

## Note préliminaire concernant la sulfato-réduction rhizosphérique dans un sol salin Tunisien

PAR

Y. DOMMERGUES (1), R. COMBREMONT (2), G. BECK (1),\*C. OLLAT (2)

### I. INTRODUCTION

L'utilisation de l'eau salée pour l'irrigation de certains sols salins d'Afrique du Nord et du Moyen-Orient pose de nombreux problèmes dont l'étude a été entreprise par le Centre de Recherches pour l'Utilisation de l'Eau Salée en Irrigation (CRUESI) en Tunisie depuis 1962 (VAN HOORN, 1966). Parmi ces problèmes, il en est un qui, jusqu'à ce jour, n'a pas encore été signalé : c'est celui du dépérissement brutal de diverses plantes (luzerne, fève, notamment). Ce dépérissement se manifeste seulement dans les sols engorgés, même temporairement, au début de périodes d'insolation intense succédant à des périodes de forte nébulosité. Certaines années, la diminution de rendement est faible ; mais parfois plus de 75 pour cent des plantes sont détruites.

Au cours d'une étude au champ effectuée en 1967, l'un de nous remarqua la présence d'une gaine noire de sulfure de fer sur les racines de luzerne dépérissante ; cette observation nous amena à émettre l'hypothèse d'une intoxication de la plante par l'hydrogène sulfuré produit dans la rhizosphère par une microflore sulfato-réductrice anormalement abondante et active.

Depuis les travaux de VAMOS (1959) et de nombreux auteurs de l'école japonaise, dont MITSUI et al. (1954), YAMADA et OTA (1958), TAKAI et KAMURA (1966), on sait que certains désordres dans la croissance du riz peuvent être dus à l'effet toxique sur le végétal de l'hydrogène sulfuré s'accumulant dans certains horizons très réducteurs du profil. Mais, à notre connaissance, jus-

\* Reçu le 14-1-69.

(1) C.N.R.S. - Nancy.

(2) U.N.E.S.C.O., C.R.U.E.S.I. - Tunis.

O. R. S. T. O. M. 2

Collection de Références

13933

qu'à présent, aucun chercheur n'a pensé que la sulfato-réduction pouvait être localisée à la rhizosphère.

Le but essentiel du présent travail a été précisément de vérifier si la sulfato-réduction pouvait être localisée à la rhizosphère. Dans une première phase, nous avons essayé de reproduire au laboratoire le phénomène observé *in situ* en plaçant le système *sol + plante* considéré dans un environnement identique à l'environnement naturel. Dans une deuxième phase, nous avons opéré sur un modèle simplifié constitué par l'ensemble *solution nutritive + plante + microflore totale*.

L'étude de l'éventuelle intoxication de la plante par l'hydrogène sulfuré produit dans la rhizosphère sera abordée ultérieurement.

## II. OBSERVATIONS CONDUITES IN SITU A LA STATION DE NAKTA

Cette station est située sur la côte Est de la Tunisie sur des alluvions récentes où la nappe phréatique salée se trouve à une profondeur de 3 à 6 m. Les tableaux I et II qui regroupent quelques-unes des caractéristiques chimiques du sol de cette station, indiquent qu'il s'agit d'un sol salin typique. La granulométrie est celle d'un sol à texture équilibrée, mais la densité apparente (1,71 dans l'horizon de surface) est anormalement élevée.

TABLEAU I

### Caractéristiques du sol salin de Nakta (Tunisie)

CARACTÉRISTIQUES CHIMIQUES		
pH .....	7,8	
Carbone .....	$5,0 \times 10^{-3}$	
Azote .....	$0,7 \times 10^{-3}$	
CARACTÉRISTIQUES PHYSIQUES		
Analyse granulométrique	Argiles ( $< 2 \mu\text{m}$ ) .....	$19,7 \times 10^{-2}$
	Limons fins (2-20 $\mu\text{m}$ ) .....	$15,3 \times 10^{-2}$
	Limons grossiers (20-50 $\mu\text{m}$ ) ....	$8,0 \times 10^{-2}$
	Sables fins (50-200 $\mu\text{m}$ ) .....	$50,5 \times 10^{-2}$
	Sables grossiers (200-2000 $\mu\text{m}$ ) ..	$4,5 \times 10^{-2}$
Densité apparente mesurée <i>in situ</i>	Horizon 0-10 cm .....	1,71
	Horizon 10-20 cm .....	1,65
	Horizon 20-40 cm .....	1,60

