas d'une maladie parasitaire mais d'une maladie physiologique."

VICb. LE DEPERISSEMENT DU MAIS, OBSERVE AU LABORATOIRE

Les symptômes de dépérissement des plants de maïs, cultivés sur sol de Nakta, et soumis à la sulfato-réduction rhizosphérique, sont sensiblement identiques à ceux décrits par COMBREMONT : flétrissement des feuilles en leur extrémité, progressant vers le bas, brunissement, pendant que s'accumulent les sulfures. Mais nous constatons que les feuilles peuvent se dessècher, quand la teneur en sulfure dépasse $40 \times 10^{-6}S^{\equiv}$. Entre des teneurs de 40 et $60 \times 10^{-6}S^{\equiv}$, la croissance des plants est arrêtée, la mort survenant pour des teneurs supérieures à $60 \times 10^{-6}S^{\equiv}$ en général, sauf si toutes les racines sont couvertes de sulfures : dans ce cas, elle peut survenir beaucoup plus tôt. Si quelques plantes survivent, elles continuent à croître quand le sol se réoxyde, et sont en général plus vigoureuses que les plants, sains, du même âge.

L'observation des symptômes de dépérissement des graines soumises à la sulfato-réduction spermosphérique est difficile. Nous avons cependant constaté, dans diverses expériences, qu'aucune graine ne survit à des teneurs en sulfures spermosphériques de l'ordre de 40 à $45 \times 10^{-6}S^{\equiv}$. Les graines sont alors vidées de leur contenu, et ne subsistent que les enveloppes.

VI D. CONCLUSIONS DE L'ETUDE EXPERIMENTALE DE LA PHYTOTIXICITE
DE L'HYDROGENE SULFURE ET DES SULFURES.

- 1) L'hydrogène sulfuré, dissous dans un milieu de culture hydroponique est léthal pour les plantes de maïs à la dose de $30 \times 10^{-6} S^{\equiv}$.
- 2) Les sulfures produits par la sulfato-réduction dans le sol de Nakta provoquent la mort à des teneurs plus élevées ($45 \times 10^{-6} S^{\equiv}$ pour la graine, $60 \times 10^{-6} S^{\equiv}$ pour la plante).
- 3) La sulfato-réduction rhizosphérique se manifeste par le jaunissement et le flétrissement des feuilles, bientôt suivis d'un brunissement et dans le cas du maïs, d'un dessèchement. La mort de la plante survient rapidement, une semaine environ après l'apparition des premiers symptômes.

Chapitre VII

DISCUSSION

Jusqu'à ce jour, de nombreuses publications ont décrit deux types de manifestation de la sulfato-réduction dans les sols :

1) La sulfato-réduction généralisée à un horizon entier.

De tels horizons, situés entre deux horizons moins réducteurs sont fréquents dans les sols salés. : ils ont été observés dans des sols salins d'Afrique du Nord (BOULAINÉ, 1960) ou dans certaines dépressions intradunaires (niayes), en bordure de mer au Sénégal.

2) La sulfato-réduction localisée au contact immédiat de débris organiques.

Ceux-ci peuvent être des fumures organiques ou des résidus, non vivants, de récolté, enfouis généralement dans l'horizon de surface. Cette forme de sulfato-réduction est observée fréquemment dans les sols engorgés, (HENIN et al., 1969, BLOOMFIELD, 1969). La sulfato-réduction observée dans les sols de rizières, en Hongrie (VAMOS, 1959) ou au Japon (MITSUI et al. 1954; YAMADA et OTA, 1958; TAKAI et KAMURA, 1966) semble être rattachée, par les auteurs qui l'on décrite, à cette forme de sulfato-réduction qui se caractérise par une distribution très irrégulière des sulfures dans le sol.

Mais notre étude montre que la sulfato-réduction peut être localisée également à des microhabitats placés sous le contrôle de végétaux vivants, rhizosphère et spermosphère. Aucun chercheur, sauf peut-être BOULAINÉ (1960) ne l'avait encore supposé.

Nous avons voulu montrer que ce type de sulfato-réduction est, comme les deux précédents, d'origine biologique, et que cette sulfato-réduction rhizosphérique ou spermosphérique survient quand sont réunies, dans ces microhabitats, des conditions identiques à celles mises en évidence. par les travaux précités. Ces travaux, et de nombreux autres, ont montré que la

prolifération des bactéries sulfato-réductrices dans le sol est subordonnée aux trois conditions suivantes :

- 1) l'environnement doit être anaérobie ,
- 2) la présence d'ions sulfates y est indispensable ,
- 3) il doit contenir des substrats convenables.

Enfin, nous avons comparé les sulfato-réductions rhizosphérique et spermosphérique, tenté d'élucider la nature de leur toxicité, et rappelé leur importance agronomique.

o o o o o o
o

VII A. ORIGINE BIOLOGIQUE DES SULFATO-REDUCTIONS ETUDIEES

Nos résultats expérimentaux ont montré que dans un sol sec, et un milieu de culture hydroponique stériles, il ne peut y avoir une importante production de sulfures. L'accumulation de sulfures, dans la rhizosphère, comme dans la spermosphère, est liée à l'accroissement, souvent très important, du nombre de bactéries sulfato-réductrices dans tous les sols étudiés (nombre supérieur à 10^3 , voire 10^4 germes par gramme de sol sec).

Mais il n'y a pas de parallélisme entre le nombre de bactéries sulfato-réductrices et la production de sulfures : dans un sol, l'activité d'un groupe microbien peut être indépendante de sa biomasse.

Il nous a été objecté (POCHON, 1970) que nous ne pouvions parler de sulfato-réduction, car la production de sulfures, indéniable, pouvait consister, non pas en la réduction des sulfates par les bactéries sulfato-réductrices, mais en la minéralisation d'exsudats, comme les acides aminés soufrés (cystéine, cystine, méthionine par exemple). L'existence de seuils de teneurs en sulfates solubles du sol, pour les deux formes de sulfato-réductions étudiées montre que la réduction des sulfates solubles du sol est réelle. Mais l'existence de l'autre processus de production de sulfures, toujours par voie biologique, n'est pas exclue :

GROSSMAN et POSTGATE (1953) ont montré que la cystéine est un facteur de croissance pour les bactéries sulfato-réductrices.

VII B. CLASSIFICATION DES DIFFERENTS FACTEURS EDAPHIQUES

L'étude des sulfato-réductions rhizosphérique et spermosphérique montre que, comme dans toute forme de sulfato-réduction, l'activité des bactéries sulfato-réductrices est intense quand sont réunies trois conditions

- (1) anaérobiose
- (2) présence de sulfates solubles, en quantité suffisante
- (3) présence d'exsudats favorables.

