

UNIVERSITE DU QUEBEC

THESE

présentée

à

L'INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (EAU)

comme exigence partielle

de la

maîtrise ès Sciences (eau)

par

DENYSE GOUIN

"L'INFLUENCE DE L'INONDATION

D'UN SOL SUR LES BACTERIES

TELLURIQUES ACTIVES DANS

LE CYCLE DE L'AZOTE"

Décembre 1974

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire de maîtrise. Nous tenons à souligner en particulier le travail du Dr Simon Visser sans qui le choix du sujet du mémoire et sa réalisation n'auraient pas été possibles. De plus, nous remercions monsieur Bernard Bobée pour son inestimable concours pour la partie "statistiques" et pour ses précieux conseils d'ordre général. Nous voulons également remercier le Dr Pierre Campbell dont la participation s'est manifestée au niveau de l'interprétation des résultats des analyses chimiques de l'eau et du contenu global de cet ouvrage. De plus, nous tenons à remercier Monsieur Guy Longpré et le personnel des laboratoires des Services de Protection de l'Environnement qui ont effectué les analyses chimiques de l'eau, de même que le Dr A. Gonzalez, du département de foresterie de l'Université Laval, dont l'équipe a effectué les analyses chimiques du sol. Finalement, nous voulons souligner la coopération obtenue de la part du personnel du laboratoire de l'INRS-Eau, en particulier de mademoiselle Michèle Geoffroy. En tout dernier lieu, nos plus sincères remerciements vont à madame Odette Roy, secrétaire, et monsieur André Parent, dessinateur, qui ont bien voulu participer à la réalisation de cet ouvrage.

TABLE DES MATIERES

	Page
REMERCIEMENTS.....	ii
TABLE DES MATIERES.....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	x
1. INTRODUCTION.....	1
1.1 La fixation de l'azote moléculaire.....	2
1.1.1 La fixation chimique.....	2
1.1.2 La fixation symbiotique.....	4
1.1.3 La fixation par les bactéries libres.....	4
1.1.3.1 <u>Azotobacter</u>	5
a) pH.....	5
b) Température.....	5
c) Oxygène.....	7
d) Nutrition carbonée.....	7
e) Nutrition azotée.....	8
f) Eléments essentiels.....	9
g) Inhibiteurs.....	10
h) Présence dans le sol.....	10
1.1.3.2 <u>Clostridium</u>	12
a) pH.....	12
b) Température.....	12
c) Oxygène.....	12
d) Nutrition carbonée.....	13

	Page
e) Nutrition azotée.....	13
f) Eléments essentiels.....	13
g) Présence dans le sol.....	14
1.2 L'ammonification.....	14
1.3 La nitrification.....	19
1.3.1 pH.....	19
1.3.2 Température.....	19
1.3.3 Oxygène.....	21
1.3.4 Nutrition.....	21
1.3.5. Eléments essentiels.....	21
1.3.6 Inhibiteurs.....	22
1.3.7 Présence dans le sol.....	22
1.3.8 Nitrification hétérotrophe.....	23
1.3.9 Destin de l'azote nitrique.....	23
1.4 La dénitrification.....	24
1.4.1 pH.....	26
1.4.2 Température.....	26
1.4.3 Oxygène et humidité.....	26
1.4.4 Besoins.....	27
1.4.5 Eléments essentiels.....	27
1.4.6 Inhibiteurs.....	27
1.4.7 Présence dans le sol.....	28
1.5 Influence de l'inondation sur le sol.....	28
1.6 Teneur d'un sol en azote.....	33

	Page
2. CHOIX DE L'EXPERIENCE.....	35
3. MATERIEL ET METHODES.....	42
3.1 Le sol.....	42
3.2 L'eau.....	43
3.3 Description des expériences.....	44
3.4 Méthodes analytiques.....	48
3.4.1 Analyses chimiques de l'eau.....	48
a) Azote ammoniacal.....	48
b) Azote total.....	48
c) Nitrites.....	49
d) Nitrates.....	49
e) Ortho-phosphates.....	49
f) Phosphates totaux inorganiques.....	50
g) Carbone organique (TOC) et carbone inorganique (TIC).....	50
3.4.2 Analyses microbiologiques du sol.....	51
a) Fixateurs aérobies.....	52
b) Fixateurs anaérobies.....	53
c) Germes protéolytiques.....	53
d) Ammonificateurs.....	53
e) Ferments nitreux.....	54
f) Ferments nitriques.....	54
g) Dénitrificateurs.....	54
3.4.3 Analyses du sol.....	55
a) Matière organique.....	55
b) Azote.....	55

	Page
4. INTERPRETATION DES RESULTATS.....	56
4.1 Etude chimique de l'eau.....	56
4.1.1 Colonne I.....	56
4.1.2 Colonne II.....	64
4.1.3 Colonne III.....	71
4.1.4 Colonne IV.....	75
4.1.5 Colonne V.....	82
4.1.6 Colonne VI.....	85
4.1.7 Colonne VII.....	90
4.1.8 Colonne VIII.....	93
4.2 Etude statistique.....	97
4.2.1 Remarques générales.....	101
4.2.2 Test de Student.....	101
4.2.3 Test de signification du coefficient de corrélation	103
4.2.4 Résultats.....	104
4.3 Etude microbiologique.....	124
4.3.1 Colonne I.....	125
4.3.2 Colonne II.....	129
4.3.3 Colonne III.....	130
4.3.4 Colonne IV.....	132
4.3.5 Colonne V.....	132
4.3.6 Colonne VII.....	133
4.3.7 Remarques générales.....	133
4.4 Etude du sol.....	135
4.5 Discussion.....	137