TABLEAU II

Caractéristiques de l'extrait de la pâte saturée du sol salin de Nakta (Tunisie)

pH .....	7,9								
Conductivité électrique mmho/cm (25° C).	12,9								
Anions (mé/l)	<table> <tbody> <tr> <td>Cl<sup>-</sup> .....</td> <td>92,7</td> </tr> <tr> <td>SO<sub>4</sub><sup>-</sup> .....</td> <td>65,1</td> </tr> <tr> <td>CO<sub>3</sub>H<sup>-</sup> .....</td> <td>2,5</td> </tr> </tbody> </table>	Cl <sup>-</sup> .....	92,7	SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> .....	65,1	CO <sub>3</sub> H <sup>-</sup> .....	2,5		
Cl <sup>-</sup> .....	92,7								
SO <sub>4</sub> <sup>-</sup> .....	65,1								
CO <sub>3</sub> H <sup>-</sup> .....	2,5								
Cations (mé/l)	<table> <tbody> <tr> <td>Ca<sup>++</sup> .....</td> <td>41,7</td> </tr> <tr> <td>Mg<sup>++</sup> .....</td> <td>23,6</td> </tr> <tr> <td>K<sup>+</sup> .....</td> <td>0,9</td> </tr> <tr> <td>Na<sup>+</sup> .....</td> <td>95,3</td> </tr> </tbody> </table>	Ca <sup>++</sup> .....	41,7	Mg <sup>++</sup> .....	23,6	K <sup>+</sup> .....	0,9	Na <sup>+</sup> .....	95,3
Ca <sup>++</sup> .....	41,7								
Mg <sup>++</sup> .....	23,6								
K <sup>+</sup> .....	0,9								
Na <sup>+</sup> .....	95,3								

L'examen du système racinaire des plantes atteintes par le dépérissement révèle rarement la présence de la gaine noire de sulfure de fer qui attirera notre attention lors de notre première étude *in situ*. En effet, les sulfures sont très fugaces et la gaine noire qui entoure les racines disparaît dès que les conditions écologiques définies plus haut ne sont plus réunies. Bien plus, les plantes qui ont échappé au dépérissement semblent se développer avec une vigueur accrue, cette dernière observation allant à l'encontre de l'hypothèse d'un dépérissement d'origine parasitaire qui avait été formulée antérieurement.

### III. MATÉRIEL EXPÉRIMENTAL ET MÉTHODES

#### 1. MATÉRIEL EXPÉRIMENTAL.

Le sol utilisé pour l'étude expérimentale au laboratoire provient de la station même de Nakta, où ont été faites les observations *in situ*. Ce matériel a été prélevé dans l'horizon 0-5 cm, puis très soigneusement homogénéisé et mis en stock en chambre froide (2° C environ) jusqu'à son utilisation. Dans une des expériences, nous avons utilisé, à titre de comparaison, un sol de même pH mais non salé (sol brun calcaire du Montet, est de la France), dont quelques caractéristiques figurent au tableau III.

Bien que les observations de terrain aient montré que, parmi les plantes cultivées à Nakta, la fève était la plus sensible, nous avons adopté pour notre étude expérimentale le maïs, pour deux raisons : 1) la graine est moins grosse (elle ne nécessite pas l'emploi de récipients spéciaux), 2) elle est facilement stérilisable (la graine de fève doit être décortiquée au préalable). Les premiers essais ont été effectués avec un maïs hybride, variété I.N.R.A. 260 ; les suivants l'ont été avec la variété I.N.R.A. 420. Dans nos expériences, les deux variétés se sont comportées sensiblement de la même manière.

TABLEAU III

Quelques caractéristiques du sol non salin : sol brun calcaire du Montet (est de la France)

pH .....		7,8
Carbone .....		$20,0 \times 10^{-3}$
Azote .....		$2,3 \times 10^{-3}$
Argile	(< 2 $\mu\text{m}$ ) .....	$31,4 \times 10^{-2}$
Limons fins	(2-20 $\mu\text{m}$ ) .....	$16,2 \times 10^{-2}$
Limons grossiers	(20-50 $\mu\text{m}$ ) .....	$11,3 \times 10^{-2}$
Sables fins	(50-200 $\mu\text{m}$ ) .....	$23,9 \times 10^{-2}$
Sables grossiers	(200-2000 $\mu\text{m}$ ) .....	$10,3 \times 10^{-2}$

## 2. STÉRILISATION DES GRAINES ; GERMINATION.

Pour stériliser les graines de maïs, on les trempe pendant 20 minutes dans une solution à 3 pour cent d'eau oxygénée à 110 volumes, additionnée d'une goutte de Teepol (LIE, 1964). Les graines sont ensuite transférées sans lavage dans des boîtes de Pétri où l'on a coulé au préalable 10 à 12 ml d'eau distillée gélosée à 2 pour cent stérile. Au bout de 3 ou 4 jours à la température du laboratoire, les plantules de maïs ont 1 à 2 cm de long ; bien entendu, les graines germées contaminées sont éliminées.