Dans la rhizosphère, comme dans la spermosphère, les facteurs édaphiques qui modifient les interactions entre le sol, la plante et la microflore tellurique, de façon que soient réalisées ces trois conditions, peuvent se classer ainsi :

- (1) Les facteurs édaphiques qui traduisent les effets du sol sur les bactéries sulfato-réductrices en contribuant, soit de façon physique, à l'installation de conditions anaérobies (engorgement et densité apparente élevée) soit de façon chimique (par apport de quantités suffisantes de sulfates).
- (2) Les facteurs édaphiques qui traduisent l'action de la plante sur cette même microflore, par exsudation de substrats favorables et par diffusion, ou consommation, de gaz.

VIIC. MODE D'ACTION DES FACTEURS EDAPHIQUES LIES AU SOL

VIICa. Facteurs favorisant l'anaérobiose

La diffusion de l'oxygène de l'atmosphère libre dans la rhizosphère se fait par deux voies : par le sol et par la plante elle-même (LUXMORE et al., 1970). Dans la spermosphère, la première voie est la seule possible. La diffusion de l'oxygène est arrêtée lorsque le sol est engorgé et lorsque la densité apparente dépasse un seuil critique.

Dans le sol de Nakta, l'engorgement peut avoir deux causes :

(1) des pluies excessives (2) des pluies imprévues succédant à l'irrigation. L'existence d'un horizon plus riche en argiles (28 % et plus) situé entre 50 et 60 cm de profondeur, a été prouvée par COMBEAU (1969)..

Sa relative imperméabilité explique la rétention d'eau dans les horizons de surface et l'obturation des pores du sol. Dans ce même sol, la densité apparente est élevée (1,71 en surface). Elle dépasse les seuils critiques (environ 1,45 pour la sulfato-réduction rhizosphérique, 1,50 à 1,55 pour la sulfato-réduction spermosphérique). Ces seuils varient suivant les sols étudiés; en effet, dans les sols alluviaux salins de Camargue, en particulier dans le sol de rizière, ils se situent nettement plus bas. Nous pensons que ces seuils critiques sont d'autant moins élevés que le sol contient plus d'éléments fins (argiles et limons).

L'arrêt de la diffusion d'oxygène est progressif, à partir de la surface ; ceci explique que, dans le cas de la sulfato-réduction spermosphérique, les graines semées à plus de 5 cm de profondeur soient les premières et les plus gravement touchées.

Il existe deux façons de mesurer la diffusion de l'oxygène dans les sols : la mesure du potentiel d'oxydo-réduction, ou la mesure directe de l'oxygène dans l'atmosphère interne et dans la phase liquide du sol. Le potentiel d'oxydo-réduction et la teneur en oxygène ne sont d'ailleurs pas liés par une loi simple (MORTIMER, 1942 ; SCOTT et EVANS, 1955) : le potentiel d'oxydo-réduction d'un sol est essentiellement fonction de la teneur en oxygène, mais dépend aussi des équilibres de divers systèmes redox, où sont impliqués des ions métalliques (dont Fe^{++} et Fe^{+++}) des gaz (dont H_2S) et des composés organiques (revue de DOMMERCUES et MANGENOT, 1970).

Nous n'avons pas étudié la baisse de potentiel d'oxydo-réduction consécutive à l'engorgement. D'autres chercheurs ont montré que les sulfures apparaissent entre 0 mV (TAKAI et KAMURA, 1966) et -200 mV (POSTGATE, 1959). Les résultats sont différents suivant les sols : dans les sols de rizières, TAKAI et al. (1956) ont montré que ce potentiel, de l'ordre de 400 mV avant submersion, est, 21 jours après, de - 250 mV ; pendant ce même temps, la teneur en sulfures dans le sol atteint 150 à 200 x $10^{-6}S^{--}$. Dans d'autres sols engorgés, (divers sols à pH compris entre 6,5 et 8,5) CONNELL et PATRICK (1968) ont montré que les sulfures sont approximativement de 5 x $10^{-6}S^{--}$ à - 100 mV ; 60 x $10^{-6}S^{--}$ à -200 mV et 140 x $10^{-6}S^{--}$ à - 300 mV.

Nous avons, par contre, mesuré la teneur en oxygène de milieux de culture hydroponiques où se produit la sulfato-réduction rhizosphérique. Quand le milieu est inoculé par tous les germes du sol de Nakta, la sulfato-réduction apparaît dans un milieu qui semble contenir encore des quantités assez grandes d'oxygène : pression partielle (pO_2) de 70 à 80 mm de mercure, soit une teneur en oxygène deux fois inférieure seulement à celle d'une eau distillée à la même température. Mais il faut tenir compte que, dans ces milieux de cultures hydroponiques, comme dans le sol, la distribution de l'oxygène est très hétérogène. Dans des sols apparemment bien aérés, peuvent apparaître, dans des sites comme la rhizosphère, où la consommation d'oxygène est particulièrement élevée, des processus anaérobies modérés, comme la dénitrification (revue de DOMMERCUES et MANGENOT, 1970) ou anaérobies extrêmes comme la sulfato-réduction.

Dans de tels sites peuvent vivre des bactéries peu exigeantes en oxygène. De nombreux chercheurs ont montré que l'engorgement favorise également ces bactéries (ABD-EL-MALEK et ISHAC, 1962 ; BRYSSINE, 1964, VANCURA et al., 1965). Ces bactéries peuvent accélérer les processus d'anaérobiose en utilisant une fraction de l'oxygène résiduel.

VII Cb. Teneurs en sulfates solubles des sols

CONNEL et PATRICK (1968) ont montré que les sols à pH neutre ou alcalin sont les plus favorables à la sulfato-réduction, car l'activité des bactéries sulfato-réductrices est maximale aux pH situés entre 7,5 et 8,5. Mais ces sols doivent contenir suffisamment de sulfates solubles. Les teneurs minimales en sulfates solubles sont respectivement de 660 et 540 kg/ha $S-SO_4^{=}$ pour les sulfato-réductions rhizosphérique et spermosphérique dans le sol alluvial salin de Nakta, de 450 et 840 kg/ha $S-SO_4^{=}$ dans le sol brun calcaire de Pixérécourt enrichi artificiellement en sulfates. Il semblerait que les sulfato-réductions étudiées soient certaines, dans 95 % des cas, pour des teneurs de l'ordre de 800 - 900 kg/ha $S-SO_4^{=}$. Ces résultats ont été confirmés par une étude comparative de ces deux formes de sulfato-réduction dans différents sols : les sols salins français, non enrichis en sulfates (Pixérécourt et Bonnelles) ont des teneurs inférieures à 750 kg/ha $S-SO_4^{=}$ et ne sont pas sensibles, les sols salins (de Camargue et de Tunisie) où les sulfato-réductions sont intenses et contiennent plus de 900 kg/ha $S-SO_4^{=}$.

Ces sulfates peuvent préexister dans le sol (cas de sols gypseux) ou peuvent être apportés par des amendements chimiques (engrais) ou organiques, ou encore par les eaux d'irrigation (comme à Nakta).

Mais le soufre élémentaire (S^0) peut jouer le même rôle que le soufre des sulfates (DOMMERMES et JACQ, 1970). En outre, le soufre du sol subit un cycle biologique de transformation parallèle à celui de l'azote :

minéralisation printanière du soufre organique en ions sulfates, avec un maximum en été, et réorganisation automnale des sulfates en hiver, où leur taux est minimum (SIMON-SILVESTRE, 1965).

