Activités microbiennes dans les sols de rizières du Sénégal : Relations avec les caractéristiques physico-chimiques et influence de la rhizosphère

PAR

J.-L. GARCIA, M. RAIMBAULT, V. JACQ, G. RINAUDO et P. ROGER Laboratoire de Microbiologie du sol de l'O.R.S.T.O.M., B.P. 1386, Dakar - Sénégal

INTRODUCTION

L'influence des facteurs physiques et chimiques et de la rhizosphère du riz sur les activités microbiennes des sols hydromorphes a déjà fait l'objet de nombreuses publications. Dans des sols de Louisiane a notamment été étudiée l'influence de la submersion sur la réduction des nitrates (REDMAN et PATRICK, 1965) et sur la réduction des sulfates (CONNEL et PATRICK, 1968). Au Japon, Okuda et Yamaguchi (1956) ont analysé l'influence des propriétés de différents sols de rizières sur l'activité des cyanophycées fixatrices de N₂ tandis que Yamane (1958) s'est intéressé à la formation du méthane. Enfin Rinaudo et coll. (1971) ont étudié la fixation non symbiotique de N₂ dans les sols de rizières de Côte d'Ivoire. Ces différentes activités microbiennes ont toujours été étudiées séparément sur des sols provenant de régions éloignées, ce qui rend difficile toute comparaison.

Pour cette raison, nous avons évalué sur un même lot d'échantillons de sols de rizières : (1) la fixation de N_2 (a) par les cyanophycées, (b) par les bactéries libres dans la rhizosphère du riz, (2) la nitrification, (3) la dénitrification, (4) la sulfato-réduction, (5) la formation biologique du méthane.

GÉNÉRALITÉS

Au Sénégal, les rizières sont essentiellement localisées dans le sud du pays (région de Casamance) et dans le nord (région du delta du fleuve Sénégal). Les rizières artisanales de Casamance sont cultivées en billons dans leur grande majo-

O. R. S. T. O. M. Ex.Z

Collection de Référence 7259 Bio Sols

. VOL. 11, Nº 2

TABLEAU I

Caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés

		Argila	Limon	Sable	Texture	-		Ten	eur en			Rapport	Conduc-	
N°	Localité	%	% 	%	(I)	C. organique º/oo	C º/oo	N º/00	S-SO ₄ -	N-NO ₃ -	Cl- meq/100 g	C/N	tivité mmhos/cm	
1	Boutolat	2,75	15,28	76,59	S L	6,49	3,77	0,38	89	20	0	9,9	0,27	
2	Bignona	49,75	13,57	10,39	A	47,38	27,50	1,93	286	્0 ∺	3,73	14,2	0,50	
3	Medina	66,00	21,28	1,68	A	29,60	17,18	0,61	1 600	., 0	13,37	28,1	1,76	
4	Medina	27,50	25,13	18,13	LA	154,95	89,93	3,08	1 547	0 .	23,01	29,0	2,84	
5	Medina	65,75	18,80	1,74	A	19,38	11,25	0,58	1 430	0 %	42,89	19,4	4,65	
6	Kamobeul	12,00	20,42	62,45	LS	12,94	7,51	0,63	70	2,4	0	11,9	0,05	
7	Loudia	4,00	8,98	82,61	SL	35,82	20,79	1;34	69	3,0	0	15,5	0,05	
8	Oussouye	13,50	19,15	65,41	LS	25,84	15,00	1,12	83	3,2	0	13,3	0,06	
9	Dar-Salam	32,00	28,93	12,46	LA	26,69	15,49	4,35	1 690	0,8	41,85	3,5	4,50	
10	Djibelor	15,75	23,54	36,71	LAS	56,79	32,96	2,49	208	6,6	0	13,2	0,08	
11	Djibelor	21,00	32,84	39,33	L	40,13	23,29	1,48	53	0	4,13	15,7	0,72	
12	Djibelor	13,00	25,56	56,14	LS	20,33	11,80	0,81	244	0,6	0	14,5	0,11	
13	Niaguisse	36,00	25,61	31,09	$_{ m L~A}$	26,52	15,39	1,01	402	0	1,58	15,2	0,32	
14	Sibink	8,00	30,58	46,24	LS	15,90	9,23	0,49	95	1,2	0	18,8	0,08	
15	Goudomp	16,00	13,62	67,64	LS	15,39	8,93	0,63	84	5,7	0,80	14,1	0,11	
16	Bambato	5,75	24,00	41,77	LS	35,89	20,83	1,71	77	0	0	12,1	0,04	
17	Tanaff	26,00	23,28	32,05	LA	42,33	24,57	1,42	67	0	0	17,3	0,11	
18	Diango	32,00	26,10	32,66	LA	31,31	18,17	1,29	94	4,0	1,16	14,0	0,22	
19	Bounkilinn	38,50	30,83	17,97	A	39,37	22,86	1,48	74	0	0,96	15,4	0,19	
20	Kaolack	4,25	57,67	36,64	Lf	12,30	7,14	0,63	144	9,8	1,82	11,3	0,28	
21	Enanpor	25,50	7,89	57,84	LAS	27,55	15,99	0,78	426	0	13,47	20,5	1,84	
22	Medina	35,75	25,44	6,64	A	127,00	73,71	2,94	103	0	40,11	25,0	5,30	
23	Thiaroye	18,75	15,91	57,91	LAS	31,79	18,45	1,34	995	41,8	5,37	13,7	1,67	
24	Djibelor	31,50	29,00	32,70	LA	68,00	38,20	3,00	478	o o	0	12,7	0,11	
25	Ross-Bethio	60,50	20,15	10,55	A	22,98	13,34	0,76	162	0,5	1,24	17,5	0,29	
26	Boundoum	47,75	18,74	20,72	A	23,24	13,49	0,58	204	0	0,96	23,2	0,23	
27	Ntiagar	34,75	22,60	32,83	LA	12,03	6,98	0,59	86	0	0,62	11,8	0,19	
28	Keur-Diallo	27,50	26,09	37,79	LA	11,35	6,59	0,38	72	0	0	17,3	0,08	
29	Balingor	40,00	26,89	36,85	L A	15,80	9,13	0,35	86	0	7,35	26,1	0,99	
jl	l l									<u> </u>	11		l	

⁽¹⁾ Texture : A : argile, LA : limon argileux; LAS : limon argilo-sableux; LF : limon fin;

REVUE D'ÉCOLOGIE ET DE BIOLOGIE DU SOL

LS: limon sableux; SL: sable limoneux.

rité et le riz y est repiqué; dans la région du fleuve Sénégal, par contre, les rizières sont planes, plus étendues et le riz y est semé mécaniquement.