## 3. CULTURE DU MAIS DANS LE SOL.

### a) Culture dans le sol non stérile.

Le sol est placé dans des colonnes plates en chlorure de polyvinyle (fig. 1) de  $50 \times 15$  mm de section et de 100 mm de hauteur, fermées à la base et s'ouvrant latéralement pour permettre d'accéder facilement au système racinaire en fin d'expérience. Les colonnes sont remplies du sol à étudier, maintenu à une humidité correspondant sensiblement à la capacité au champ ; les graines germées sont déposées en surface. On laisse pousser la plante à la lumière naturelle pendant 14 jours. Puis l'on divise les colonnes en deux lots qui sont soumis aux niveaux d'humidité suivants :

1<sup>er</sup> lot : immersion des colonnes dans des récipients remplis de solution BÖRNER et RODEMACHER et tassement énergétique du sol ; on simule ainsi les conditions édaphiques régnant *in situ* dans le sol engorgé.

2<sup>e</sup> lot : maintien du sol à une humidité voisine de la capacité au champ : c'est l'absence d'engorgement.

Les arrosages sont effectués avec la solution minérale nutritive de BÖRNER et RODEMACHER.

## b) Culture dans le sol stérilisé.

Le sol est stérilisé par une irradiation gamma à la dose de 5 Mrads. Pour retarder la contamination par la surface du sol, on étale au-dessus de la graine, une couche de sable stérile.

## 4. CULTURE HYDROPONIQUE AXÉNIQUE DE MAIS.

La solution minérale nutritive utilisée est celle de BÖRNER et RODEMACHER, dont la composition est la suivante :

Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .....	0,5	g
KNO <sub>3</sub> .....	0,2	g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,2	g
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O .....	0,25	g
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O .....	0,073	g
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O .....	0,005	g
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> .....	0,002	g
Solutions d'oligoéléments * ..		1 ml
Eau distillée .....	q.s.q.	1000 ml

Le pH est ajusté à 7,0 avec de la soude N/10.

On répartit ce milieu dans des tubes de 22 × 220 mm, à raison de 15 ml par tube et on insère à la surface de la solution un bouchon de laine de verre destiné à soutenir les graines ; ce bouchon doit être assez lâche pour laisser les racines le traverser (CHALVIGNAC, 1958).

Les tubes sont ensuite stérilisés à 120° C pendant une demi-heure. Les graines stériles germées sont introduites stérilement. On protège la partie inférieure du tube contre la lumière par une feuille d'aluminium. L'on inocule alors la solution minérale de BÖRNER et RODEMACHER où le maïs a poussé pendant 7 jours avec une suspension-dilution de sol salé de Nakta conservé à 2° C. Cet inoculum apporte environ 100 bactéries sulfato-réductrices par tube. On applique alors au système différents traitements qui sont décrits plus loin.

## 5. CONDITIONS D'ÉCLAIREMENT ET DE TEMPÉRATURE.

Les essais ont été conduits en lumière naturelle, à deux époques différentes : mois de juin et juillet (photopériode longue ; temps clair) et au mois d'octobre (photopériode courte, temps couvert). La température a été celle du laboratoire (18 à 23° C). Ces expériences seront reprises ultérieurement dans des conditions d'éclairage et de température beaucoup mieux définies.

\* D'après POCHON et TARDIEUX (1962).

## 6. MÉTHODES ANALYTIQUES.

Les numérations de bactéries sulfato-réductrices ont été conduites sur le milieu classique de STARKEY, dont nous rappelons ici la formule (PICHINOTY, 1966) :

Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> .....	4 g
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O .....	2 g
NH <sub>4</sub> Cl .....	2 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .....	0,5 g
Extrait de levure Difco .....	1 g
Fe et Ca .....	traces
Solution commerciale à 60 % de lactate de sodium .....	10 ml
Eau q.s.p. ....	1 000 ml

Le pH est ajusté à 7,2 avec de la soude N/10. On stérilise à 120° C pendant une heure.

Les numérations d'*Azotobacter* ont été faites sur le milieu gélosé mannité décrit par POCHON et TARDIEUX (1962), l'ensemencement étant effectué par des suspensions de sol dont la dilution s'échelonne entre 10<sup>-1</sup> et 10<sup>-4</sup>.