Remarque : Les sols salins, comme ceux de Tunisie ou de Camargue, sont riches en sulfates, mais aussi en chlorure de sodium. Or, il est prouvé que les bactéries sulfato-réductrices sont aussi stimulées par le ClNa (CONNEL et al, 1968) ; elles s'adaptent très bien à des teneurs de l'ordre de 13 % en milieu liquide, leur développement étant optimum quand cette teneur est voisine de 4 %. Les sols alluviaux salins sont, de ce fait très propices aux phénomènes de sulfato-réduction.

2 - En ce qui concerne l'aspect quantitatif de l'exsudation racinaire, on est très mal renseigné. On admet que l'exsudation est souvent plus importante chez les légumineuses que chez les non-légumineuses, ce qui explique la plus grande sensibilité des premières à la sulfato-réduction.

Nous n'avons pas encore étudié la nature des exsudats du maïs et du riz, mais des études sont actuellement en cours pour tenter de déterminer parmi les substances exsudées, par la graine et la racine, celles qui favorisent effectivement les bactéries sulfato-réductrices.

Deux séries d'expériences nous ont cependant permis de montrer indirectement le rôle des exsudats.

(1) Dans la rhizosphère du maïs, éclairé par 8 000 lx, la production de sulfures est quatre fois plus importante que dans la rhizosphère des plantes éclairées par 3 000 lx. VAMOS (1959) a également signalé l'effet d'un fort ensoleillement sur le dégagement d'hydrogène et l'accumulation de sulfures dans des sols où il y a sulfato-réduction. Ceci ne peut s'expliquer que par le fait connu, que la lumière agit sur l'abondance et la nature des exsudats (ROVIRA, 1965).

(2) Quand la partie aérienne d'un plant de maïs est fauchée, la sulfato-réduction rhizosphérique est plus intense pendant une semaine. Cet effet peut s'expliquer par la libération, au niveau de la racine, d'exsudats post mortem favorisant les bactéries sulfato-réductrices.

Remarque : Il faut signaler que l'abondance de matière organique, dans les rizières (BABA et HANADA, 1964; MANDAL, 1961 ; GOTOH et YAMASHITA, 1966), ou dans les sols enrichis en compost urbain (expérience sur le sol de Bonnelles) favorise les bactéries sulfato-réductrices.

VIIDb. Influence de l'exsorption ou de la consommation de l'oxygène au niveau de la rhizosphère.

La diffusion de l'oxygène par le système racinaire de la plante est plus ou moins active suivant l'espèce considérée. La comparaison, en milieux de culture hydroponique, de l'évolution des pressions partielles en oxygène, dans la rhizosphère du maïs et du riz est très significative : le maïs épuise assez vite l'oxygène dissous, le riz, par contre, enrichit l'environnement ambiant en oxygène. Ce résultat confirme d'autres travaux : la diffusion de l'oxygène est importante chez le riz, la molinie, le saule, mais minime chez la plupart des plantes cultivées, telles le blé, la luzerne, le coton et le maïs (revues de GRABLE, 1966 ; DOMMERGUES et MANGENOT, 1970). Il est bien évident que les plantes sont d'autant plus exposées à la sulfato-réduction que leur structure anatomique se prête mal à la diffusion de l'air : la différence à ce sujet explique que, bien que les sulfures produits dans les rizières puissent être de l'ordre de $200 \times 10^{-6} S^=$, ces plantes résistent mieux que le riz (pour qui des doses de $30 \times 10^{-6} S^=$ sont léthales).

VIIIE. COMPARAISON ENTRE LES SULFATO-REDUCTIONS RHIZOSPHERIQUE
ET SPERMOSPHERIQUE

VIIIEa. Facteurs édaphiques favorables

Les facteurs régissant la sulfato-réduction spermosphérique sont sensiblement les mêmes que ceux qui régissent la sulfato-réduction rhizosphérique.

1 - Ces deux formes de sulfato-réduction sont sous la dépendance de l'engorgement du sol, et de sa densité apparente, deux facteurs édaphiques qui règlent la diffusion de l'oxygène dans le sol.

Cependant :

(1) La durée de la phase d'engorgement nécessaire est plus réduite dans le cas de la sulfato-réduction spermosphérique : 3 à 6 jours suffisent, contrairement à la sulfato-réduction rhizosphérique, qui se manifeste seulement au bout de 10 à 15 jours.

(2) le seuil de densité apparente est légèrement plus élevé dans le cas de la sulfato-réduction spermosphérique : 1,50 à 1,55 (sol de Nakta), contrairement à 1,45 - 1,50 (dans ce même sol) dans le cas de la sulfato-réduction rhizosphérique.

Il faut noter, en outre, que dans le cas de la sulfato-réduction spermosphérique, il ne peut y avoir diffusion de l'oxygène atmosphérique des parties aériennes vers les parties souterraines de la plante : une graine se défend moins bien que ne le fait la jeune plante, contre l'installation de conditions anaérobies.

2- Les sulfato-réductions rhizosphérique et spermosphérique surviennent dans des sols contenant des quantités suffisantes de sulfates sensiblement les mêmes dans les deux cas : 500 à 800 kg/ha de $S-SO_4$, suivant les sols.

3 - La présence d'exsudats, qualitativement ou quantitativement favorables, est indispensables aux bactéries sulfato-réductrices, dans l'un et l'autre cas. Mais si l'exsudation racinaire est sous la dépendance de la lumière, ce n'est évidemment pas le cas de l'exsudation des graines : l'indépendance de la sulfato-réduction spermosphérique vis à vis du facteur lumière fait que ce processus est beaucoup plus facile à prévoir que la sulfato-réduction rhizosphérique.

VII Eb. Intensité.

L'intensité de l'une et l'autre de ces deux formes de sulfato-réductions est différente :

1 - De plus grandes quantités de sulfures sont produites dans la spermosphère que dans la rhizosphère. La figure 16 où sont comparées les sulfato-réductions spermosphérique et rhizosphérique dans des conditions édaphiques identiques, montre que la sulfato-réduction dans la spermosphère se manifeste avec plus d'intensité que dans la rhizosphère : à densité apparente égale, les sulfures sont environ 5 fois plus abondants.

Ceci peut s'expliquer :

(1) par le fait que les exsudats des graines sont quantitativement et/ou qualitativement plus favorables aux bactéries sulfato-réductrices que les exsudats racinaires.

(2) par le fait que la deuxième voie de diffusion de l'oxygène, évoquée plus haut, n'existe pas chez la graine.

2 - La sulfato-réduction spermosphérique est plus nocive que la sulfato-réduction rhizosphérique, parcequ'elle attaque des graines en début de germination (les chances de survie de la plante sont réduites) et parce que la sulfato-réduction spermosphérique peut contaminer certaines graines voisines encore saines et provoquer une attaque ultérieure au niveau des racines.