Page

SOMMAIRE..... 147

BIBLIOGRAPHIE..... 150

LISTE DES TABLEAUX

		Page
1.	Organismes fixateurs d'azote moléculaire.....	6
2.	Présence d' <u>Azotobacter</u> dans le sol.....	11
3.	Organismes nitrifiants.....	20
4.	Organismes dénitrifiants.....	25
5.	Description des conditions expérimentales.....	45
6.	Jours de prélèvements pour les analyses microbiologiques.....	47
7.	Test d'égalité des moyennes.....	105
8.	Egalité des moyennes (eau pure).....	108
9.	Egalité des moyennes (eau polluée).....	110
10.	Corrélations pour l'azote ammoniacal entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.....	113
11.	Corrélations pour l'azote organique entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.....	114
12.	Corrélations pour les nitrites entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.....	115
13.	Corrélations pour les nitrates entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.....	116
14.	Corrélations pour le carbone organique entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.....	117
15.	Corrélations pour le carbone inorganique entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.....	118
16.	Corrélations pour les ortho-phosphates entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.....	119

	Page
17. Corrélations pour le pH entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.....	120
18. Corrélations pour la conductivité entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.....	121
19. Corrélations significatives entre les séries pour les différents paramètres.....	122
20. Distribution des différentes espèces bactériennes dans le sol des colonnes.....	126
21. Pourcentage de matière organique volatile à 550°C et pourcentage d'azote total contenus dans le sol des différentes colonnes.....	136

LISTE DES FIGURES

		Page
1.	Le cycle de l'azote.....	3
2.	Schéma d'une colonne.....	38
3.	Schéma des colonnes A et B.....	41
4.	Colonne I (eau pure, 20°C); concentration des différentes formes d'azote en solution.....	57
5.	Colonne I (eau pure, 20°C); concentration des différentes formes de carbone en solution.....	61
6.	Colonne I (eau pure, 20°C); variation du pH et de la conductivité dans la solution.....	63
7.	Colonne II (eau polluée, 20°C); concentration des différentes formes d'azote en solution.....	65
8.	Colonne II (eau polluée, 20°C); concentration des différentes formes de carbone en solution.....	68
9.	Colonne II (eau polluée, 20°C); variation du pH et de la conductivité dans la solution.....	69
10.	Colonne II (eau polluée, 20°C); concentration des différentes formes de phosphore en solution.....	70
11.	Colonne III (eau pure, alternance); concentration des différentes formes d'azote en solution.....	72
12.	Colonne III (eau pure, alternance); concentration des différentes formes de carbone en solution.....	74
13.	Colonne III (eau pure, alternance); variation du pH et de la conductivité dans la solution.....	76
14.	Colonne IV (eau polluée, alternance); concentration des différentes formes d'azote en solution.....	77

	Page
15. Colonne IV (eau polluée, alternance); concentration des différentes formes de carbone en solution.....	79
16. Colonne IV (eau polluée, alternance); variation du pH et de la conductivité dans la solution.....	80
17. Colonne IV (eau polluée, alternance); concentration des différentes formes de phosphore en solution.....	81
18. Colonne V (eau pure, 4 ^o C); concentration des différentes formes d'azote en solution.....	83
19. Colonne V (eau pure, 4 ^o C); concentration des différentes formes de carbone en solution.....	84
20. Colonne V (eau pure, 4 ^o C); variation du pH et de la conductivité dans la solution.....	86
21. Colonne VI (eau polluée, 4 ^o C); concentration des différentes formes de carbone en solution.....	87
22. Colonne VI (eau polluée, 4 ^o C); concentration des différentes formes d'azote en solution.....	88
23. Colonne VI (eau polluée, 4 ^o C); variation du pH et de la conductivité dans la solution.....	89
24. Colonne VI (eau polluée, 4 ^o C); concentration des différentes formes de phosphore en solution.....	91
25. Colonne VII (eau pure, anaérobiose); concentration des différentes formes d'azote en solution.....	92
26. Colonne VIII (eau polluée, anaérobiose); concentration des différentes formes de carbone en solution.....	94
27. Colonne VII (eau pure, anaérobiose); variation du pH et de la conductivité dans la solution.....	95

	Page
28. Colonne VIII (eau polluée, anaérobiose); concentration des différentes formes d'azote en solution.....	96
29. Colonne VIII (eau polluée, anaérobiose); concentration des différentes formes de carbone en solution.....	98
30. Colonne VIII (eau polluée, anaérobiose); variation du pH et de la conductivité dans la solution.....	99
31. Colonne VIII (eau polluée, anaérobiose); concentration des différentes formes de phosphore en solution.....	100

1. INTRODUCTION

Au Québec, l'écoulement de nombreux cours d'eau est régularisé par la construction de barrages. Ces structures entraînent la formation de réservoirs qui peuvent être utilisés à des fins diverses, dont l'alimentation en eau potable et la récréation. Ces utilisations dépendent toutefois de la qualité de l'eau, un facteur qui a souvent été négligé dans le passé lors de la conception des barrages.

L'immersion d'une région terrestre amène des modifications du régime du sol et des eaux, ce qui a pour conséquence d'altérer la qualité de ces dernières. Dans le sol, les processus biologiques et chimiques sont influencés par l'augmentation de l'humidité, la diminution de la teneur en oxygène et les autres altérations causées par l'inondation. Cette influence se manifeste au niveau de la composition de la microflore tellurique et de son activité.

Le but de cette étude est de connaître les changements qui se produisent dans un sol inondé et de les relier à la qualité de l'eau sus-jacente. Pour ce faire, nous utilisons un modèle qui sera décrit plus loin. Notre intérêt se porte surtout sur les bactéries du sol actives dans le cycle de l'azote et sur les métabolites de cet élément que l'on retrouve dans l'eau.

L'azote moléculaire constitue 79 pour cent de l'atmosphère; au-dessus de chaque hectare de la surface du globe, se trouvent 78,400,000 kilogrammes d'azote. Cet azote n'est cependant pas immédiatement disponible pour les plantes et les animaux qui ne peuvent l'assimiler sous cette forme. L'azote moléculaire doit d'abord subir certaines transformations qui sont

effectuées en grande partie par les micro-organismes telluriques; ces transformations font partie du cycle de l'azote.

La figure 1 illustre le cycle de l'azote. Nous envisagerons maintenant de manière détaillée chacun des principaux processus impliqués:

- la fixation de l'azote moléculaire
- l'ammonification
- la nitrification
- la dénitrification

Nous décrirons ensuite l'influence de l'inondation d'un sol sur ces processus et nous présenterons finalement quelques données quantitatives sur la teneur en azote des sols.