Les numérations de *Clostridium* ont été faites sur le milieu liquide décrit par POCHON et TARDIEUX (1962) auquel on a ajouté de l'extrait de levure Difco à la dose de 2 pour mille.

Les bactéries ammonifiantes ont été dénombrées sur le milieu liquide de POCHON et TARDIEUX (1962) non modifié.

Par *densité absolue*, on entend ici la densité des cellules microbiennes vivantes exprimées en milliers par g de sol.

La *densité relative* d'une espèce microbienne donnée s'exprime, en général, comme suit :

$$\text{densité relative} = \frac{D}{MT} \times 100$$

où D représente la densité de l'espèce microbienne considérée et MT la densité de la microflore totale.

Mais, comme dans le sol la densité de la microflore ammonifiante est du même ordre de grandeur que la densité de la microflore totale et comme la numération de la microflore ammonifiante est beaucoup plus fidèle que celle de la microflore totale, nous avons préféré l'expression densité relative en fonction de la microflore ammonifiante :

$$\text{densité relative} = \frac{D}{A} \times 100$$

où D représente la densité de l'espèce microbienne considérée et A la densité de la microflore ammonifiante.

En consultant les tableaux IV et V, on verra que l'on a désigné les densités absolues des microorganismes étudiés par R (sulfato-réducteurs), C (*Clostridium*) et Z (*Azotobacter*) ; les densités relatives correspondantes sont donc :

$$\frac{R}{A} \times 100, \frac{C}{A} \times 100 \text{ et } \frac{Z}{A} \times 100.$$

Pour doser les sulfures, on a utilisé la méthode de CHAUDHRY et CORNFIELD (1966).

Les prélèvements de sol rhizosphérique dans les colonnes à ouverture latérale sont très faciles ; il suffit de récolter avec une fine spatule le sol qui se trouve dans un rayon de 2 à 3 mm autour des racines.

Les méthodes employées pour la caractérisation chimique et physique de sol salin étudié ici (tableaux I et II) sont classiques ; il ne semble donc pas nécessaire de donner les références correspondantes.

#### IV. RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

##### 1. EXPÉRIENCES CONDUITES DANS LE SOL (colonnes de chlorure de polyvinyle).

###### a) Étude de l'influence du type pédologique et de l'engorgement.

Une première série expérimentale (expérience 1), dont la fig. 1 représente un des blocs, a consisté à comparer la densité microbienne dans la rhizosphère du maïs I.N.R.A. 260 dans le sol salin de Nakta et dans le sol non salin utilisé à titre de témoin (sol brun calcaire du Montet) soumis à deux niveaux d'humidité, d'où les quatre traitements suivants :

*Traitement 1* : sol salin (Nakta) engorgé (immergé).

*Traitement 2* : sol salin (Nakta) non engorgé (maintenu à la capacité au champ).

*Traitement 3* : sol non salin (Montet) engorgé (immergé).

*Traitement 4* : sol non salin (Montet) non engorgé (maintenu à la capacité au champ).

L'expérience a été conduite à la lumière naturelle (mois de juin).

Au bout de 10 à 15 jours, on a observé dans la rhizosphère correspondant au traitement 1 l'apparition d'un précipité noir de sulfure ; mais dans les rhizosphères correspondant aux traitements 2, 3 et 4, ce phénomène ne s'est pas manifesté (fig. 1).

L'analyse du sol rhizosphérique a révélé les points suivants (tableau IV) :

α) L'engorgement du *sol salin* (sol de Nakta) entraîne une multiplication considérable des bactéries sulfato-réductrices. Elle exerce une action stimulante préférentielle sur ces microorganismes : leur densité relative passe de 0,06 à 7 pour cent. Parallèlement, la teneur en sulfures exprimée en S= est



FIG. 1. — Comparaison de l'influence de quatre traitements sur l'apparition de la sulfato-réduction rhizosphérique. De gauche à droite :  
*Traitement 1* : sol salin de Nakta *engorgé* (immergé et tassé)  
*Traitement 2* : sol salin de Nakta *non engorgé* (maintenu à la capacité au champ)  
*Traitement 3* : sol non salin (sol brun calcaire du Montet) *engorgé* (immergé et tassé)  
*Traitement 4* : sol non salin (sol brun calcaire du Montet) *non engorgé* (maintenu à la capacité au champ).

La sulfato-réduction rhizosphérique se manifeste seulement dans le cas du traitement 1 ; on note alors un ralentissement sensible de la croissance du maïs.

Influence of four treatments on rhizospheric sulfato-reduction. From left to right:

*Treatment 1*: waterlogged saline soil (partially submerged and compacted soil)

*Treatment 2*: non waterlogged saline soil (soil maintained at field capacity)

*Treatment 3*: waterlogged non saline soil (partially submerged and compacted soil)

*Treatment 4*: non waterlogged non saline soil (soil maintained at field capacity).