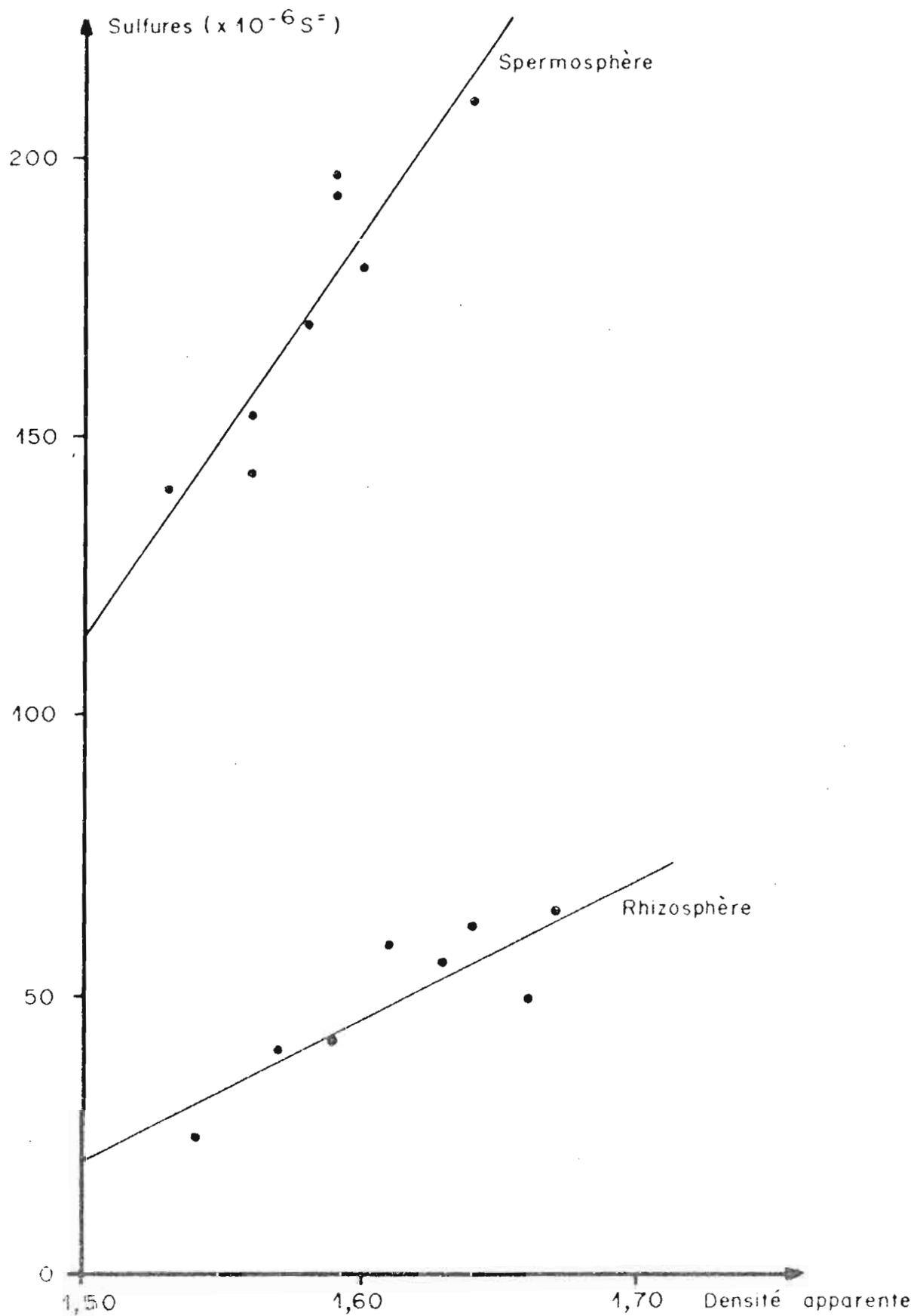


Figure 16- INFLUENCE DE LA DENSITE APPARENTE DU SOL SUR LA SULFATO-REDUCTION RHIZOSPHERIQUE ET SUR LA SULFATO-REDUCTION SPERMOSPHERIQUE

(Sol alluvial salin de Nakts, Tunisie mais ENRA 420)

VIIF. NATURE EXACTE DE LA TOXICITE

L'origine du dépérissement des plantes et des graines sous l'effet de la sulfato-réduction n'est pas encore établie de façon certaine.

VIIFa. Effets directs de l'hydrogène sulfuré

L'hydrogène sulfuré produit par les bactéries sulfato-réductrices présent à l'état gazeux (libre) ou dissous, peut être incriminé. Nos expériences effectuées sur des cultures hydroponiques ont montré que l'hydrogène sulfuré est phytotoxique à des doses de $30 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{cm}^3}$ pour le maïs. Il l'est à des doses de $3,0 - 4,0 \times 10^{-6} \text{S}^{\text{cm}^3}$ pour les Citrus (DAVID & FORD, 1970).

Cet hydrogène sulfuré libre provoque également la pourriture des racines du riz (VAMOS, 1959 ; TAKAI et KAMURA, 1966).

VIIFb. Composition des gaines rhizosphérique et spermosphérique

La nature exacte des substances composant cette gaine est encore relativement inconnue, mais nous savons par nos mesures qu'elle contient des quantités appréciables de sulfures que nous soupçonnons être essentiellement du sulfure ferreux FeS .

De nombreux travaux, en particulier ceux de MITSUI et al., (1954); VAMOS (1959) ; TANAKA et al. (1968) ; BLOOMFIELD (1969) ont prouvé que l'hydrogène sulfuré produit par la sulfato-réduction, réagissait sur le fer libre du sol pour donner du sulfure de fer : Fe-S .

BLOOMFIELD, précité, affirme que l'hydrogène sulfuré réagit de préférence avec le fer libre qu'avec Fe_2O_3 . Il précise même que dans le cas de sols bien drainés où l'engorgement est peu fréquent et de faible durée, les sulfates disparus sont retrouvés : 60 % sous forme de FeS , 40 % sous forme de H_2S ; tandis que dans les mêmes sols engorgés presque en permanence, 80 % des sulfates sont retrouvés sous forme de FeS et 20 % seulement sous forme de H_2S .

En général, une hydromorphie réductrice, entraîne une acidification du sol (en particulier des sols alcalins et calcaires : PONNAMPERUNA et al., 1966), favorable à la solubilisation du fer sous forme Fe^{++} (REDMAN et PATRICK, 1965 ; revue de DOMMERGUES et MANGENOT, 1970). Mais l'installation de conditions d'anoxymbiose très marquées (et H_2S induit, dans le biotope où il s'accumule, ^{provoque} une baisse très prononcée du Eh, (SENEZ, 1962), le pH remonte et l'hydrogène sulfuré insolubilise ce fer ferreux à l'état de FeS (STARKEY, 1966).

Aussi, nous avons supposé que dans le sol de Nakta, des effets aussi néfastes que ceux constatés, pourraient avoir comme origine une déficience en fer, laissant une partie de l'hydrogène sulfuré sous cette forme, très toxique.