1.1 La fixation de l'azote moléculaire

L'azote de l'air est mis à la disposition des plantes par trois moyens d'importance inégale: la fixation chimique, au rôle limité, l'assimilation par les bactéries symbiotiques des légumineuses et de quelques autres plantes, dont l'importance peut être considérable, et enfin, l'assimilation par les microorganismes libres du sol, probablement moins importante que la précédente, mais plus intéressante dans le cadre de cette étude.

1.1.1 La fixation chimique

Tel qu'il existe dans l'atmosphère, l'azote est un gaz inerte qui peut cependant être fixé grâce à des phénomènes d'ionisation tels que les radiations cosmiques et les éclairs. Ces phénomènes produisent d'une façon momentanée l'énergie nécessaire à la réaction entre l'azote moléculaire et l'oxygène ou l'hydrogène de l'eau (Delwiche, 1970).

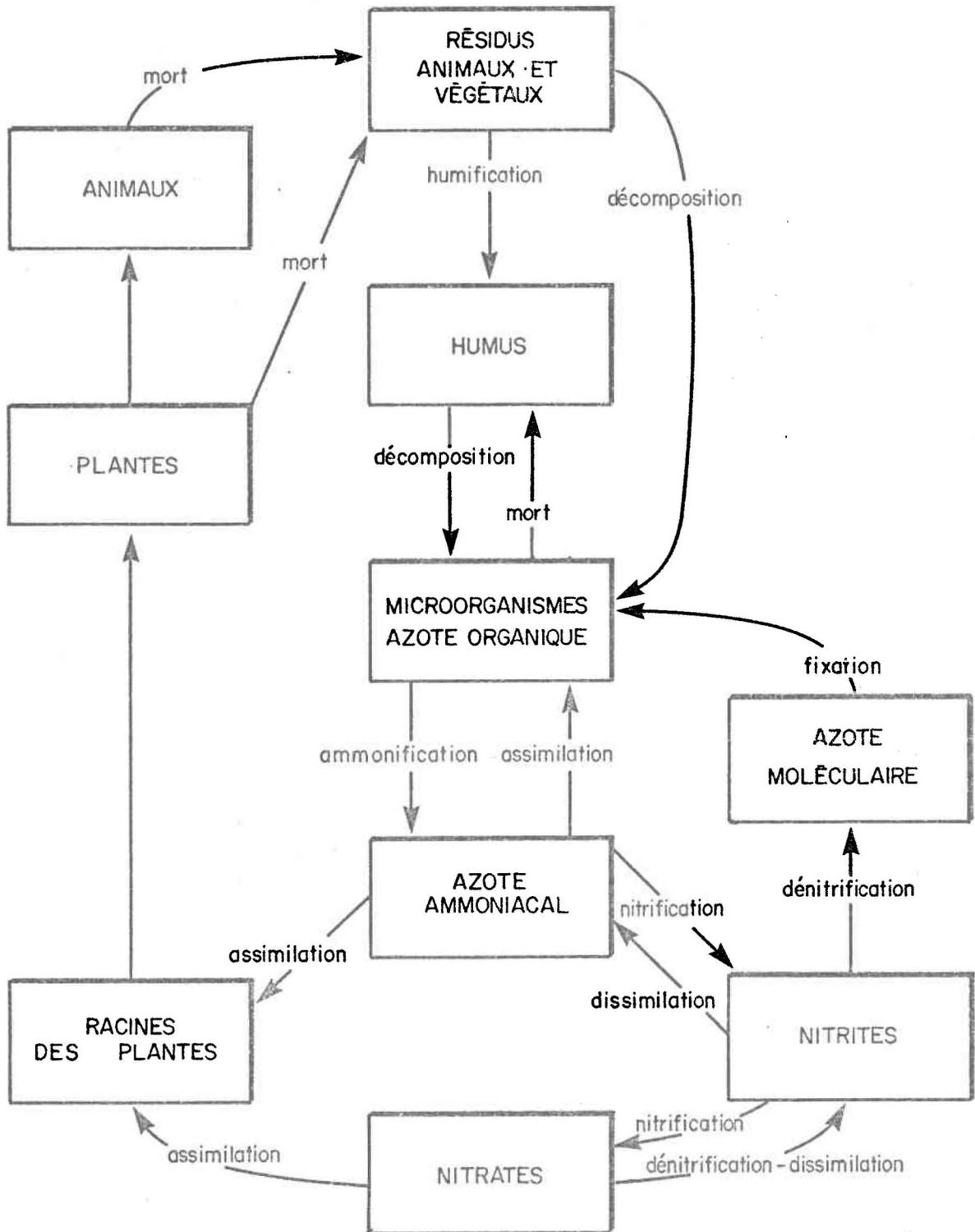


Fig. 1 . Le cycle de l'azote (tiré de Campbell et Lees, 1965.) .

1.1.2 La fixation symbiotique

La fixation symbiotique avec les légumineuses est due au Rhizobium. Il existe plusieurs espèces de Rhizobium, chacune étant capable de symbiose avec un ou des types définis de légumineuses. La symbiose entre la bactérie et la plante se crée de la manière suivante: au voisinage des racines, on observe une stimulation de la prolifération des Rhizobium qui vivent libres dans la rhizosphère. D'autre part, à l'approche des Rhizobium, les poils absorbants de la plante s'ondulent et se déforment, permettant ainsi la pénétration des bactéries Rhizobium qui, en temps normal, ne peuvent attaquer la cellulose. Les bactéries passent alors du poil au cortex, puis envahissent les cellules qui s'hypertrophient. Les nodosités croissantes se chargent alors d'un pigment rose, la lég'hémoglobine, sécrétée par la plante. Les Rhizobium présents dans les nodules et alimentés en matière organique par la plante, peuvent alors fixer l'azote atmosphérique et sécréter dans les cellules hôtes l'ammonium et les composés aminés qu'elles forment à partir de l'azote atmosphérique. La combinaison de la légumineuse, des Rhizobium et des nodules est essentielle pour la fixation symbiotique.