Rhizospheric sulfato-reduction (precipitation of ferrous sulphide along the roots) occurs only in treatment 1; then the growth of maize is perceptibly affected.



TABLEAU IV

Influence de l'engorgement sur la densité de la microflore sulfato-réductrice et de la microflore ammonifiante dans la rhizosphère de maïs cultivé dans le sol salin et dans le sol non salin de même pH

Influence of waterlogging on the density of sulfato-reducing and ammonifying germs in the rhizosphere of maize grown in the saline and the non saline soil of the same pH

	Groupes microbiens	Sol salin (saline soil)		Sol non salin (non saline soil)	
		engorgé waterlogged	non engorgé non waterlogged	engorgé waterlogged	non engorgé non waterlogged
		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.

Absolute density : R = number of sulfato-reducing bacteria per g of soil (in thousands)

Absolute density : A = number of ammonifying germs per g of soil (in thousands)

Relative density :  $\frac{R}{A} \times 100$

d'au moins 30 ppm alors que, dans le sol non rhizosphérique, elle est inférieure à 1 ppm.

β) Dans le sol non salin (sol brun calcaire du Montet) l'engorgement n'entraîne aucune modification significative des densités absolues et relatives des bactéries sulfato-réductrices.

Une expérience de contrôle (expérience 2), conduite dans les mêmes conditions confirme les résultats que l'on vient de relater (tableau V). L'engorgement accroît considérablement la densité absolue des bactéries sulfato-réductrices : celle-ci dépasse 1 million de germes par g de sol. L'accroissement de la densité relative est sensiblement le même que dans la première expérience : elle passe de 0,01 à 6 pour cent.

L'expérience 2 met, en outre, en évidence un fait remarquable : c'est la stimulation préférentielle des *Clostridium* fixateurs d'azote et des *Azotobacter* dans le sol rhizosphérique engorgé. L'accroissement de la densité absolue et relative de ces microorganismes est du même ordre de grandeur que l'accroissement observé pour les bactéries sulfato-réductrices.

TABLEAU V

Influence de l'engorgement sur la densité de quatre groupements microbiens dans la rhizosphère de maïs cultivé dans le sol salin (expérience de contrôle)  
 Influence of waterlogging on the density of four microbial groups in the rhizosphere of maize grown in the saline soil

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

N.B. — La définition de la *densité absolue* et celle de la *densité relative* sont données au tableau IV et dans le texte.

#### b) Vérification de l'origine biologique de la production de sulfures dans la rhizosphère.

Pour effectuer cette vérification, on a étudié l'apparition des sulfures dans la rhizosphère du maïs I.N.R.A. 420 cultivé dans le sol de Nakta immergé. Trois traitements ont été comparés :

*Traitement* ( $\alpha$ ) : sol stérilisé par irradiation ; système racinaire réinoculé avec une suspension-dilution  $10^{-1}$  de sol de Nakta.

*Traitement* ( $\beta$ ) : sol stérilisé par irradiation ; système racinaire recevant une suspension-dilution  $10^{-1}$  stérile de sol de Nakta.

*Traitement* ( $\gamma$ ) : sol non stérile.

Le précipité noir de sulfure de fer apparaît le long des racines dans le cas des traitements ( $\alpha$ ) et ( $\gamma$ ) mais pas dans le cas du traitement ( $\beta$ ).

#### c) Influence de l'éclaircissement sur l'intensité de la sulfato-réduction rhizosphérique.

La comparaison des précipités de sulfure de fer dans la zone rhizosphérique de plantes cultivées sous un fort éclaircissement (juin) et de plantes cul-

tivées sous un éclairage faible (octobre) souligne l'importance de ce facteur régissant l'exsudation racinaire (fig. 2). Bien entendu, il s'agit-là de résultats préliminaires qu'il conviendra de contrôler ultérieurement.