Pour vérifier cette hypothèse sur des échantillons très riches en sulfures (d'origine spermosphérique), nous avons dosé le fer libre total, le fer sous forme Fe^{++} , les sulfures et nous avons calculé la proportion maximale de fer ferreux qui pouvait être liée sous forme FeS . Les résultats correspondants sont consignés dans le tableau suivant :

	$S^{=}$ (x 10^{-6})	Fer libre (x 10^{-3})	Fe^{++} (x 10^{-3})	Fe^{+++} (x 10^{-3})	Pourcentage maximum de Fe^{++} liés à $S^{=}$
Sol spermosphérique engorgé	178,5	7,06	4,40	2,66	7,09 %
Sol témoin non spermosphérique, non engorgé	0,16	6,47	1,25	5,22	0,23 %

(moyenne de 5 mesures)

Il apparaît donc que le fer ferreux est, en général, en quantité largement suffisante pour neutraliser l'hydrogène sulfuré libéré par les bactéries sulfato-réductrices. Mais il n'est pas exclu qu'en certains points très précis de la rhizosphère (ou de la spermosphère), existent des

microsites déficients en fer ferreux.

La présence de pyrite (FeS_2) dans les sols engorgés en permanence a également été démontrée par HARMSSEN (1954). Cet auteur montre que cette pyrite, plus longue à se former, est aussi beaucoup plus résistante à l'oxydation que le sulfure ferreux : il peut être retrouvé des années après la fin de la phase d'engorgement. Ce même chercheur a encore prouvé l'existence d'autres polysulfures de fer. BLOOMFIELD (déjà cité) et FRENEY (1967) ont également constaté que la pyrite et les polysulfures ne se produisent en quantités appréciables que dans le cas de sols submergés en permanence.

Comme de notre côté, nous avons constaté l'oxydation très rapide (en 48 heures) des sulfures rhizosphériques, nous estimons que la gaine contient essentiellement du sulfure ferreux FeS ; mais la présence de faibles quantités de pyrite et de polysulfures n'est pas totalement exclue.

D'autres composés phytotoxiques pourraient également s'accumuler dans la rhizosphère : ce sont en particulier le méthyl-mercaptan ($\text{CH}_3\text{-SH}$) : TAKAI et ASAMI, 1962, nettement toxique lorsque sa teneur dépasse un certain seuil, et des acides gras. Ces substances sont des produits d'accumulation du métabolisme anaérobie des bactéries sulfato-réductrices.

VIIFc. Conclusions

En définitive, nous pouvons supposer que les gaines rhizosphérique et spermosphérique contiendraient certainement une quantité importante de sulfure ferreux FeS , de l'hydrogène sulfuré H_2S , et sans doute de faibles proportions de pyrite FeS_2 , d'acides gras et de mercaptans.

Tous ces produits sont phytotoxiques, sauf peut-être le sulfure ferreux (revue de DOMMARGUES et MANGENOT, 1970). L'hydrogène sulfuré, s'il n'est pas précipité sous cette forme, est toxique à des doses de 25 à 30 x $10^{-6}\text{S}^{\text{cm}^3}$ pour le maïs ; les acides gras et les mercaptans verraient leur toxicité aggravée par la baisse de Eh et l'absence d'oxygène

dans la rhizosphère : TAKAI et KAMURA (1966). Le dépôt de FeS sur les racines diminuerait leurs capacités oxydatives (TANAKA et al., 1968 ; PARK et TANAKA, 1968).

Parmi les autres hypothèses que l'on peut avancer pour expliquer la mort de la plante, signalons le blocage de l'absorption de l'eau ou des éléments minéraux par la gaine de sulfures qui entoure les racines. Nous avons l'intention de rechercher ultérieurement, par l'utilisation de traceurs radio-actifs, de quelle façon la gaine de sulfures joue ce rôle d'écran physique que nous lui prêtons.

VII G. CONSEQUENCES AGRONOMIQUES

Des enquêtes effectuées in situ (COMBREMONT, 1969), il ressort que le pourcentage des cultures de fèves détruites par sulfato-réduction rhizosphérique dans les sols salins tunisiens peut atteindre 50 et même 100 % dans certaines parcelles. La luzerne est également affectée, mais les dégâts sont en général moins étendus. Des non-légumineuses sont également atteintes : maïs, coton, sorgho, par exemple. La sulfato-réduction spermosphérique peut provoquer des dégâts considérables dans ce même sol lorsque les semis sont suivis de pluies importantes, comme cela a été le cas en Tunisie à la fin du mois de septembre et au début du mois d'octobre 1969.

Une abondante littérature signale l'existence de maladies physiologiques du riz connues sous les noms de "brusone non parasitaire" en Italie et Hongrie notamment, ou de "aki-ochi" au Japon (cf. par ex. : VAMOS, 1959 ; BOULAINÉ, 1960 ; TAKAI et KAMURA, 1966). Bien que très peu d'auteurs aient émis l'hypothèse d'une sulfato-réduction rhizosphérique, nous estimons que certaines maladies physiologiques du riz sont dues à une stimulation anormale de l'activité des bactéries sulfato-réductrices limitée, à l'origine, à la rhizosphère. Si beaucoup de chercheurs n'ont pas pu déceler ce phénomène rhizosphérique, c'est que ce processus est fugace, la réoxydation du soufre réduit se faisant très rapidement. Soulignons ici que le riz est, parmi les plantes cultivées, une des moins exposées à la sulfato-réduction rhizosphérique en raison de son aptitude à la diffusion de l'oxygène de ses organes aériens vers les racines, aptitude que ne possède pas le maïs.

D'après FORD et CALVERT (1966), les Citrus seraient très sensibles à la sulfato-réduction rhizosphérique.

En pratique, les sulfato-réductions rhizosphérique et spermosphérique peuvent présenter un danger sur le plan agricole dans tous les sols riches en sulfates ou arrosés avec des eaux sulfatées et dont la structure est défectueuse.

Nous savons que, confrontés à des problèmes analogues dans les sols de rizières, des chercheurs japonais dont GOTOH et YAMASHITA (1966) préconisent les moyens de lutte suivants :

- (1) - un drainage plus important et, à l'occasion, l'arrêt momentané de la phase de submersion ;
- (2) - des apports de chaux et de bioxydes de manganèse ;
- (3) - des apports d'oxydes de fer, pour permettre à une plus grande partie de l'hydrogène sulfuré produit de se transformer en sulfures de fer, moins toxiques.

Dans les sols que nous avons étudiés, en particulier celui de Nakta, outre ces procédés, d'autres actions seraient possibles :

- (1) - une meilleure utilisation des eaux d'irrigation : il faut éviter systématiquement tout engorgement en surface. Si nécessaire, il ne faudrait pas hésiter à cesser tout arrosage pendant 48 heures au moins, si des signes de carence apparaissent.

- (2) - l'emploi des techniques culturales abaissant la densité apparente du sol en surface. Si cette densité apparente ne dépasse pas 1,50, la sulfato-réduction spermosphérique est négligeable, et la sulfato-réduction rhizosphérique peu intense.