Nous avons prélevé 29 échantillons de sols de rizières bien représentatives; les échantillons ont été séchés à l'air et tamisés à 2 mm. L'analyse de leurs propriétés physiques et chimiques a été effectuée suivant les méthodes classiques d'analyse des sols (tableau I). Nous avons mesuré au laboratoire les variations hebdomadaires du pH et du Eh au cours de la submersion de tous les échantillons de sols incubés à 30° C sous une couche d'eau de 2 cm, pendant un mois.

Pour l'étude de l'influence de la rhizosphère du riz, la variété IR8 a été cultivée sur l'ensemble des échantillons de sols, dans des colonnes de terre en boîtes plates de matière plastique transparente (Dommergues et coll., 1969) à raison de 10 plants par boîte. Pour chaque sol, 2 boîtes sont plantées et une boîte non plantée constitue le témoin. Le sol a été maintenu par arrosage quotidien, à une humidité proche de la capacité au champ pendant 15 jours, puis engorgé par immersion pendant les 45 jours suivants. Pour expliquer les variations observées dans les différentes activités microbiennes, tous les résultats ont été soumis à une analyse statistique et plus précisément au test de corrélation des rangs de Spearman décrit par Bauzon et coll. (1969).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

I. — Variation du pH et du Eh au cours de la submersion.

Les résultats (tableau II) montrent que pour 6 sols (N° 1, 3, 5, 9, 22 et 29) le pH et le Eh ont très peu varié; il s'agit de sols acides, plus précisément d'anciennes mangroves aménagées pour la riziculture, à l'exception du sol N° 1 qui est très sableux et pauvre en carbone organique.

Pour tous les autres sols, le pH, acide au départ, augmente plus ou moins rapidement pour se stabiliser à une valeur supérieure à 6,0 tandis que le Eh diminue puis se fixe vers — 100 mV. Pour les sols N° 18 et 26, le pH qui est supérieur à 6,0 n'évolue pas au cours de la submersion. En appliquant le test de corrélation des rangs de Spearman, nous avons trouvé une corrélation inverse hautement significative entre le pH après 3 semaines de submersion et la teneur en chlorures des sols.

II. — Croissance du riz en vases de végétation.

La croissance a été exprimée par le poids sec du matériel végétal de l'ensemble des plants de riz obtenus (tableau III). Le riz n'a pas poussé sur les sols N°s 3, 4, 5, 6 et 29 où les graines ont été tuées par sulfato-réduction spermosphérique (voir § VI). Les sols N°s 1, 2, 13, 18 et 22 ont montré une croissance faible tandis que les meilleurs sols se révélaient être dans l'ensemble, ceux des stations expérimentales.

III. — Fixation potentielle de N_2 .

- 1. Fixation algale dans les sols de Casamance.
- Mesure de la fixation de N_2 :

Des échantillons de 2 g de sol séché à l'air sont introduits dans des fioles de 10 ml puis submergés sous une lame d'eau de 1 mm. Ces fioles, dont la moitié est

 ${\bf TABLEAU\ II}$ Variation du pH et du Eh au cours de la submersion

No.	Localité			pН			Eh (Volts)							
	Locante	initial 1 sen		2 sem.	3 sem.	4 sem.	initial	1 sem.	2 sem.	3 sem.	4 sem.			
1	Boutolat	5,2	6,2	5,6	5,9	5,2	+ 0,270	+ 0,165	+ 0,220	+ 0,230	+ 0,385			
2	Bignona	4,3	4,9	4,1	5,0	6,2	+0.395	+0,200	+0,230	+ 0,115	0,085			
3	Medina	4,0	3,2	2,7	3,0	3,2	+0,375	+0,380	+ 0,395	+0,400	+0,395			
4	Medina	4,3	4,7	4,9	5,0	5,7	+0,360	+0,105	+ 0,075	+ 0,060	-0,050			
5	Medina	4,2	3,4	3,35	3,35	3,5	+0,400	+0,355	+0,370	+0,365	+0,375			
6	Kamobeul	5,2	5,7	5.8	6,2	6,1	+0.370	-0.040	0,035	0,075	0,035			
7	Loudia	5,3	6,45	5,5	6,35	6,45	+0,350	0,040	0,005	0,055	0,055			
8	Oussouye	5,5	6,8	5,9	6,7	6,65	+0,360	0,135	0,110	0,145	0,130			
9	Dar-Salam	4,6	4,95	4,2	4,9	5,2	+0,375	0,080	+ 0,045	0,010	+ 0,090			
10	Djibelor	5,3	6,0	6,1	6,1	6,1	+0,370	0,100	0,105	0,155	0,085			
11	Djibelor	5,4	5,8	6,2	6,2	6,5	+0,345	0,060	0,140	0,135	0,150			
12	Djibelor	4,8	5,4	6,25	6,1	6,3	+ 0,400	+0,045	- 0,080	0,015	-0.050			
13	Niaguisse	4,6	5,1	6,2	6,4	6,55	+0,410	+ 0.030	-0,105	0,175	0,180			
14	Sibink	4,6	5,7	6,5	6,55	6,2	+0,435	-0.025	0,155	0,170	- 0,035			
15	Goudomp	4,7	5,4	6,0	6,4	6,4	+ 0,485	+0.145	0,065	0,155	-0,135			
16	Bambato	5,6	6,35	6,6	6,5	6,4	+0,415	-0.125	0,145	0,160	-0,120			
17	Tanaff	5,0	- 6,3	6,5	6,3	6,35	+0,495	0,095	— 0,100	-0,120	0,105			
18	Diango	4,8	5,3	6,2	6,3	6,4	+0,500	+0,270	-0,010	0,120	0,090			
19	Bounkilinn	4,5	4,3	5,5	5,8	6,05	+ 0,500	+0,400	+ 0,240	+ 0.030	0,040			
20	Kaolack	5,6	6,0	6,6	6,5	6,5	+0,450	0,015	0,120	0,150	0,165			
21	Enanpor	5,4	5,6	6,4	6,25	6,2	+0,445	+ 0,230	0,090	0,170	0,095			
22	Medina	4,5	3,65	4,6	4,45	4,3	+0,395	+ 0,310	+0,115	+ 0,110	+ 0,110			
23	Thiarove	4,6	4,75	6,0	5,95	5,9	+0,485	+0,275	-0,115	0,160	0,130			
24	Djibelor	4,3	5,4	5,9	6,0	6,0	+0,405	+ 0,095	- 0,035	0,045	0,045			
25	Ross-Bethio	4,6	5,6	6,0	6,1	6,05	+0,465	+ 0,185	0,050	0,080	0,105			
26	Boundoum	6,3	6,2	6,45	6,5	6,5	+ 0,385	+0,250	-0.025	0,085	0,100			
27	Ntiagar	5,4	6,0	6,2	6,4	6,4	+ 0,480	+ 0,225	+ 0,025	0,080	0,090			
28	Keur-Diallo	6,8	6,65	6,7	6,75	6,8	+0,380	+ 0,030	0,125	0,115	0,140			
29	Balingor	4,1	4,2	4.6	4,7	4,5	+0,450	+0,385	+0,275	+0,250	+0,325			