Des nodules se rencontrent aussi sur des plantes non-légumineuses; ils sont cependant beaucoup plus volumineux. Le symbiote responsable de la fixation n'est pas connu exactement. Ce peut être une bactérie ou un champignon. La fixation d'azote grâce à cette symbiose aboutit à la formation d'acide aspartique et d'acide glutamique et aussi d'acide γ -amino-butyrique, de citrulline et d'un peu d'ammonium libre. Ce deuxième type de fixation symbiotique n'a probablement qu'une importance biologique secondaire.

1.1.3 La fixation par les bactéries libres

La liste des microorganismes capables d'effectuer la fixation de

l'azote moléculaire est très longue. Elle comprend des organismes variés dont quelques-uns sont présentés dans le tableau 1.

Les espèces fixatrices libres les mieux connues sont Azotobacter et Clostridium. C'est aussi la fixation par ces deux espèces qui fera l'objet de notre étude.

1.1.3.1 Azotobacter

On reconnaît généralement deux espèces principales fixatrices d'azote en aérobiose: Azotobacter chroococcum et Azotobacter agile (Pochon et de Barjac, 1958). Certains auteurs ont proposé d'autres espèces telles A. macrocytogenes (Jensen, H.L., 1955), A. insigne (Jensen, V., 1955), A. vinelandii (Heller, 1969) et A. beijerinckii (Baillie et al., 1962). Nous rappellerons l'influence de certains paramètres sur la croissance d'Azotobacter.

a) pH

In vitro, le pH optimum pour la croissance d'Azotobacter est de 7.2 à 7.6. La limite maximum est de 9.0 et quelques souches croissent à des pH aussi bas que 5.0 (Jensen, H.L., 1955). Dans le sol, le pH doit être, en général, égal ou supérieur à 6.0 (Meiklejohn, 1964), bien que certaines souches aient été isolées de sols plus acides, notamment de sols forestiers (Heller, 1969). Quant à l'influence qu'exerce le pH sur le processus de fixation, elle est peu connue.

b) Température

In vitro, la température optimum de croissance est de 28 à 30°C, les limites se situant environ entre 8 et 35°C (Pochon et de Barjac, 1958).

TABLEAU 1: Organismes fixateurs d'azote moléculaire

Type d'organisme	Nom	Référence	
Bactéries	- hétérotrophes	<u>Aerobacter</u>	Painter (1970)
		<u>Azotobacter</u>	Painter (1970)
		<u>Beijerinckia</u>	Moore (1966)
		<u>Clostridium</u>	Painter (1970)
		<u>Pseudomonas</u>	Painter (1970)
	- photosynthétiques	<u>Achromobacter</u>	Painter (1970)
		<u>Chlorobium</u>	Painter (1970)
		<u>Chromatium</u>	Painter (1970)
		<u>Rhodomicrobium</u>	Kamen et Gest (1949)
		<u>Rhodopseudomonas</u>	Lindstrom <u>et al.</u> (1951)
		<u>Rhodospirillum</u>	Gest et Kamen (1949)
	Algues	<u>Anabaena</u>	Fogg et Wolfe (1954)
		<u>Calothrix</u>	Fogg et Wolfe (1954)
		<u>Cylindrospermum</u>	Fogg et Wolfe (1954)
<u>Nostoc</u>		Fogg (1956)	
Champignons	<u>Rhodotorula</u>	Moore (1966)	
	<u>Pullularia</u>	Moore (1966)	

Il semble qu'aucune étude systématique n'ait été effectuée au sujet de l'influence de la température sur la dynamique de la fixation.

c) Oxygène

In vitro, les Azotobacter sont des aérobies strictes (Heller, 1969).

Il semble que les Azotobacter, comme tous les microorganismes aérobies, soient incapables de débiter leur croissance dans un milieu dont le potentiel d'oxydo-réduction est plus bas que 300 millivolts; cependant, une fois la croissance initiée, le potentiel redox peut descendre jusqu'à 75 millivolts et moins, sans causer d'inhibition de la croissance d'Azotobacter (Quispel, 1947).

Dans le sol, la situation est plus complexe. Certaines souches peuvent fonctionner à de faibles tensions d'oxygène, comparables aux tensions supportées par les souches les moins anaérobies de Clostridium (Pochon et de Barjac, 1958).

On a observé au cours d'expériences faites en laboratoire qu'une augmentation de la tension en oxygène, bien qu'elle ait une influence stimulante sur le taux de croissance, tend à diminuer l'efficacité de la fixation. Ainsi, à des pressions d'oxygène de 0.04, 0.4 et 0.6 atmosphère, la fixation eut lieu à des taux de 18 à 20, 10 à 11 et 0 milligrammes d'azote par gramme de glucose consommé (Schmidt-Lorenz et Rippel-Baldes, 1957). La constante de Michaelis pour la fixation fut de 0.0107 pour un pO_2 de 0.1 atmosphère, et de 0.0229 pour un pO_2 de 0.2 atmosphère (Parker et Scutt, 1960).

d) Nutrition carbonée

Les Azotobacter étant hétérotrophes, ils nécessitent un substrat

carboné pour leur croissance. En laboratoire, les sources de carbone que peuvent utiliser Azotobacter sont nombreuses: éthanol, acétate, oxyacides, alcools (mono-, di- et poly-hydroxy), hexoses, amidon, ainsi que quelques composés aromatiques tels l'acide benzoïque.

Dans le sol, la liste des substances carbonées utilisées est réduite; certains composés énumérés plus haut ne sont présents qu'à l'état de trace, alors que d'autres sont métabolisés rapidement par des germes à croissance plus rapide qu'Azotobacter. La quantité de matière organique assimilable disponible peut d'ailleurs devenir un facteur limitant la croissance des Azotobacter. Par ailleurs, on a observé parfois une relation entre Azotobacter et d'autres microorganismes du sol capables d'utiliser certains composés organiques non assimilables par Azotobacter. Les sous-produits de la dégradation de ces substances deviennent assimilables par Azotobacter qui fournit, en retour, l'azote essentiel au métabolisme des microorganismes.

e) Nutrition azotée

La fixation assure aux organismes qui la pratiquent les protéines nécessaires à leur croissance, mais elle n'est pas indispensable. Il a été démontré, in vitro, qu'Azotobacter pouvait utiliser d'autres sources azotées, notamment l'azote ammoniacal, les nitrites, les nitrates, l'urée et quelques acides aminés. Bien plus, en présence d'une certaine quantité de nitrates ou d'azote ammoniacal, la fixation cesserait complètement par suite d'une inhibition compétitive (Heller, 1969).