CONCLUSIONS GENERALES

o o o o o o o

Les travaux de nombreux chercheurs ont montré que dans certains sols, riches en sulfates et en matière organique, les bactéries sulfato-réductrices produisent, au cours d'une phase d'hydromorphie réductrice, de l'hydrogène sulfuré qui réagit sur le fer libre du sol pour donner du sulfure ferreux. Celui-ci s'accumule sous forme de taches noires réparties irrégulièrement dans le profil.

Mais aucun chercheur n'a encore supposé que la sulfato-réduction pouvait être localisée à deux microhabitats placés sous la dépendance de végétaux vivants : la rhizosphère et la spermosphère. Ces deux nouvelles formes de sulfato-réduction que nous désignons sous les termes de sulfato-réduction rhizosphérique et de sulfato-réduction spermosphérique, sont possibles quand sont réunies, dans le sol, les deux conditions suivantes : (1) anaérobiose (2) présence de quantités suffisantes de sulfates.

Ces deux conditions sont réalisées dans tous les sols riches en sulfates (sols gypseux et salins) ou arrosés par des eaux sulfatées, et dont la structure est défectueuse.

Dans ces sols, une troisième condition doit être réalisée pour que survienne la sulfato-réduction : la présence de substrats favorables aux bactéries sulfato-réductrices. Cette condition est remplie de deux façons :

(1) Ces sols sont naturellement, du fait de leur couverture végétale, ou de l'addition d'engrais organiques (par exemple de compost urbain), riches en matière organique. Dans ce cas, la sulfato-réduction est localisée à proximité immédiate de ces débris organiques non vivants, et même, dans les cas extrêmes, généralisée à tout le profil.

(2) Dans ces sols sont cultivés certains végétaux, comme le maïs, les légumineuses, les agrumes, dont les graines en cours de germination et/ou les racines exsudent ces substrats. Dans ce cas surviennent les sulfato-réductions spermosphérique et/ou rhizosphérique, même dans un sol pauvre en matière organique.

Il peut paraître étrange que ces deux formes de sulfato-réduction soient restées inaperçues jusqu'à ce jour. Deux raisons peuvent l'expliquer (1) de tels processus ont pu échapper aux observations des agronomes et des pédologues car ils sont très localisés, dans l'espace d'abord, aux deux microhabitats précités, dans le temps ensuite, à la durée de la phase d'engorgement : les sulfures se réoxydent, en moins de quarante-huit heures quand cesse l'anaérobiose. (2) la sulfato-réduction a surtout été observée dans les sols de rizières : dans ces sols, les taches de sulfures, localisées initialement à la rhizosphère se sont étendues très vite, du fait de la durée de la phase de submersion et de la teneur élevée en matière organique bien au-delà de ce microhabitat.

L'intérêt agronomique de recherches approfondies sur la synécologie des sulfato-réductions rhizosphérique et spermosphérique est évident : nous avons montré leur toxicité, plus marquée d'ailleurs dans le cas de la seconde. Elles peuvent se manifester non seulement dans les sols alluviaux salins des zones arides ou semi-arides où nous les avons initialement mis en évidence, mais aussi dans tous les sols riches en sulfates et à structure défectueuse, qui sont engorgés soit naturellement, par pluies, inondations, soit artificiellement, par suite d'une irrigation mal conduite.

Notre étude, qui a porté sur les seuls effets des facteurs édaphiques, permet de prévoir l'utilisation de méthodes culturales réduisant les méfaits de telles sulfato-réductions. Mais il nous faudra

résoudre d'autres problèmes (1) - l'isolement et l'identification des bactéries sulfato-réductrices incriminées, (2) - l'analyse de l'origine exacte de la toxicité des gaines rhizosphérique et spermosphérique, (3) - l'identification, dans les exsudats racinaires ou spermosphériques, de substrats favorables aux bactéries sulfato-réductrices, avant d'envisager d'autres moyens de lutter contre ces formes de sulfato-réduction.

Enfin, l'analyse des interactions entre effets rhizosphérique ou spermosphérique et facteurs édaphiques, in situ ou en modèles gnotobiotiques, devrait permettre de résoudre certains problèmes analogues à ceux qui nous ont été soumis.

° ° °
°

REFERENCES

...

- ABD-EL-MALEK (Y.) et ISHAC (Y.Z.), 1962 .- Abundance of Azotobacter in Egyptian soils. 3rd Intern. Congr. Microbiology, Montréal.
- ABD-EL-MALEK (Y.) et RIZK (S.C.), 1958 .- Counting of sulphate reducing bacteria in mixed bacterial populations. *Nature*, 182, 538-539.
- ADAMS (M.E.) et POSTGATE (J.R.), 1959 .- A new sulphate-reducing vibrio. *J. Gen. Microbiol.*, 20, 252.
- BABA (T.) et HANADA (T.), 1954.- Physiological diseases of rice plant in Japan. 4th Session Int. Rice Commission, F.A.O., Tokyo.
- BECK (G.), DOMMERS (Y.) et VAN DEN DRIESSCHE (R.), 1969 .- L'effet litière II. Etude expérimentale du pouvoir inhibiteur des composés hydrosolubles des feuilles et des litières forestières vis-à-vis de la microflore tellurique. *Oecol. Plant.* 4, 237-266.
- BEIJERINCK (M.W.), 1895 .- Uber Spirillum desulfuricans als Ursache von Sulfat Reduktion. *Zentbl. Bakt. ParasitKde (Abt.II)*, 1, 104.
- BERNARD (D.), BESANCON, VALANCHON et DE LUZY DE PELISSAC, 1969 .- Rapport de la Station Agronomique de Seine et Marne sur le champ d'essai de Bonnelles (78).
- BLOOMFIELD (C.), 1969 .- Sulphate-reduction in waterlogged soils. *J. Soil Sci.* 20, 207-221.
- BOULAIN (J.), 1960 .- Les maladies physiologiques du riz. *Bull. Inf. Riziculteurs de France*, 16 p.
- BRYSSINE (I.), 1964 .- Note au sujet de l'activité microbologique de quelques types de sols "Doukkala". *Al Awamia*, 11, 89-110.
- CAMPBELL (L.L.), KASPRZYCKI (M.A.) et POSTGATE (J.R.), 1966 .- Desulfovibrio sp.n : a new dissimilatory sulphate-reducing bacterium. *J. Bact.* 92, 1122.
- CAMPBELL (L.L.) et POSTGATE (J.R.), 1965 .- Classification of the spore-forming sulphate-reducing bacteria. *Bact. Rev.*, 29, 359.
- CHALVIGNAC (M.A.), 1958 .- Effet rhizosphère comparé du lin en culture hydroponique et en terre. *Annls Inst. Past.*, 95, 474-479.