REVUE D'ÉCOLOGIE ET DE BIOLOGIE DU SOL

entourée de papier d'aluminium afin d'obtenir des témoins dans lesquels les algues ne se développent pas, sont placées pendant 21 jours dans un phytotron. Le niveau d'eau est régulièrement ajusté pour compenser les pertes par évaporation. A la fin de l'incubation, on effectue directement dans les fioles une mesure de réduction de l'acétylène (STEWART et coll., 1967). Pour chaque sol, 5 répétitions ont été faites. La fixation algale est mesurée par différence entre les fioles incubées à la lumière et celles incubées à l'obscurité.

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau III. Pour les sols étudiés, à l'exception du N° 1 très sableux, on n'observe pas de fixation algale en dessous de pH = 6.0 sous eau. Il ne semble pas exister de corrélation entre l'intensité de la fixation de N_2 et le pH du sol. Les fixations mesurées sont faibles, à l'exception du sol N° 13. A titre indicatif, une réduction de 10 nmoles de $C_2H_4/g/h$ correspondrait approximativement à une fixation de 60 kg de N_2 par hectare et par an si le sol, non planté, était placé constamment dans les conditions de submersion utilisées pour l'expérience, avec une période d'éclairement de $10 \, h/j$.

- Numération des cyanophycées :

La numération des cyanophycées a été faite par la méthode des suspensions-dilutions sur milieu de Watanabe (1959) qui renferme par litre : K_2HPO_4 , 0,3 g; MgSO₄, $7H_2O$, 0,2 g; CaCl₂, 0,05 g; FeCl₃, traces.

Le nombre de cyanophycées fixatrices de N_2 varie entre 0 et 6×10^6 par gramme de sol sec (tableau III). Le test de Spearman a été utilisé pour rechercher l'existence d'une corrélation entre la densité de ces organismes et le pH du sol. La corrélation est positive et hautement significative dans les trois cas étudiés : pH initial, pH après 3 semaines de submersion et pH intermédiaire. En ce qui concerne les sols submergés étudiés, la valeur pH = 5 mesurée après un mois d'incubation semble constituer la limite inférieure compatible avec la présence de cyanophycées. En effet, dans 3 sols de pH inférieur à 5,0, ces organismes étaient absents.

2. Fixation de N₂ par les bactéries libres dans la rhizosphère du riz.

L'expérimentation a porté sur 23 sols, le riz ne poussant pas dans les $N^{\circ s}$ 3, 4, 5, 21, 22 et 29. Pour chacun des sols, le dispositif expérimental suivant a été utilisé : microcolonnes de sol de 12×120 mm (tubes en pyrex) ensemencées avec une graine de riz IR8 prégermée pour le sol rhizosphérique et microcolonnes de sol non ensemencées pour le sol non rhizosphérique. La photopériode comportait 14 h d'éclairement à 20 000 lux. La fixation de N_2 a été estimée au 15° jour par la méthode de réduction de l'acétylène (Rinaudo et coll., 1971).

Les résultats obtenus (tableau III) ont été exprimés à la fois en nanomoles d'éthylène et en microgrammes de N_2 (1 nmole C_2H_4/h correspond à 0,224 µg N/j). Il a été en effet démontré que la fixation de N_2 pouvait être valablement estimée par la méthode de réduction de l'acétylène en se basant sur le facteur de conversion « C_2H_2 : $N_2=3$ » (Rinaudo et Dommergues, 1971). Aucune corrélation n'a pu être observée entre la fixation rhizosphérique de N_2 et les différentes caractéristiques physico-chimiques des sols. Il convient toutefois de faire les deux remarques suivantes (a) la fixation de N_2 dans la rhizosphère est très étroitement liée à la croissance de la plante qui dépend elle-même de la richesse du sol; (b) les sols N_2 s, 4, 5, 21, 22 et 29 sur lesquels le riz n'a pas poussé dans les conditions expérimentales, n'ont pas été retenus pour les recherches de corrélation. Si toutefois on tient compte de ces sols en leur attribuant une activité fixatrice nulle, une corrélation inverse et hautement significative peut être observée entre la fixation de N_2 et la teneur en chlorures.

IV. — Nitrification.

L'étude de l'azote nitrifiable a porté sur l'ensemble des sols; pour chaque sol, une série d'échantillons est mise en incubation pendant 7 semaines à 30° C en aérobiose, à l'humidité équivalente sans apport de substrat. Chaque semaine, 3 échantillons sont prélevés pour le dosage de la teneur en nitrates (méthode à l'acide 2-4 phénol-disulfonique). Les courbes représentatives de l'apparition des nitrates présentent une phase de latence plus ou moins longue, puis une zone d'activité maximale pour laquelle il est possible d'évaluer une vitesse maximum de nitrification et pour certaines d'entre elles, un maximum de production de N-NO₃.

Les résultats, rapportés au tableau III, ont été soumis au test de Spearman avec certaines données de l'analyse des sols. Les corrélations suivantes ont pu être ainsi établies (tableau VI) :

- une corrélation inverse faiblement significative entre la quantité de N-NO₃ obtenue après 7 semaines d'incubation et la conductivité des sols;
- une corrélation inverse faiblement significative entre la vitesse maximale de nitrification et la conductivité des sols;
- une corrélation inverse faiblement significative entre le délai d'apparition des nitrates et le pH des sols.

Dans les sols de rizières du Sénégal, l'azote nitrifiable semble donc dépendre de la salinité et du pH des sols : le délai d'apparition des nitrates est d'autant plus court que le pH est plus élevé et la vitesse de formation ainsi que la quantité produite sont d'autant plus élevées que la salinité est plus faible.