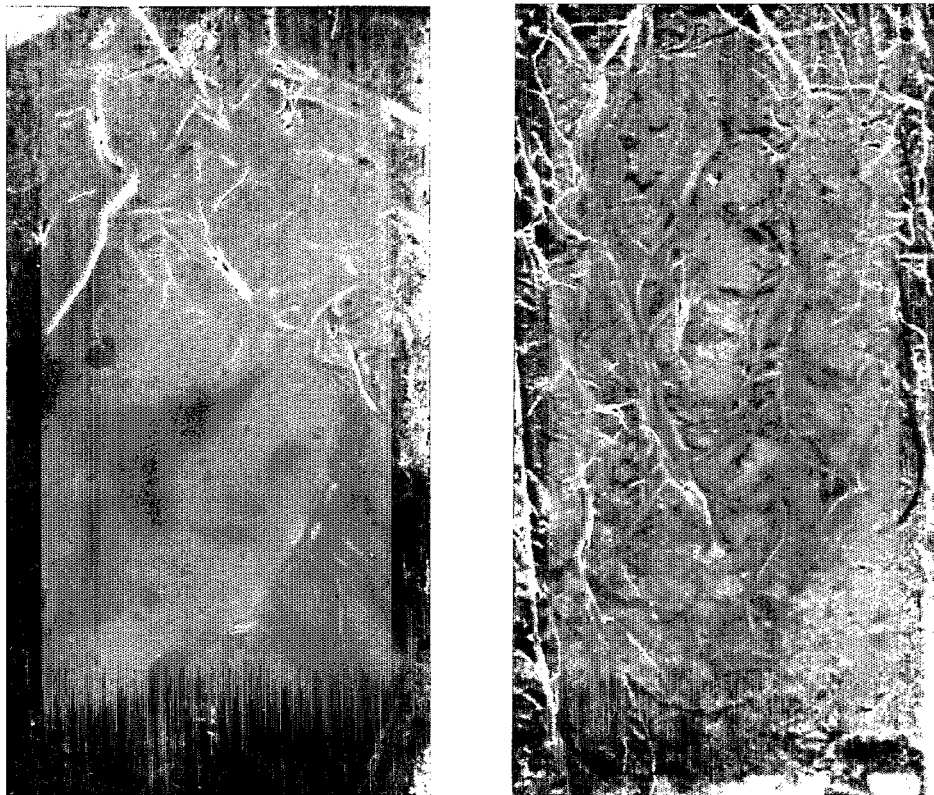


FIG. 2. — Influence des conditions d'éclairage naturel sur la sulfato-réduction rhizosphérique. A gauche : sulfato-réduction intense se manifestant au mois de juin (temps clair, photopériode longue) ; à droite : sulfato-réduction plus discrète se manifestant au mois d'octobre (temps couvert, photopériode courte).

Influence of natural light on rhizospheric sulfato-reduction. Left: intense sulfato-reduction occurs in June (bright weather, long photoperiod); right: rather discrete sulfato-reduction in October (cloudy weather, short photoperiod).

## 2. EXPÉRIENCE CONDUITE EN MILIEU LIQUIDE.

Des cultures hydroponiques axéniques de maïs de 7 jours, en tubes, ont été ensemencées avec une suspension-dilution  $10^{-1}$  de sol de Nakta. On a séparé les tubes en 3 lots. Dans le premier (traitement A) on a laissé la plante pousser normalement, le 1/5 supérieur du système racinaire étant exondé. Dans le 2<sup>e</sup> lot (traitement B), on a coupé la partie supérieure de la plante : seules sont restées dans le tube les racines excisées. Dans un troisième lot (traitement C), on a enlevé complètement la plante. Parallèlement, on a ense-

mencé, avec un inoculum identique, un milieu nutritif n'ayant porté aucune culture végétale (traitement D).

On a ainsi obtenu 4 séries de milieuxensemencés avec une micropopulation mixte renfermant 100 bactéries sulfato-réductrices par tube et l'on a étudié la multiplication des bactéries sulfato-réductrices dans ces milieux. Le tableau VI montre qu'après 13 jours d'incubation, les bactéries sulfato-réductrices se sont multipliées de façon explosive en présence des racines excisées (traitement B), beaucoup moins intensément dans les tubes contenant seulement les exsudats (traitement C) et moins encore en présence de la plante vivante (traitement A) ; dans le témoin (traitement D), la densité des bactéries sulfato-réductrices est restée stationnaire.

## V. DISCUSSION - CONCLUSION

L'étude expérimentale conduite dans le sol au laboratoire confirme l'hypothèse avancée à la suite des observations effectuées *in situ*, à savoir que *la rhizosphère peut être le siège d'une sulfato-réduction intense, même dans un sol ne présentant aucun horizon d'accumulation de sulfures.*

L'apparition de la sulfato-réduction dans la rhizosphère de plantes cultivées dans un *sol salin engorgé* s'explique par le fait que, lorsque ce type pédologique est soumis à une humidité excessive, toutes les conditions écologiques favorables au développement des bactéries sulfato-réductrices se trouvent réunies : pH neutre, richesse en sulfates, présence d'exsudats racinaires (qui renferment des substrats de choix) et surtout *anaérobiose totale*. L'absence d'oxygène dans la rhizosphère résulterait non seulement de la non-diffusion de ce gaz dans le sol (densité apparente très élevée du sol ; engorgement) mais aussi de l'intervention d'une microflore associée aérobie ou semi-anaérobie très active consommant les traces d'oxygène pouvant parvenir au niveau des racines. *L'accroissement considérable des densités absolue et relative des bactéries sulfato-réductrices observé lors de l'engorgement va de pair avec une activité sulfato-réductrice intense*, puisque l'on a trouvé 30 ppm de S= dans les rhizosphères où la densité des bactéries sulfato-réductrices est élevée.