- CHAUDHRY (I.A.) et CORNFIELD (A.H.), 1966 .- Determination of sulphide in waterlogged soils. Pl. Soil, 25, 474-479.
- CLARK (L.C.), 1956.- Tr. Am. Soc. for Art. Int. Organs II., 41.
- COMBEAU (A.), 1969.- Observations sur les facteurs de dépérissement de fèves à Nakta. C.R.U.E.S.I., Rapport n° 30.
- COMBREMONT (R.), 1969 .- Communication personnelle.
- CONNEL (W.E.) et PATRICK (W.H.), 1968.- Sulphate-reduction in soil effect of redox potential and pH. Science, 159, 86-87.
- DAVID (C.L.), FORD (H.W.) , 1970.- Evaluation of H₂S as a citrus root toxicant using a solution circulating system. 66th Annual meeting Am. Soc. Hortic. Sci. Miami Beach.
- DOMMERMUES (Y.), 1968.- "La biologie des Sols". Collection "Que sais-je", n° 399, Presses Universitaires de France.
- DOMMERMUES (Y.), COMBREMONT (R.), BECK (G.), OLLAT (C.), 1969 .- Note préliminaire concernant la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin tunisien. Rev. Ecol. Biol. Sol, 6, 115-129.
- DOMMERMUES (Y.), JACQ (V.) et BECK (G.), 1969 .- Influence de l'engorgement sur la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin. C.r. Acad. Sci., Paris, 268, 605-608.
- DOMMERMUES (Y.), JACQ (V.), BALANDREAU (J.) et COMBREMONT (R.), 1969 .- Rhizospherical and spermatospherical sulfate reduction and rhizospherical nitrogen fixation in a saline soil. Proc. third intern. conf. on Global Impacts of Applied Microbiology (G.I.A.M. III), Bombay 1969 (sous presse).
- DOMMERMUES (Y.), JACQ (V.), 1970 .- Transformations microbiennes du soufre dans la rhizosphère et la spermosphère. Coll. sur le Soufre. Ass. Fr. pour l'Etude du Sol (A.F.E.S.). Conférence non publiée.
- DOMMERMUES (Y.), MANGENOT (F.), 1970 .- Ecologie Microbienne du Sol. Masson, Paris.
- DUCHAUFOR (Ph.), 1968 .- L'évolution des sols : essai sur la dynamique des profils. Masson et Cie, Ed. Paris, 94 p.
- DUNNET (C.W.), 1955 .- A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. American Statist. Ass. Journ., 12, 1091-1121.

- ELION (L.), 1924 .- A termophilic sulphate-reducing bacterium. Zentbl. ParasitKde (Abt. II), 63, 58.
- FLASCHKA (H.A.), 1959 .- E.D.T.A. titrations. Pergamon Press. London.
- FORD (H.W.), 1965 .- By-products from bacteria are toxic to citrus roots under flooded conditions. Florida Field Report, 4(30), 8-12.
- FORD (H.W.), CALVERT (D.V.), 1966 .- Induced anaerobiosis caused by flood irrigation with water containing sulfides. Florida State Horticultural Society, 79, 24-27.
- FRENEY (J.R.), 1967 .- Oxidation of sulphur in soils. Mineralium Deposita, 2(3), 181-187.
- GOTOH (S.), YAMASHITA (K.), 1966 .- Oxidation-reduction potential of a paddy soil in situ with special reference to the production of ferrous iron, manganous manganese and sulfide. Soil Sc. Pl. Nutr., 12(6), 24-32.
- GRABLE (A.R.), 1966 .- Soil aeration and plant growth. Adv. Agron. 18, 58-106.
- GROSSMAN (J.P.), POSTGATE (J.R.), 1953 .- The estimation of sulfate reducing bacteria (D. desulfuricans). Proc. Soc. Appl. Bact., 15 (1), 1-9.
- HARMSSEN (G.W.), 1954 .- Observations on the formation and oxidation of pyrite in the soil. Pl. Soil, 5, 324-348.
- HENIN (S.), GRAS (R.), MONNIER (G.), 1969 .- Le profil cultural. L'état physique du sol et ses conséquences agronomiques. Masson, Paris, 332 p.
- HOUSSAIS (E.), 1969 .- Essai d'utilisation de compost urbain en grande culture. Compte-rendu du C.E.T.A. de l'Ile de France.
- JACQ (V.), 1969 .- Etude de la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin tunisien. D.E.A., Fac. Sci. Nancy.(doc. ronéo).
- JACQ (V.), 1970 .- Méthode colorimétrique de dosage de l'hydrogène sulfuré et des sulfures dans les sols et dans les solutions. Note technique 12. Centre de Pédologie (C.N.R.S. Nancy) (doc. ronéo.)
- JACQ (V.), DOMMARGUES (Y.), 1970 .- Sulfato-réduction rhizosphérique et spermosphérique : influence de la densité apparente du sol. C.r. Acad. Agric. Fr., 56, 511-519.

- JACQ (V.), 1971 .- Utilisation du micro-analyseur Radiometer pour l'étude du pH et des pressions partielles en oxygène et gaz carbonique dans les milieux de culture hydroponique. Note tech. Centre de Pédologie. C.N.R.S. Nancy (doc. ronéo.)
- JACQ (V.), DOMMARGUES (Y.), 1971 .- Influence de l'intensité d'éclaircissement et de l'âge de la plante sur la sulfato-réduction rhizosphérique. Zentbl. Bakt. ParasitKde (sous presse).
- JACQ (V.), DOMMARGUES (Y.) et WEINHARD (P.), 1971 .- Sulfato-réduction spermosphérique. Annl. Inst. Pasteur (sous presse).
- JACQUINOT, 1968 .- Rapport d'activité du C.R.A. de Bambey (Sénégal). I.R.A.T.
- KELLY (D.P.), 1970.- Transformation du soufre et de ses composés dans le sol. Conf. Congrès A.F.E.S. Versailles (non publié).
- LAGARDE (E.), MALDEREZ (A.), 1967 .- Une technique nouvelle d'estimation de l'efficacité des inhibiteurs de la croissance bactérienne. Son application à la lutte contre la corrosion biologique des métaux ferreux. Corrosion, 6, 275-280.
- LAMOTTE (M.), 1957.- Initiation aux méthodes statistiques en biologie. Masson et Cie Ed., Paris, 144 p.
- LE GALL (J.), 1963 .- Une nouvelle espèce de Desulfovibrio. J. Bact. 86, 1120.
- LIE (T.A.), 1964 .- Nodulation of leguminous plants as affected by root secretions and red light. Thèse Wageningen, Hollande.
- LUXMORE (R.J.), STOLZY (L.M.) LETEY (J.), 1970 .- Oxygen diffusion in the soil-plant system. Agron. J., 62, 317-332.
- MANDAL (L.N.), 1961.- Transformations of iron and manganese in waterlogged rice soil. Soil Sci., 91, 121-126.
- METCHE (M.), 1969.- Communication personnelle.
- MITSUI (S.A.), KUMARAWA (K.) et ISHIWARA (T.), 1954.- The nutrient uptake of rice plants as influenced by hydrogen sulfide and butyric acid abundantly evolving under waterlogged soil condition. 5th Intern. Congr. Soil Sci. Léopoldville, 2, 364-368.
- MORTIMER (C.H.), 1942.- The exchange of dissolved substances between mud and water in lakes. J. Ecol. 26, 180-193.
- MOURARET (M.), 1969.- Communication personnelle.