V. — Dénitrification.

Cette étude a porté essentiellement sur la mesure de la dénitrification potentielle des sols et la numération des bactéries dénitrifiantes.

- Mesure du potentiel dénitrifiant :

Nous désignons par potentiel dénitrifiant le temps nécessaire pour la dénitrification du maximum du nitrate ajouté.

Les mesures ont été effectuées à l'aide de la méthode manométrique de Warburg décrite par Mc Garity (1961); on a ajouté 100 ppm de N-NO₃ sous forme de KNO₃ à 25 g de sol ajusté à l'humidité équivalente et mis en incubation à 30° C dans des fioles de 130 ml environ, sous atmosphère d'azote très pur. Des mesures de pression sont effectuées toutes les 3 à 4 h pendant plusieurs jours.

Les valeurs du potentiel dénitrifiant des sols obtenues en faisant la moyenne de 3 répétitions, montrent une très grande diversité (tableau III); la durée totale de dénitrification varie entre 40 et 1 500 h, les temps élevés ayant été obtenus par extrapolation. Pour tenter d'expliquer ces variations, nous avons cherché à savoir si cette activité microbienne était en corrélation avec certaines données physicochimiques des sols. En attribuant le rang 1 au temps de dénitrification le plus court et aux données physico-chimiques les plus élevées, nous avons observé (tableau VI) :

— une corrélation positive hautement significative avec la teneur en carbone organique;

- une corrélation inverse hautement significative avec la conductivité et la teneur en chlorures ;
- une corrélation positive faiblement significative avec le pH obtenu après une semaine de submersion, correspondant au pH effectif lors de la dénitrification.

Il n'a pas été possible de mettre en évidence une corrélation entre le potentiel dénitrifiant et la teneur en argile des sols, contrairement à ce qui a été observé par REDMAN et PATRICK (1965) sur 26 sols hydromorphes de Louisiane.

Nous retrouvons donc pour les sols de rizières du Sénégal, des résultats déjà décrits dans la littérature concernant la dénitrification, avec cependant une précision supplémentaire relative à l'effet de la salinité.

- Numération des bactéries dénitrifiantes :

Le nombre de bactéries dénitrifiantes a été déterminé par la méthode du nombre le plus probable (MPN) de Mc Crady, en ensemençant 1 ml de chaque dilution de sol dans des tubes à essais de 12×120 mm contenant le milieu faiblement gélosé suivant : Na₂HPO₄, 12H₂O, 3,575 g; KH₂PO₄, 0,980 g; MgSO₄, 0,030 g; extrait de levure Difco, 1 g; bacto-peptone Difco, 1 g; succinate de sodium, 10 g; KNO₃, 10 g; bacto-agar Difco, 2 g; eau distillée q.s.p. 1 000 ml. Après ensemencement, on recouvre le milieu avec 2 à 3 ml d'agar mou à 5 p. mille et on met en incubation à 30° C pendant 15 jours. Les tubes sont comptés comme positifs lorsqu'il y a eu formation de bulles de gaz.

Le test de corrélation des rangs montre qu'il existe une corrélation positive faiblement significative entre le nombre initial de bactéries dénitrifiantes et le potentiel dénitrifiant des sols. Il semble que cette corrélation dépende essentiellement de la teneur en chlorures, car si le nombre de bactéries dénitrifiantes ne présente pas de corrélation avec la teneur en carbone organique, il présente, comme le potentiel dénitrifiant, une corrélation inverse hautement significative avec la teneur en chlorures.

Ceci nous a conduit à séparer les échantillons de sols en 2 classes distinctes suivant leur teneur en chlorures. Dans la classe des sols non salés (effectif 11), le potentiel dénitrifiant présente une corrélation uniquement avec la teneur en carbone organique : elle est positive et hautement significative. Par contre, dans la classe des sols salés (effectif 18), il présente une corrélation uniquement avec le nombre de bactéries dénitrifiantes : elle est positive et faiblement significative.

Enfin, le nombre initial de bactéries dénitrifiantes présente une corrélation positive hautement significative avec le pH après une semaine de submersion, ce qui confirme les conclusions de Valera et Alexander (1961).

VI. - Sulfato-réduction.

— Estimation de la sulfato-réduction :

Le riz a été cultivé sur l'ensemble des sols dans des boîtes plates en matière plastique décrites précédemment ; à la fin de la culture, nous avons noté, à travers les parois transparentes des boîtes, la présence et l'importance des tâches noires de sulfures autour des graines (sulfato-réduction spermosphérique), le long des

TABLEAU III

Croissance du riz et activités microbiennes des sols de rizières du Sénégal

Sols		CROIS- SANCE DU RIZ		FIXATION	DE N ₂		Аzот	E NITRIFIA	DÉNITRIFICATION		
		Mat. Vég.	CYANOP	HYCÉES	RHIZOSI	PHÈRE	ppm N-NO.	Vitesse		Temps den.	Germes
Ν°	Localité	poids sec en g	Fixation nmoles C ₂ H ₄ /g/h	Densité /g sol (log ₁₀)	nmoles C ₂ H ₄ /g/h	μg N /g/j	formés en 7 semaines	de nitri- fication ppm/100 h	latence en h	N-NO ₃ en h = Potentiel Dénitrifiant	
1	Boutolat	2,12	1,4	3,90	0,4	0,09	5,5	1,25	800	600	2,15
2	Bignona		0 1	2,15	3,0	0,67	10	2,25	800	200	4,48
~ 3	Medina		o l	n	0,0	0,07	14	3,50	800	650	1,70
4	Medina	1	0	2,04	0	0	21,5	5,50	800	200	4,23
5	Medina	*	o l	n	0	ő	2,5	0,30	800	> 1 500	1,90
6	Kamobeul	1	0,4	3,90	4,9	1,10	35	9,20	800	250	3,54
7	Loudia		o l	4,90	4,7	1,05	50	9,30	660	100	3,85
8	Oussouye		2,0	5,54	15,2	3,40	39	10,00	600	75	5,23
9	Dar-Salam		o [′]	n	0	0	n.d.	n.d.	n.d.	100	3,04
10	Djibelor		4,4	4,65	10,2	2,28	25	10,00	. 700	40	4,98
11	Djibelor		n.d.	n.d.	18,6	4,17	1,8	0,35	. 550	250	4,24
12	Djibelor	3,80	0	3,54	6,0	0,13	2,4	0,50	650	.350	4,40
13	Niaguisse		8,0	6,20	1,6	0,36	0	0 .	> 1200	200	4,11
14	Sibink		3,6	2,70	10,2	2,28	12	2,00	700	110	3,60
15	Goudomp	4,82	0,8	1,90	6,2	1,39	26	5,00	500	300	3,48
16	Bambato		0	6,78	2,2	0,49	14	3,00	700	70	3,85
17	Tanaff	7,85	n.d.	n.d.	8,1	1,81	15	3,00	800	110	4,48
18	Diango	2,42	0 -	4,30	1,3	0,29	32,5	7,00	500	220	4,98
19	Bounkilinn	2,60	0	2,40	8,8	1,97	3,3	0,30	400	90	3,95
20	Kaolack	3,90	0	2,90	11,5	$2,\!58$	15	1,30	200	750	3,95
21	Enanpor				0	0	1,8	0,35	550	500	3,40
22	Medina	1,82			0	0	n.d.	n.d.	n.d.	> 1 500	2,11
23	Thiaroye	6,00			0,2	0,04	58	9,00	400	110	3,98
24	Djibelor	6,20	' I		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	60	4,54
25	Ross-Bethio		n.d.	n.d.	13,5	3,02	10	2,60	800	180	5,15
26	Boundoum				21,4	4,79	23	4,00	200	180	5,40
27	Ntiagar				7,3	1,64	7	2,00	700	1 000	5,19
28	Keur-Diallo		}		10,1	2,26	n.d.	.n.d.	n.d.	260	5,34
29	Balingor	0			0	0	n.d.	n.d.	n.d.	750	2,54
		<u> </u>			<u> </u>	<u></u>	<u> </u>				