Dans le sol, il est plus difficile d'imaginer ce qui se passe car l'azote est toujours présent. Il semble que l'azote nitrique ait une action dépressive aux fortes concentrations et stimulante aux faibles, surtout en

l'absence d'une quantité suffisante de phosphore et de potassium. L'action du sulfate d'ammonium serait encore plus défavorable (Pochon et de Barjac, 1958). D'autres expériences ont démontré que l'apport de sels azotés sous forme d'engrais, par exemple, produisait une diminution du nombre d'Azotobacter dans le sol (Ziemecka, 1932).

Quand la fixation a lieu, les produits azotés ne sont habituellement pas excrétés dans le milieu. Ce n'est qu'après la mort des fixateurs et leur humification que l'azote est mis à la disposition des autres organismes. Toutefois, en présence de facteurs limitant la protéosynthèse (déficience en fer, légère insuffisance en sucres), la fixation de l'azote moléculaire peut se poursuivre à un taux moins réduit que la protéosynthèse, d'où une certaine excrétion d'azote ammoniacal, d'acides aminés ou d'amides, allant jusqu'à 60 pour cent de l'azote fixé (Heller, 1969)

f) Eléments essentiels

Les Azotobacter sont très sensibles à la présence, l'absence ou l'insuffisance de plusieurs éléments minéraux. Certains éléments minéraux sont essentiels à la croissance dont le sodium, le potassium, le magnésium, le calcium, les sulfates, les phosphates et le chlore (Painter, 1970). D'autres éléments minéraux seraient, par contre, essentiels pour la fixation de l'azote moléculaire. Nicholas et al. (1960) qualifient le molybdène, le fer, le zinc, le cuivre et la biotine d'éléments requis pour la fixation. Anderson et Jordan (1961) ajoutent le bore comme élément probablement impliqué dans la fixation. Wilson (1958) parle du molybdène comme activateur de la fixation, élément auquel le vanadium pourrait partiellement se substituer (Becking, 1962).

g) Inhibiteurs

La fixation est arrêtée par la présence de substances azotées assimilables par les Azotobacter. D'autres composés pourraient inhiber la fixation. Ainsi, l'hydrogène moléculaire serait un inhibiteur spécifique de la fixation selon Strandberg et Wilson (1967). L'azide et l'oxyde nitreux exerceraient une inhibition réversible sur la fixation à partir d'une concentration de 10^{-5} molaire (Nason et Takahashi, 1958). Schollhorn et Burris (1967) citent le monoxyde de carbone, l'oxyde nitrique et l'éthylène comme inhibiteurs compétitifs. Le cyanate inhiberait la fixation à une concentration égale ou plus grande que 10^{-5} molaire (Rakestraw et Roberts, 1957) tandis que les nitrites le feraient à des concentrations supérieures à 10^{-5} molaire (Azim et Roberts, 1956).

De plus, il est possible que certains microorganismes aient un effet antibiotique sur la croissance d'Azotobacter dans le sol. On a isolé plusieurs Actinomycètes jouant le rôle d'antagonistes pour les Azotobacter in vitro (Nickell et Burkholder, 1947).

h) Présence dans le sol

Il est difficile d'évaluer de façon précise le nombre d'Azotobacter présent dans le sol. La majorité des méthodes d'énumération sont basées sur l'hypothèse que chaque cellule viable entraînera la croissance d'une colonie. Or, les Azotobacter forment dans le sol des microcolonies qui sont difficilement dissociables. C'est donc avec précaution qu'il faut examiner les valeurs citées par différents auteurs (tableau 2).

TABLEAU 2: Présence d'Azotobacter dans le sol

Nombre d' <u>Azotobacter</u> par gramme de sol	Méthode	Auteur
0 - 20,000	Plaques de gélose	Winogradsky (1926)
10 - 700	Plaques d'agar	Meiklejohn (1956)
1600 - 18,000	Plaques d'agar	Brown <u>et al.</u> (1962)
100 - 1000	Plaques d'agar	Lockhead et Thexton (1936)
10 - 8000	Plaques d'agar	Gonick et Reuszer (1949)
2500 - 11,000	Suspensions-dilutions	Augier (1956)

Il semble que les Azotobacter soient distribués à la grandeur du globe, bien que très rares dans les sols arctiques et les déserts. On ne les retrouve cependant pas dans tous les échantillons de sol car leur densité, sous des conditions normales, est de beaucoup inférieure à celle des autres microorganismes telluriques. De plus, la densité d'Azotobacter diminue avec la profondeur en général.

Ces faibles valeurs obtenues ont rendu certains auteurs sceptiques sur l'importance de la fixation par Azotobacter pour la fertilité des sols. Il semble que ces organismes jouent un rôle très accessoire dans les zones de culture intensive, un rôle important dans celles de culture extensive et un rôle primordial, avec l'apport de substances azotées par les précipitations, sur les immenses surfaces du globe non cultivées par l'homme (Pochon et de Barjac, 1958).

1.1.3.2 Clostridium

La plus importante espèce anaérobie fixatrice d'azote est C. pasteurianum. Nous discuterons de l'influence de certains paramètres sur la croissance de Clostridium.

a) pH

Clostridium prolifère dans des cultures ayant un pH allant de 5.5 à 8.0, l'optimum étant autour de la neutralité. Il semble supporter mieux l'acidité qu'Azotobacter; on a retrouvé des Clostridium dans des sols de pH aussi bas que 4.0 (Pochon et de Barjac, 1958).