Parallèlement à l'accroissement préférentiel de la micropopulation sulfato-réductrice, on observe un accroissement préférentiel des *Clostridium* fixateurs d'azote et des *Azotobacter*. La densité absolue très élevée de ces dernières bactéries ( $10^6$ ) rappelle les densités très fortes signalées dans des sols — sans doute pédologiquement très voisins — d'Égypte et du Maroc (ABD-EL-MALEK et ISHAC, 1962 ; BRYSSINE, 1964 ; VANCURA *et al.*, 1965).

Les observations préliminaires concernant l'éclairement suggèrent l'existence d'un lien étroit entre la sulfato-réduction et le facteur lumière. Mais, bien entendu, des recherches approfondies vont être entreprises pour élucider le rôle exact de ce facteur sur l'exsudation dans le milieu naturel considéré.

Quant à l'étude expérimentale *conduite en milieu liquide*, elle montre que la croissance des bactéries sulfato-réductrices en présence d'une micropopulation mixte complexe (micropopulation totale du sol) diffère considérable-

TABLEAU VI

**Multiplication des bactéries sulfato-réductrices dans la solution minérale de Börner Rodemacher soumise à divers traitements**

**Multiplication of sulfato-reducing bacteria in the Börner and Rodemacher's mineral solution submitted to the following treatments**

*Treatment A* : the entire plant is maintained in the tube (living plant)

*Treatment B* : the aerial part of the plant has been cut away (excised roots)

*Treatment C* : the entire plant has been taken away (only exudates)

*Treatment D* : no plant

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 par 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 racines 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

N.B. — La densité des bactéries sulfato-réductrices qui se sont multipliées en 13 jours dans le milieu classique pour sulfato-réducteurs (milieu de Starkey) est de 2.300 millions par ml.

ment suivant que cette croissance a lieu en présence de la plante vivante (tableau VI, traitement A), en présence des racines excisées (tableau VI, traitement B), ou en présence des exsudats seuls (tableau VI, traitement C). Ces premiers résultats prouvent qu'il faut être très prudent dans l'interprétation des expériences conduites avec des modèles de rhizosphère simplifiés.

On peut se demander pourquoi la sulfato-réduction rhizosphérique est restée inaperçue jusqu'à ce jour. Nous y voyons deux raisons majeures :

- 1) C'est un processus *localisé dans l'espace* (il est limité à la zone rhizosphérique).
- 2) C'est un processus fugace *localisé dans le temps*, donc difficile à observer *in situ* ; en effet, dès que l'état de l'anaérobiose se desserre quelque peu, les sulfures sont réoxydés et la couleur noire caractéristique du sulfure de fer disparaît.

Il est vraisemblable que la sulfato-réduction rhizosphérique, qui pourrait être à l'origine du dépérissement de diverses cultures dans des sols salins tunisiens, tels que celui de Nakta, se manifeste dans des nombreux autres sols salins de zone aride ou semi-aride et l'on entrevoit dès maintenant l'intérêt agronomique que présente le développement des recherches concernant ce phénomène.

#### RÉSUMÉ

Dans certains sols salins tunisiens, diverses plantes (fève, luzerne, notamment) dépérissent brusquement quand un engorgement, même de courte durée, dû à la pluie ou à une irrigation mal conduite, coïncide avec une période d'insolation intense succédant à une période de forte nébulosité. Bien que les sols considérés ne présentent aucun symptôme apparent de réduction anormalement élevée, nous avons émis l'hypothèse que le dépérissement des plantes était dû à leur intoxication par l'hydrogène sulfuré produit au niveau même de la rhizosphère par une microflore sulfato-réductrice très active.

Les analyses bactériologiques ont montré que, dans la rhizosphère de maïs cultivé sur un sol salin immergé et tassé (traitement qui simule les conditions de l'engorgement *in situ*), il y avait une multiplication préférentielle des bactéries sulfato-réductrices ainsi que des *Clostridium* fixateurs d'azote et des *Azotobacter* ; parallèlement, on a observé une production importante de S<sup>=</sup> (30 ppm) qui pourrait être à l'origine du dépérissement des plantes. La sulfato-réduction rhizosphérique n'avait pas encore été signalée jusqu'à présent, vraisemblablement en raison de la stricte localisation de ce processus dans l'espace et dans le temps.