n: absence de cyanophycée, n.d.: non déterminé.

racines (sulfato-réduction rhizosphérique) et dans l'ensemble du sol planté ou non (sulfato-réduction diffuse).

Nous définissons le potentiel sulfato-réducteur par le pourcentage de plantes mortes après 60 jours, ayant succombé par sulfato-réduction spermosphérique pendant la germination ou par sulfato-réduction rhizosphérique pendant la croissance. Il a été vérifié que chaque graine morte est bien entourée d'une gaine de sulfure ferreux, et que les plantes mortes ont bien leurs racines couvertes de la même gaine. Pour exprimer les résultats, nous avons défini des échelles d'intensité de 0 à 5 (tableau V). Pour les différentes formes de sulfato-réduction, il a été tenu compte de pourcentage de survie des graines, ou de l'état de la plante, et de l'importance des taches de sulfures.

TABLEAU V

Échelle d'intensité de la sulfato-réduction et estimation du risque total (Potentiel sulfato-réducteur)

					Sulfato-réduction									
Critères choisis			lmag allaisis	Spermosphérique		Rhizosphérique	Diffuse	= Risque total estimé						
			eres choisis	Pourcentage de graines mortes en cours de germination		Pourcentage de plants morts en ours de croissance	Étendue des taches hors spermosphère et rhizosphère	Pourcentage de plants morts au 60° jour						
֓֟֟֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֟֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֓֟֓֓֓֓		0	absence de sulfures	0 0		croissance	aucune tache	0						
	sité	1		0 à 20	0	normale	taches petites et rares	0 à 20						
	Échelle d'intensité	2	sulfures en	20 à 50	0	croissance ralentie	taches petites et nombreuses	20 à 50						
	Échelle	3	quantités	50 à 80 80 à 100		croissance arrêtée	taches étendues	50 à 80						
		4	croissantes			0 à 50	taches très étendues	80 à 90						
		5				50 à 100	horizon noirci en totalité	90 à 100						

Les résultats obtenus sont rapportés dans le tableau IV. En appliquant le test de corrélation des rangs de Spearman entre, d'une part les intensités des différentes formes de sulfato-réduction et le potentiel sulfato-réducteur, et d'autre part, certaines propriétés physico-chimiques des sols, sont apparues les corrélations suivantes (tableau VI) :

[—] une corrélation positive faiblement significative entre la teneur en argile et les sulfato-réductions spermosphérique et rhizosphérique et le potentiel sulfato-réducteur :

- une corrélation inverse faiblement significative entre le pH initial et la sulfato-réduction spermosphérique, et hautement significative entre le pH initial et la sulfato-réduction rhizosphérique et le potentiel sulfato-réducteur;
- une corrélation positive faiblement significative entre la conductivité et les sulfato-réductions spermosphérique et rhizosphérique et le potentiel sulfato-réducteur :
- une corrélation positive faiblement significative entre la teneur en sulfate et la sulfato-réduction rhizosphérique et le potentiel sulfato-réducteur;
- une corrélation positive hautement significative entre les intensités des sulfato-réductions spermosphérique et rhizosphérique : les sols sensibles à la première forme le sont aussi à la seconde mais la réciproque n'est pas vraie.

Dans les sols de rizières de Casamance, l'intensité de la sulfato-réduction est à relier à l'origine pédologique : les sols les plus sensibles sont ceux qui ont été aménagés sur d'anciennes mangroves. Dans les sols du delta du fleuve Sénégal, formés sur alluvions fluvio-marines, la sulfato-réduction peut se manifester même dans des sols peu acides. Rappelons que des études préliminaires (Jaco, 1970) ont montré que la sulfato-réduction ne survient que dans des sols engorgés et suffisamment riches en sulfates. Signalons également que l'accumulation de sulfures produits par des bactéries sulfato-réductrices a été constatée *in situ* en 1971 : a) dans la spermosphère du riz semé dans le sol alluvial de Boundoum où elle a provoqué la mort de la totalité du semis, b) dans la rhizosphère du riz cultivé dans une rizière artisanale, récemment créée sur une ancienne mangrove à Balingor en Casamance où les jeunes plants ont rapidement péri.

Dans cette étude, la sulfato-réduction spermosphérique a été mise en évidence pour un tiers des sols testés. En Casamance, les pertes dues à cette forme de sulfato-réduction sont réduites car le riz est repiqué; par contre dans la région du fleuve Sénégal, les pertes peuvent être importantes puisque le riz est semé directement en place par des procédés mécaniques. La sulfato-réduction rhizosphérique est beaucoup plus fréquente et apparaît à des degrés divers dans presque tous les sols testés. La culture en « billons », comme elle est pratiquée en Casamance, permet de lutter efficacement contre la sulfato-réduction en maintenant une partie des racines au-dessus du niveau de la nappe.