- OULIE (B.), 1970 .- La réduction microbienne de l'acétylène en éthylène : contribution à l'étude d'une méthode de mesure de la fixation d'azote dans le sol. D.E.A. Fac. Sci. Nancy (doc. ronéo).
- PANKHURST (E.S.), 1968 .- Significance of sulphate-reducing bacteria to the gas industry. A review. J. appl. Bacteriol. G.B., 31, 179-93.
- PARK (Y.D.) et TANAKA (A.), 1968 .- Studies of the rice plant in a "Akiochi" soil in Korea. Soil Sc. Plant Nutr., 14, 27-34.
- PELOUX (P.), 1970.- Communication personnelle.
- PICHINOTY (F.), 1966 .- Mesure de l'activité de quelques reductases de micro-organismes. Information Exchange Group. n° 1. Oxidative phosphorylation and terminal electron transport. Scientific memo 555.
- POCHON (J.), 1970 .- Communication personnelle.
- POCHON (J.) et TARDIEUX (P.), 1962 .- Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Ed. de la Tourelle, Saint-Mandé. 111 p.
- PONNAMPERUMA (F.N.), MARTINEZ (E.), LOY (T.), 1966 .- Influence of redox potential and partial pressure of carbon dioxide on pH values and the suspension effect of flooded soils. Soil Sci. 101, (6), 421-431.
- POSTGATE (J.R.), 1959 .- Ann. Rev. Microbiol., 13, 505.
- POSTGATE (J.R.), 1965 .- Recent advances in the study of the sulfate-reducing bacteria. Bact. Rev., 29, 425-441.
- PREVOT (A.R.), TURPIN (A.) et KAISER (P.), 1967 .- Les bactéries anaérobies. Dunod ed., Paris, 2188 p.
- REDMAN (F.H.) and PATRICK (W.H.), 1965 .- Effect of submergence on several biological and chemical soil properties. Bull. Agric. Exp. Station of Louisiana State University, 592, 28 p.
- RINAUDO (G.), 1970 .- Fixation biologique de l'azote dans trois types de sols de rizières de Côte d'Ivoire. Thèse Ing. Doct. Fac. Sci. Montpellier (doc. ronéo).
- RIVIERE (J.), 1960 .- Etude de la rhizosphère du blé. Annls Agron. 11, 398-440.
- ROUILLER (J.), 1970 .- Communication personnelle.
- ROVIRA (A.D.), 1965 .- Plant root exsudates and their influence upon soil microorganisms. Ecology of soil-borne plant pathogens, 170-186.

- RUBENTSCHICK (L.), 1928 .- Uber Sulfatre-reduktion durch Bakterien bei Zellulosegärungs-produkten als Energiequelle. Zentbl. Bakt. ParasitKde (Abt. II), 73, 483.
- SALEH-RASTINE (N.), 1968 .- Contribution à l'étude des glucides libres dans les sols de rizières. Thèse Doct. Spéc. Pédo. Fac. Sci. Montpellier (doc. ronéo).
- SCOTT (A.D.), EVANS (D.D.), 1955 .- Dissolved oxygen in saturated soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 19, 7-12.
- SENEZ (J.C.), 1951 .- Etude comparative de la croissance de Sporovibrio desulfuricans sur pyruvate et sur lactate de soude. Ann. Inst. Pasteur, 80, 395-408.
- SENEZ (J.C.), 1962 .- Rôle écologique des bactéries sulfato-réductrices. Pubbl. Staz. Zool. Napoli, 32, 427-441.
- SEVERINGHAUS (J.W.), BRADLEY (A.F.), 1958 .- J. appl. Physiol., 13, 515
- SIMON-SYLVESTRE (G.), 1965 .- Evolution annuelle du soufre dans le sol comparée à celle de l'azote. Acad. Agric. France, P.V. Séance du 31 mars, 51, 426-431.
- SISLER (F.D.) et ZOBELL (C.E.), 1951 .- Hydrogen utilization by some marine sulphate-reducing bacteria. J. Bact., 62, 117-127.
- STARKEY (R.L.), 1938 .- Arch.F. Mik., 9, 268.
- STARKEY (R.L.), 1958 .- The general physiology of the sulfate reducing bacteria in relation to corrosion. Producers Monthly, 22, 12-30.
- STARKEY (R.L.), 1966 .- Oxidation and reduction of sulfur compounds in soils. Soil Science, 101, (4), 297-306.
- TAKAI (Y.), ASAMI (T.), 1962 .- Formation of methyl mersaptan in paddy soils. Soil Sci. Pl. Nutr., 8, 40-44.
- TAKAI (Y.) et KAMURA (T.), 1966 .- The mechanism of reduction in waterlogged paddy soils. Folia Microbiol., 11, 304-313.
- TAKAI (Y.), KOYAMA (T.) et KAMURA (T.), 1956 .- Microbial metabolism in reduction process of paddy soils (1). Soil Pl. Food, 2 (2), 63-66.
- TANAKA (A.), MULLERIYAWA (R.P.) et YASU (T.), 1968 .- Possibility of hydrogen sulphide induced toxicity of the rice plant. Soil Sc. Pl. Nutr., 14, 1-6.

- TRINICK (M.J.), 1968 .- Nodulation of tropical legumes. I. : Specificity in the rhizobium symbiosis of *Leucaena-Leucophala*. *Expl. Agric.*, 4, 243-253.
- VAMOS (R.), 1959 .-"Brusone" disease of rice in Hungary. *Pl. Soil* 11, 65-77.
- VANCURA (V.), ABD-EL-MALEK (Y.) et ZAYED (M.N.), 1965 .- *Azotobacter* and *Beijerinckia* in the soils and rhizosphere of plants in Egypt. *Folia Microbiol.*, 10, 224-229.
- VAN DELDEN (A.), 1903 .- Beitrag zur Kenntnis der Sulfatre-reduktion durch Bakterien. *Zentbl. Bakt. ParasitKde (Abt. 11)*, 11, 81.
- VAN HOORN (J.W.), 1966 .- Recherches sur l'utilisation de l'eau salée en irrigation en Tunisie. *Nature et Ressources*, 2, 3-7.
- VERONA (O.), 1958 .- La spermosphère. *Annls Inst. Pasteur*, 95, 795-798.
- WAKSMAN (S.A.) et FRED (E.B.), 1922 .- A tentative outline of the plate method for determining the number of microorganisms in the soil. *Soil Science*, 14, 27-28.
- YAMADA (N.) et OTA (Y.), 1958 .- *Soils Fertil.*, 22, résumé n° 1935.
- ZELINSKY (N.D.), 1893 .- On hydrogen sulphide fermentation in the Black Sea and the Odessa estuaries. *Proc. Russ. Phys. Chem. Soc.*, 25, 298.