L'influence du pH sur la fixation de l'azote moléculaire est peu connue. Mortenson (1962) a isolé un système enzymatique qui serait, selon lui, responsable de la fixation. Ce système fonctionnerait à un pH optimum de 6.6, avec un déclin rapide de son activité à des pH plus acides ou plus alcalins. Toutefois, ce système n'est pas encore entièrement caractérisé.

b) Température

Clostridium peut subir de plus grands écarts de température qu'Azotobacter. Il démontre une croissance optimum à des températures de 35 à 40°C (Heller, 1969).

c) Oxygène

In vitro, Clostridium est un anaérobe strict. On le retrouve cependant dans des sols bien aérés; cela peut s'expliquer par la formation d'endospores résistantes aux conditions défavorables ou par la présence de zones anaérobies localisées (Moore, 1966). On ne connaît pas les effets

exacts de l'oxygène sur la fixation de l'azote moléculaire par Clostridium.

d) Nutrition carbonée

In vitro, Clostridium conduit à la fermentation d'un grand nombre de substances. Parmi les substrats carbonés, citons les sucres simples, les di- et poly-saccharides et les substances pectiques. Le mode de fermentation varie selon les espèces; les produits sont en général des gaz (bioxyde de carbone et hydrogène) et des acides (i.e. acides acétique et butyrique) (Pochon et de Barjac, 1958).

Dans le sol, la liste des substances carbonées assimilables est réduite pour les mêmes raisons que dans le cas des Azotobacter. Clostridium est parfois retrouvé en association avec certains organismes capables de décomposer les substances qui lui sont inaccessibles.

e) Nutrition azotée

Clostridium fixe l'azote moléculaire en l'absence d'azote combiné. Le rendement de la fixation est en général plus faible que dans le cas des Azotobacter. Cependant, il faut se rappeler que Clostridium étant un organisme anaérobie, une grande partie de l'énergie disponible au départ est gaspillée sous forme de produits de la fermentation.

f) Eléments essentiels

Pour sa croissance, Clostridium requiert, comme Azotobacter, du sodium, du potassium, du magnésium, du calcium, du soufre, du chlore et du phosphore (Nicholas et al., 1960). De plus, la fixation entraînerait l'utilisation d'autres éléments minéraux. Ainsi, Mortenson (1966) a démontré que

Clostridium a besoin de deux composés protéiques renfermant l'un, du molybdène, du magnésium, du fer et du soufre, et l'autre, du fer et du soufre.

g) Présence dans le sol

On retrouve des Clostridium dans pratiquement tous les types et tous les échantillons de sol (Meiklejohn, 1964). Leur présence ne dépend pas entièrement des conditions physiques et chimiques dans le sol car leur faculté de produire des endospores assure leur survie durant les conditions défavorables.

Cette propriété rend difficile l'évaluation du nombre de cellules végétatives. La méthode de dilution, et parfois, celle des plaques anaérobies, ont démontré des valeurs allant de quelques individus à 10^5 individus par gramme de sol (Augier, 1957; Jensen et Swaby, 1940; Meiklejohn, 1956). Dans des conditions particulièrement favorables, Abd-el-Malek et Ishac (1962) ont rapporté des comptes excédant 10^8 individus par gramme de sol.

1.2 L'ammonification

Tel que l'indique la figure 1, les résidus animaux et végétaux, de même que les débris des microorganismes sont décomposés en deux étapes assez distinctes. La première est essentiellement le fait des bactéries cellulolytiques (Cytophaga) et protéolytiques (Proteus), et de champignons. Elle porte surtout sur la cellulose et les protéines. Dans des conditions favorables, cette étape est relativement rapide et aboutit à la dégradation d'environ 70 pour cent de la matière organique initiale. Par suite de la décomposition, certains produits sont volatilisés ou minéralisés, d'autres sont assimilés par les organismes et incorporés dans leur structure cellulaire, et d'autres forment l'humus. La deuxième étape porte sur les résidus

de cette première attaque, c'est-à-dire l'humus qui est beaucoup plus difficile à dégrader: la minéralisation n'intéresse guère chaque année que 2 à 3 pour cent de sa masse, et elle est aisément compensée par des apports de nouveaux déchets.

Ces deux étapes sont favorisées par une température assez élevée, avec un optimum entre 30 et 40°C. Cette température est d'ailleurs atteinte spontanément, les processus de dégradation de type fermentaire se produisant avec un fort dégagement de chaleur (Heller, 1969). Une humidité élevée, atteignant 75 à 80 pour cent du poids sec, est également souhaitable. Entre 50 et 75 pour cent, elle favorise le développement des champignons et des bactéries aérobies, mais elle est insuffisante pour les autres microorganismes; au-dessus de 80 pour cent, elle convient aux anaérobies, mais crée des conditions asphyxiques nuisibles au reste de la microflore.

Une certaine aération du sol, bien qu'elle gêne le développement des germes anaérobies, favorise celui des organismes aérobies.

L'activité des bactéries, notamment celles des cellulolytiques, est pratiquement arrêtée en dessous de pH 6.0; bien que d'autres organismes prennent le relais (actinomycètes jusqu'à 5.5, champignons jusqu'à 3.0), l'humification est très sérieusement gênée dans les sols acides. Enfin, alors que dans les plantes, le rapport C/N va de 50 à 200, dans l'humus, il est d'environ 10, et le taux de décomposition est moins intense dès que le rapport est plus petit que 15 (Heller, 1969).

La formation de l'humus, comme sa dégradation, s'accompagne d'un dégagement de bioxyde de carbone et, si le rapport C/N est peu élevé, d'une libération d'azote ammoniacal. Cette ammonification est réalisée par les

bactéries ammonifiantes. C'est une étape très importante car les végétaux supérieurs sont presque tous incapables d'utiliser l'azote organique. L'ammonification est le premier processus par lequel l'azote organique est transformé en un produit assimilable par les végétaux.

La microflore responsable de l'ammonification est variée et on n'a pas encore pu en déterminer toutes les composantes. Plusieurs espèces de Bacillus, de Flavobacter, de Protaminobacter, de Proteus et de Pseudomonas seraient impliquées (Heller, 1969). L'identification de la microflore ammonifiante dans le sol est d'autant plus difficile qu'il faut tenir compte des phénomènes de synergie et de compétition. De plus, l'ammonification serait un phénomène progressif où interviendraient successivement un nombre assez important, mais limité, d'espèces bactériennes et fongiques.