— Numération des bactéries sulfato-réductrices :

Les bactéries sulfato-réductrices ont été dénombrées dans le milieu liquide de Starkey modifié par Abd-el-Malek (1958) et Pichinoty (1966) selon la méthode du nombre le plus probable (MPN).

Les résultats sont rapportés dans le tableau IV. En appliquant le test de corrélation des rangs, nous avons observé (tableau VI) :

- une corrélation positive hautement significative avec la teneur en argile :
 - une corrélation inverse hautement significative avec le pH initial;
 - une corrélation positive faiblement significative avec la conductivité;
- une corrélation positive hautement significative avec la teneur en sulfates ;
- une corrélation positive hautement significative avec la sulfato-réduction rhizosphérique et le potentiel sulfato-réducteur.

Le nombre de bactéries sulfato-réductrices est donc d'autant plus grand que le sol est plus argileux, plus riche en sulfates, plus salé et à pH plus bas.

VII. — Formation biologique du méthane.

Mesure du pouvoir méthanigène :

Pour déterminer le pouvoir méthanigène des sols, des fioles de 125 ml munies d'un robinet rodé, contenant 10 g de sol séché à l'air et 12 ml d'eau, sont remplies d'N₂ et préincubées 3 jours à 37° C, de façon à rétablir dans le sol les conditions réductrices favorables. On ajoute alors 10 ml d'eau et on incube à 37° C après avoir renouvelé l'atmosphère d'N₂ (t_o). La mesure du CH₄ formé est faite au chromatographe à ionisation de flamme, tous les jours pendant 8 à 12 jours. Les courbes de production de méthane étant linéaires, la pente permet de connaître l'activité méthanigène du sol (exprimée en mµl de CH₄ formé/g de sol sec/j). Pour chaque sol, deux répétitions sont suffisantes car la reproductibilité est bonne.

Les résultats sont rapportés dans le tableau IV. Nous avons constaté, en appliquant le test de corrélation des rangs, des corrélations inverses hautement significatives entre le pouvoir méthanigène et la conductivité, la teneur en chlorures, la teneur en argile et le rapport C/N (tableau VI). L'absence de corrélation avec la teneur en carbone organique est vraisemblablement due au fait que son influence est masquée par celles inverses des autres facteurs. En effet, si on élimine le facteur salinité en ne considérant que les 11 sols non salés, nous obtenons une corrélation positive hautement significative entre le pouvoir méthanigène et la teneur en carbone organique. En ce qui concerne le pH et le Eh, on observe une corrélation au stade d'une semaine; cette durée correspond sensiblement à celle de la mesure du pouvoir méthanigène.

KOYAMA et coll. (1970) ont montré l'influence inhibitrice de l'addition de sels sur la formation de méthane dans un sol non salé. De notre côté, nous constatons le même effet inhibiteur en comparant des sols provenant de biotopes naturels. En traçant des diagrammes, il nous a été possible de déterminer le seuil de salinité au-delà duquel la formation biologique du méthane ne peut être que très faible ou nulle, quelles que soient les autres conditions physico-chimiques. En utilisant la conductivité (mesurée à partir du sol séché à l'air et mis en suspension dans l'eau à raison de 10 g de sol pour 100 ml d'eau) comme indicateur de salinité, ce seuil se situerait entre 0.15 et 0.20 mmhos/cm.

- Numération des bactéries méthanigènes :

Pour la numération des bactéries méthanigènes, nous avons utilisé la technique récemment mise au point (RAIMBAULT, 1974) basée sur la détermination du nombre le plus probable (MPN); les dilutions de sol séché à l'air ont servi pour l'inoculation des tubes de culture, contenant un milieu riche à l'extrait de terre qui permet la meilleure croissance des germes. Après une incubation de 8 à 10 jours, 1 ml de l'atmosphère de chaque tube est injecté dans un chromatographe à ionisation de flamme qui permet de déterminer avec une grande certitude les tubes ayant montré une activité méthanigène.

Les résultats sont rapportés dans le tableau IV. En appliquant le test de corrélation des rangs, nous constatons qu'il existe, comme pour le pouvoir méthanigène, les mêmes corrélations en ce qui concerne la conductivité, la teneur en chlorures, la teneur en argile, le pH et le Eh à une semaine (tableau VI). Cependant, nous avons noté que la valeur des coefficients de corrélation obtenus est, en règle générale, plus élevée dans le cas des numérations. Il existe également une corrélation positive hautement significative entre le pouvoir méthanigène et le nombre de bactéries.

D'après les résultats que nous avons obtenus, il apparaît que le nombre de bactéries méthanigènes dans le sol est d'autant plus élevé que le pH est plus élevé

Tableau IV

Croissance du riz et activités microbiennes des sols de rizières du Sénégal (suite)

Sols		Sols CROISSANCE DU RIZ SULFATO-RÉDUCTION (1)									
		Mat. Vég.			Diff	USE	Potentiel sulfato-réduc-	Germes	Pouvoir	Germes	
N۰	Localité	poids sec en g	Spermos- phérique	Rhizos- phérique	Sol planté	Sol nu	teur = Risque total estimé	/g sol sec (log ₁₀)		/g sol sec (\log_{10})	
1 2	Boutolat	2,12 1,35	1 1	4 3	1 0	1	4	4,60 5,87	2 600	5,06 4,78	
3	Medina	0	4	5 .	Ö	. 1	5	4,94	0	2,00	
4	Medina	o I	3	5	1 1	$\overset{ au}{2}$	5	3,81	3	4,60	
5	Medina	Ŏ	5			1.	5	4,70	0	2,00	
6	Kamobeul	0	5		1 1	3	5	2,49	1 000	5,78	
7	Loudia	4,30	0	0	1	0	0	2,20	10 000	6,78	
8	Oussouye	4,39	0	3	····-1	1	2	3,45	8 000	6,30	
9	Dar-Salam	5,39	1	3	4	1	3	2,65	200	4,22	
10	Djibelor	7,06	0	1	1	2	0	3,28	13 000	5,22	
11	Djibelor	6,72	0	3	1	2	1	1,79	0	3,98	
12	Djibelor	3,80	0	1	0	1	1	2,45	20	5,06	
13	Niaguisse	1,33	0	2	1	1	2 .	3,17	40	5,78	
14	Sibink	3,95	0	1	1	1	0	3,60	1 500	5,60	
15	Goudomp	4,82	0	1	1	1	1	2,61	50	6,30	
16	Bambato	4,34	0	4	0	- 0	2	3,49	5 000	7,15	
17	Tanaff		0	0	2	0	0	2,61	15 000	6,60	
18	Diango		0	1	1	1	1	2,49	20	3,54	
19	Bounkilinn		0	2	1	1	1	3,15	1	4,22	
20	Kaolack	3,90	0	1	0	1	0	2,34	1	2,78	
21	Enanpor		.0	1	0	1	0	3,48	0	3,54	
22	Medina	1,82 .	0	1	1	1	1	2,85	1	2,48	
23	Thiaroye		0	4	2	5	3	3,97	20	2,48	
24	Djibelor	6,20	0	3	1	2	2	4,40	25 000	5,06	
25	Ross-Bethio		0	3	3	2	3	3,50	40	5,22	
26	Boundoum		1	2	3	0	3	5,59	5	4,40	
27	Ntiagar		0	1	1	1	1	2,50	1	3,06	
28	Keur-Diallo		3	2	1	0	4	2,34	1	3,06	
29	Balingor	0	5		-	0	5	4,41	n.d.	n.d.	