Parallèlement à l'étude expérimentale conduite dans le sol lui-même, nous avons effectué des essais sur des cultures hydroponiques. Ces modèles simplifiés soulèvent des problèmes d'interprétation qui ont été rapidement évoqués.

#### SUMMARY

In some saline soils of Tunisia, various plants (namely *Vicia faba* and *Medicago sativa*) may die suddenly when waterlogging occurs at the beginning of periods of intense illumination following cloudy periods. Although the waterlogging period is usually very short and although the soils show no visible sign of low E<sub>h</sub>, it was suggested that the death of plants results from intoxication by H<sub>2</sub>S produced in the rhizosphere by a very active and dense sulfato-reducing microflora.

Bacteriological analyses showed that, in the rhizosphere of maize grown in a waterlogged saline soil, the growth of sulfato-reducing bacteria, *Azotobacter* and *Clostridium* was preferentially stimulated. At the same time, S= content of the rhizosphere soil reached 30 ppm. Assays with hydroponic rhizospheres did not always confirm results obtained with soil rhizospheres because hydroponic models are over-simplified experimental ecosystems.

The rhizospheric sulfato-reduction, which has been demonstrated in tunisian saline soils of Nakta type, occurs probably in many other saline soils of arid or semi-arid zones; but the phenomenon is not easily seen because it is very ephemeral. Owing to its agronomic importance, rhizospheric sulfato-reduction must be more carefully studied in the future.

#### REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier très vivement M. Y. MONTALANT, de la Station Centrale de Génétique et d'Amélioration des Plantes de l'I.N.R.A. à Versailles et la Société du Maïs angevin HODEE, à la Ménitric, qui nous ont fourni les semences de maïs.

Nos remerciements vont également à la Section de Radio-Agronomie du C.E.A. à Cadarache, qui a bien voulu se charger de l'irradiation du sol étudié, et à M. A. COMBEAU, qui a déterminé *in situ* la densité apparente du sol.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ABD-EL-MALEK (Y.), ISHAC (Y.Z.), 1962. — Abundance of *Azotobacter* in Egyptian soils. *8th International Congress for Microbiology, Montreal*, 57.
- BRYSSE (I.), 1964. — Note au sujet de l'activité microbiologique de quelques types de sols Doukkala. *Al Awamia*, **11**: 89-110.
- CHALVIGNAC (M. A.), 1958. — Effet rhizosphère comparé du lin en culture hydroponique et en terre. *Ann. Inst. Pasteur*, **95**: 474-479.
- CHAUDHRY (I. A.), CORNFIELD (A. H.), 1966. — Determination of sulphide in waterlogged soils. *Pl. Soil*, **25**: 474-478.
- LIE (T. A.), 1964. — Nodulation of leguminous plants as affected by root secretions and red light. *Thèse*, Wageningen.
- MITSUI (S. A.), KUMAZAWA (K.), ISHIWARA (T.), 1954. — The nutrient uptake of rice plants as influenced by hydrogen sulfide and butyric acid abundantly evolving under waterlogged soil condition. *5th Int. Congr. Soil Sci., Leopoldville*, **2**: 364-368.
- PICHINOTY (F.), 1966. — Mesure de l'activité de quelques réductases de microorganismes. *Information exchange group n° 1* (notice ronéotypée).
- POCHON (J.), TARDIEUX (P.), 1962. — Techniques d'analyse en microbiologie du sol. *Editions de la Tourelle*, Saint-Mandé.
- TAKAI (Y.), KAMURA (T.), 1966. — The mechanism of reduction in waterlogged paddy soil. *Folia Microbiol.*, **11**: 304-313.
- VAMOS (R.), 1959. — « Brunose » disease of rice in Hungary. *Pl. Soil*, **11**: 65-77.
- VAN HOORN (J. W.), 1966. — Recherches sur l'utilisation de l'eau salée en irrigation en Tunisie. *Nature et ressources*, **2**: 3-7.
- VANCURA (V.), ABD-EL-MALEK (Y.), ZAYED (M. N.), 1965. — *Azotobacter* and *Beijerinckia* in the soils and rhizosphere of plants in Egypt. *Folia Microbiol.*, **10**: 224-229.
- YAMADA (N.), OTA (Y.), 1958. — *Soils Fertil.*, **22**: résumé n° 1935.