La minéralisation de l'azote organique en azote ammoniacal et éventuellement en nitrates est le moyen par lequel l'assimilation par les organismes utilisateurs est rendue possible. En effet, la majorité des végétaux et des microorganismes éprouvent de la difficulté à utiliser l'azote quand il fait partie de composés organiques. La forme utilisée préférentiellement varie, toutefois, selon l'organisme utilisateur.

Les végétaux sont tous capables d'assimiler l'azote sous forme organique lorsqu'il s'agit de petites molécules telles des acides aminés, de l'asparagine, de la glutamine, de l'urée, de l'acide urique et de l'allantoïne. Lorsqu'il s'agit de végétaux supérieurs autotrophes au carbone, le rendement est cependant faible en général par rapport à celui d'une alimentation nitrique ou ammoniacale. Les végétaux héli-parasites, les holoparasites et les plantes carnivores utilisent l'azote organique avec un bon rendement. Les légumineuses utilisent les acides aminés élaborés par les bac-

téries symbiotiques de leurs nodules; néanmoins, en présence de nitrates ou de sels ammoniacaux, elles préfèrent aussi l'azote minéral et l'activité des nodules cesse.

Les algues se comportent comme des végétaux supérieurs. Autotrophes à l'égard de l'azote, elles peuvent néanmoins en assimiler les formes organiques lorsqu'il s'agit de petites molécules. Elles assimilent préférentiellement l'azote minéral. Par contre, les champignons présentent tous les degrés: certains sont autotrophes à l'égard de l'azote organique, d'autres sont auxotrophes (nécessitent un ou des facteurs de croissance azotée) et enfin certains sont hétérotrophes à l'azote. L'azote ammoniacal est, avec l'azote organique, la forme qu'utilisent préférentiellement la plupart des champignons; cependant, certains d'entre eux peuvent aussi assimiler l'azote nitrique (Heller, 1969).

Quant aux bactéries, elles ont des formes de nutrition azotée très variées; nous le voyons en étudiant les principaux processus impliqués dans le cycle de l'azote.

L'assimilation a un but diamétralement opposé à celui de la minéralisation et on a souvent parlé de ces deux processus en termes de cycle minéralisation-assimilation. Jansson (1958) a introduit le terme "cycle interne continu" en postulant que le cycle minéralisation-immobilisation se répète continuellement, conduisant à l'épuisement de la matière organique disponible si aucune matière organique fraîche n'est ajoutée de l'extérieur. Quand le cycle débute avec de la matière organique ayant un rapport C/N élevé, c'est surtout le carbone qui est libéré sous forme de bioxyde de carbone durant les cycles, tandis que l'azote est retenu dans la matière organique et repasse dans le cycle jusqu'à ce que le rapport C/N soit devenu suffisam-

ment bas. C'est à ce stade qu'on peut parler de minéralisation nette d'azote. Etant donné que les réactions de minéralisation et d'immobilisation ont lieu simultanément dans le sol et qu'elles ont un résultat opposé, c'est la minéralisation nette ou l'immobilisation nette qui contrôlent la qualité d'azote disponible dans le sol. En règle générale, les matières organiques contenant beaucoup d'azote favorisent la minéralisation tandis que celles contenant peu d'azote favorisent l'immobilisation.

Quand la minéralisation est favorisée, l'azote ammoniacal formé a un devenir multiple:

- une partie importante est assimilée par des microbes en présence d'hydrates de carbone;
- l'azote ammoniacal peut aussi être assimilé par les plantes supérieures, bien qu'elles préfèrent les nitrates en général;
- une partie est adsorbée par échange d'ions sur les complexes argilo-humiques ou neutralise les acides du sol;
- une partie de l'azote ammoniacal peut parfois se dégager sous forme de gaz ammoniac à la suite d'un enfouissement peu profond de matière organique riche en azote, ou quand la dégradation a lieu à la surface du sol. Les facteurs pouvant favoriser cette volatilisation sont une libération intense d'azote ammoniacal, des conditions défavorables à la nitrification, un rapport C/N bas, un sol neutre ou alcalin et possédant une faible capacité d'échange d'ions et finalement un sol très humide, mal aéré et sous un climat chaud;
- une partie de l'azote ammoniacal peut être perdue par lessivage;
- une fraction de l'azote ammoniacal peut être oxydée en nitrites et en nitrates (processus de nitrification) si les conditions de

pH, de température et d'aération sont favorables.

1.3 La nitrification

Plusieurs microorganismes peuvent effectuer la nitrification (tableau 3).

Parmi les autotrophes, Nitrosomonas est responsable de la transformation de l'azote ammoniacal en nitrites, tandis que Nitrobacter oxyde ce dernier composé en nitrates. Ce sont les deux principaux nitrificateurs autotrophes.

On reconnaît généralement deux espèces de Nitrosomonas pouvant nitrifier: N. europaea et N. oligocarbogenes. Parmi les espèces de Nitrobacter pouvant nitrifier, mentionnons N. winogradskii et N. argile qui sont les plus importantes (Pochon et de Barjac, 1958).

1.3.1 pH

In vitro, le pH optimum est de 8.5 à 9.3 pour Nitrosomonas et de 8.3 à 9.3 pour Nitrobacter (Pochon et de Barjac, 1958). Dans le sol, Winogradsky et Winogradsky (1933) citent des valeurs du pH de 6.0 à 9.0 pour Nitrosomonas et de 6.3 à 9.4 pour Nitrobacter. Le plus grand intervalle observé dans le sol tient peut-être à un effet de surface: les nitrificateurs pourraient adhérer à des surfaces neutres ou alcalines présentes à des endroits très localisés du sol (Quastel, 1965).