(1) Voir échelle d'intensité au tableau V.

n.d. : non déterminé.

وبا

ယ

Résultats du test de corrélation des rangs de SPEARMAN : corrélation positive hautement significative : P, faiblement significative : p corrélation négative hautement significative : N, faiblement significative : n absence de corrélation : A ; case vide : rs non calculé

		Teneurs en conduc-		1		El	n	Teneurs en		Rapport	Nombre de germes /g sol sec			Slufato- réduction			
		argile	CI-	SO ₄	tivité	initial	sem.	initial	sem.	c.o.	N	C/N	DEN (1)	BSR (2)	MET (3)	rhiz.	Dif.
	Par cyanophycées	A	A		A	A	Ą			A	A	e					
Fixation	Cyanophycées/g sol																
de N_2	sec	A	Α		A	Р	P			A	A						
	Rhizosphérique	A	N		N	A				A	A						
N-NO ₃	Produit en 7 sem Vitesse de forma-	A	A		n	A				A	A						
	tion	A.	\mathbf{A}		n	A				Α	A						į
	Délai de formation.	A	\mathbf{A}		A	n			ì	A	A						
Potentiel	Potentiel dénitrifiant		N		N	A	p			P	A	A	p				
	dénitrifiantes/g sol	A	N		N	A	P			A	A	A	0				
	Spermosphérique	p	A	A	p	n				A		A				P	A
Sulfato-	Rhizosphérique	р	\mathbf{A}	р	р	N				A		A		P		0	A
réduction	Diffuse		Α	A	A	A				A		A		A			0
Potentiel	sulfato-réducteur	p		p	p	N						A		P		·	
Bact. sulfato-réductrices/g sol		P	A	P	p	N		_		A		A		0			
Pouvoir méthanigène		N	N		N	A	P	A	N	A		N			p		
Bactéries méthanigènes/g sol		N	N		N	A	P	A	N	A		A			0		

⁽¹⁾ DEN : bactéries dénitrifiantes ; (2) BSR : bactéries sulfato-réductrices ; (3) MET ; bactéries méthanigènes.

et que la teneur en chlorures, la conductivité et le Eh sont plus faibles ; le pouvoir méthanigène est influencé de la même façon puisqu'il est en corrélation très étroite avec le nombre de bactéries. La teneur en carbone organique ne semble pas intervenir quand il s'agit de sols salés pour lesquels c'est plutôt le rapport C/N qui est important. Dans les sols non salés, par contre, la teneur en carbone organique influence fortement l'activité des bactéries méthanigènes mais pas leur densité.

CONCLUSION

Parmi les facteurs physico-chimiques étudiés, la teneur en carbone organique, le pH et la salinité ont une grande influence sur les différentes activités microbiennes des sols submergés.

Le fait que la matière organique facilement assimilable soit un facteur important n'est pas nouveau, mais il faut noter qu'elle intervient surtout dans les sols non plantés; en effet, l'apport d'exsudats racinaires par les plantes compense éventuellement le manque de substances carbonées assimilables par les microorganismes. Nous avons observé des corrélations positives dans le cas de la dénitrification et de la méthanogénèse, mais pas dans celui de la nitrification dont les germes responsables sont en majorité autotrophes.

Le pH est également un facteur important; il est en corrélation avec la densité des cyanophycées fixatrices de N_2 , avec l'activité nitrifiante et avec la densité et l'activité des bactéries dénitrifiantes et méthanigènes. Par contre, les sols acides sont favorables à la sulfato-réduction.

Parmi tous les facteurs physico-chimiques, la salinité semble jouer un rôle prépondérant dans les sols submergés car elle intervient dans la plupart des activités microbiennes : elle est défavorable à la fixation rhizosphérique de N_2 par les bactéries, à la nitrification, à la dénitrification et à la méthanogénèse ; seule la sulfato-réduction est favorisée dans les sols salés.

L'influence de la rhizosphère est également très importante. Nous avons pu montrer que la fixation rhizosphérique de N_2 par les bactéries est beaucoup plus importante que la fixation dans les sols non plantés, par les bactéries ou les cyanophycées. La sulfato-réduction est également beaucoup plus importante dans les sols plantés et elle est localisée essentiellement autour des graines et le long des racines.

En général, nous avons constaté que les sols qui supportent la meilleure croissance du riz sont ceux pour lesquels nous avons obtenu des activités bactériennes élevées en ce qui concerne la fixation de N₂, la nitrification, la dénitrification et la méthanogénèse, mais des activités sulfato-réductrices faibles.

RÉSUMÉ

L'étude comparative, pour 29 échantillons de sols de rizières du Sénégal, de l'influence des facteurs physico-chimiques et de la rhizosphère du riz sur différentes activités microbiennes, nous a permis de constater que :

- 1. La densité des cyanophycées fixatrices de N_2 est étroitement liée au pH des sols, le pH = 5 constituant une limite inférieure. La fixation de N_2 par les algues dans les sols non plantés est en général peu importante.
- 2. La fixation de N_2 par les bactéries libres de la rhizosphère du riz est ralentie par la salinité.
- 3. L'azote nitrifiable dépend de la salinité et du pH: quand le sol n'est pas submergé, l'apparition des nitrates est d'autant plus rapide que le pH est plus élevé; la vitesse de formation et la quantité de nitrates produits sont d'autant plus importantes que la salinité est plus faible.
- 4. Le potentiel dénitrifiant qui représente le temps nécessaire pour la dénitrification du maximum du nitrate ajouté, est en étroite corrélation avec la teneur en carbone organique, et en corrélation inverse avec la salinité. Une faible corrélation existe avec le nombre initial de bactéries dénitrifiantes.
- 5. La sulfato-réduction spermosphérique a été mise en évidence dans un tiers des sols testés et principalement sur d'anciennes mangroves. La sulfato-réduction rhizosphérique, beaucoup plus fréquente, est en étroite corrélation avec le nombre de bactéries sulfato-réductrices, comme le potentiel sulfato-réducteur qui est défini par le pourcentage de plantes mortes en 60 jours.
- 6. La densité et l'activité des bactéries méthanigènes sont d'autant plus importantes que le pH est élevé, et que la teneur en chlorures et le Eh sont faibles. Il existe une corrélation entre la densité des germes méthanigènes dans le sol et le pouvoir méthanigène.

SUMMARY

The influence of the physico-chemical properties and of the rhizosphere effect of rice on some microbial activities has been compared in 29 rice soils from Senegal.

- 1. The number of N_2 -fixing cyanophyceae was highly correlated with the soil pH, soils of pH below 5,0 being devoid of cyanophyceae; N_2 fixation by algae in bare soils was generaly low.
- 2. Non symbiotic N_2 -fixation by rhizosphere bacteria was depressed by increasing soil salinity.
- 3. In non waterlogged soils, nitrates appeared earlier in soils of high pH; the total amount and the rate of formation of nitrates were depressed by increasing salinity.
- 4. The denitrifying potential of soils, that is the time required for the denitrification of the highest amount of nitrate added, was highly correlated with the organic carbon content of the soil, and depressed by salinity. A low correlation was found between the denitrifying potential and the initial number of denitrifying bacteria:
- 5. Spermospherical sulfate-reduction occured in one third of the soils, especially in former mangrove soils; rhizosphere sulfate-reduction was more frequent. A high correlation was found between the initial number of sulfate-reducing bacteria and respectively the rhizosphere sulfate-reduction and the sulfate-reducing potential, defined as the percentage of plants dead out in 60 days.
- 6. The number and the activity of methane producing bacteria increased with soil pH and were reduced when the amount of chlorides or the redox potential raised. A Correlation was found between the number of methane forming bacteria and the methane production capacity.

REMERCIEMENTS

Les auteurs expriment leurs remerciements à MM. Y. Dommergues et M. Mouraret pour les conseils qu'ils leur ont prodigués, au personnel du Laboratoire de Chimie des Sols du Centre O.R.S.T.O.M. de Dakar pour l'analyse des divers échantillons de sols, ainsi qu'à MM. M. Boureau, W. Sy, P. Dupont, L. Fall et M. N'Dao pour leur collaboration technique.

REFERENCES

- ABD-EL-MALEK (Y.) and RIZK (S.C.), 1958. Counting of sulphate-reducing bacteria in mixed bacterial populations. *Nature*, **182**: 538-539.
- Bauzon (D.), Van den Driessche (R.) et Dommergues (Y.), 1969. L'effet litière; I. Influence *in situ* des litières forestières sur quelques caractéristiques biologiques des sols. *Oecol. Plant.*, 4: 99-122.
- CONNEL (W. E.) and PATRICK (W. H.), 1968. Sulphate-reduction in soil: effect of redox potential and pH. Science, 159: 86-87.
- Dommergues (Y.), Combremont (R.), Beck (G.) et Ollat (C.), 1969. Note préliminaire concernant la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin tunisien. Rev. Ecol. Biol. Sol. 6: 115-129.
- Jaco (V.), 1970. Recherches préliminaires concernant la sulfato-réduction rhizosphérique et la sulfato-réduction spermosphérique. Thèse doct. spéc. Fac. Sciences Nancy, publiée en 1971 par l'ORSTOM (doc. ronéo), 137 pages.
- Koyama (T.), Hishida (M.) and Tomino (T.), 1970. Influence of sea salts on the soil metabolism. II. On the gaseous metabolism. Soil Sci. Plant Nutr., 16: 81-86.
- Mc Garity (J.W.), 1961. Denitrification studies on some south australian soils. *Plant and Soil*, 14, 1: 1-21.
- OKUDA (A.) and YAMAGUCHI (M.), 1956. Nitrogen-fixing microorganisms in paddy soils. 2. Distribution of blue-green algae in paddy soil and the relationship between the growth of them and soil properties. Soil and Plant Food, 2: 47.
- Pichinoty (F.), 1966. Mesures de l'activité de quelques réductases de microorganismes. Oxidative phosphorylation and terminal electrons transport. Information Exchange Group N° 1, scientific memo n° 555, 1-13.
- RAIMBAULT (M.), 1974. Utilisation de la chromatographie en phase gazeuse pour la numération des bactéries méthano-formatrices. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) (à paraître).
- REDMAN (F. H.) and PATRICK (W. H. Jr.), 1965. Effect of submergence on several biological and chemical soil properties. Agric. Exp. Station Louisiana State Univ., Agric. Mech. Coll., Bul. N° 592, 1-28.
- RINAUDO (G.), BALANDREAU (J.) and DOMMERGUES (Y.), 1971. Algal and bacterial non symbiotic nitrogen fixation in paddy soils. *Plant and Soil*, **Special Volume**, 471-479.
- RINAUDO (G.) et DOMMERGUES (Y.), 1971. Validité de l'estimation de la fixation biologique de l'azote dans la rhizosphère par la méthode de réduction de l'acétylène. *Ann. Inst. Pasteur*, **121**: 93-99.

- Stewart (W. D. P.), Fitzgerald (G. P.) and Burris (R. H.), 1967. In situ studies on N_2 fixation using the acetylene reduction technique. Proc. Nat. Acad. Sci., 58, 5: 2071-2078.
- Valera (C. L.) and Alexander (M.), 1961. Nutrition and physiology of denitrifying bacteria. *Plant and Soil*, **15**: 268-280.
- WATANABE (A.), 1959. Distribution of nitrogen-fixing blue-green algae in various areas of south and east Asia. J. Gen. Appl. Microbiol., 5: 21-29.
- Yamane (I.), 1958. Metabolism in muck paddy soils. Part. 1. Formation of ammonium nitrogen and gases as the endproduct of microbial activity and its change by the pretreatment of soil. Sci. Rep. Res. Inst. Tohoku Univ., **D-Vol 9**, N° 1: 69-83.