1.3.2 Température

Pour Nitrosomonas, la température optimum est de 30 à 36°C selon Buswell et al. (1954). Les limites d'activité sont de 10 à 33°C et les li-

TABLEAU 3: Organismes nitrifiants

Type d'organisme	Nom	Référence
Bactéries autotrophes	<u>Nitrobacter</u>	Bergey (1957)
	<u>Nitrosococcus</u>	Bergey (1957)
	<u>Nitrosocystis</u>	Bergey (1957)
	<u>Nitrosoglea</u>	Bergey (1957)
	<u>Nitrosomonas</u>	Bergey (1957)
	<u>Nitrospira</u>	Bergey (1957)
Bactéries hétéro- trophes	<u>Achromobacter</u>	Quastel <u>et al.</u> (1952)
	<u>Agrobacter</u>	Quastel et Scholefield (1949)
	<u>Arthrobacter</u>	Verstrate et Alexander (1973)
	<u>Corynebacterium</u>	Quastel <u>et al.</u> (1952)
	<u>Microbacterium</u>	Castell et Mapplebeck (1956)
	<u>Proteus</u>	Castell et Mapplebeck (1956)
	<u>Pseudomonas</u>	Castell et Mapplebeck (1956)
Champignons	<u>Aspergillus</u>	Eylar et Schmidt (1959)
	<u>Fusarium</u>	Doxtader et Alexander (1956)

mites absolues, de 4 à 40°C pour Nitrosomonas (Pochon et de Barjac, 1958). Pour Nitrobacter, elles sont respectivement de 8 à 28°C et de 4 à 45°C (Painter, 1970).

1.3.3 Oxygène

Les nitrificateurs sont des aérobies strictes. Un sol à demi saturé en eau leur est favorable tandis qu'une saturation implique une baisse de l'oxygène disponible et donc une réduction de la nitrification.

1.3.4 Nutrition

Nitrobacter et Nitrosomonas étant des autotrophes (chimolithotrophes), ils tirent leur énergie pour réduire le bioxyde de carbone de l'oxydation de l'azote ammoniacal ou des nitrites. Le rendement de la nitrification est très faible: Nitrosomonas ne synthétiserait que 72 milligrammes de matière sèche par gramme d'azote oxydé et le rapport P/O (mole de phosphore intégré dans de l'ATP par mole d'oxygène consommé) ne serait que de 0.2 (Heller, 1969).

Mais c'est précisément cette faiblesse de rendement qui peut expliquer le rôle important des nitrificateurs: ils devraient, pour synthétiser leur propre matière, nitrifier de grandes quantités d'azote.

1.3.5 Eléments essentiels

Les nitrificateurs auraient besoin de facteurs de croissance, c'est-à-dire des substances stimulatrices faisant défaut dans les milieux strictement minéraux des laboratoires, mais qui se trouvent dans le sol. En outre, un certain nombre d'éléments minéraux seraient indispensables à leur croissance tels le calcium, le phosphore, le magnésium, le cuivre et le fer (Lees, 1955).

1.3.6 Inhibiteurs

Les nitrificateurs sont plus sensibles aux conditions défavorables que les germes ammonifiants. Certaines substances pourraient inhiber leur croissance plus spécifiquement: les cyanates et les chlorates inhiberaient, en présence d'oxygène, la croissance des Nitrobacter (Lees et Simpson, 1957). Le peptone serait toxique aux Nitrobacter et aux Nitrosomonas, tandis que certains agents chélateurs seraient toxiques pour Nitrosomonas (Lees, 1952). Des composés non-polaires tels que les narcotiques, dérangeraient le métabolisme des deux espèces (Lees, 1955). De plus, la croissance des Nitrobacter pourrait être inhibée par une carence de phosphore ou un excès de nitrites dans le milieu (Pochon et de Barjac, 1958).

1.3.7 Présence dans le sol

Quand les conditions pour la nitrification sont favorables, l'oxydation des nitrites en nitrates va très vite, si bien que la teneur en nitrites reste très basse. Quelquefois, une accumulation de nitrites peut avoir lieu dans un sol neutre ou alcalin, en présence d'une grande quantité d'azote ammoniacal. Cette accumulation est due à la vitesse avec laquelle les nitrites sont formés, cette première étape de la nitrification étant plus rapide que la deuxième dans ces conditions particulières.

La teneur des sols normaux en nitrates est toujours faible et peut fluctuer en raison de la sensibilité des germes nitrificateurs. La détermination du nombre de nitrificateurs dans le sol est donc assez difficile. Cependant, le nombre de germes nitreux serait toujours supérieur au nombre de germes nitriques (Laurent, 1971). Nitrosomonas et Nitrobacter ne seraient pas présents en nombre plus élevé que 100,000 individus par gramme de sol,

la moyenne variant entre 1,000 et 10,000 individus par gramme de sol (Clark, 1967).

En raison de ces nombres peu élevés, on assisterait à une période de latence avant le début de la nitrification active dans un sol où un substrat nitrifiable devient disponible. Ce phénomène a été observé par plusieurs chercheurs dont Lees (1954). Ce dernier a attribué cette phase de latence, qui est de l'ordre d'une semaine ou un peu plus, à la lenteur avec laquelle les bactéries autotrophes synthétisent leur matériel cellulaire.

1.3.8 Nitrification hétérotrophe

Outre les nitrificateurs autotrophes, on a isolé plusieurs organismes hétérotrophes capables d'oxyder certaines substances azotées en acides hydroxamiques, en oximes, en composés nitroso et nitro, en nitrites et en nitrates. Nous en avons mentionné quelques-uns précédemment. Bien que la nitrification hétérotrophe soit facilement démontrable in vitro, nous n'avons que très peu de résultats suggérant qu'elle a lieu dans le sol et qu'elle y revêt une certaine importance par rapport à la nitrification autotrophe (Verstraete et Alexander, 1973).

1.3.9 Destin de l'azote nitrique

Le destin de l'azote nitrique formé par nitrification est le suivant:

- les nitrates peuvent être assimilés par les plantes supérieures.

De grandes pertes en azote sont ainsi le fait de récoltes intensives;

- les nitrates peuvent être assimilés par la microflore. Quand une quantité d'hydrates de carbone est disponible, l'assimilation des

nitrate par les microbes peut être si intense que les végétaux souffrent d'un manque d'azote. Dans ces conditions, la production de nitrates est elle-même très petite ou nulle, parce qu'alors, l'azote ammoniacal est aussi consommé par les microbes à un degré plus intense et même préférentiel. Puis quand les hydrates de carbone ont été utilisés à un degré tel que le rapport C/N de la matière organique a baissé suffisamment, l'azote ammoniacal peut de nouveau être formé, et les conditions redeviennent favorables pour la nitrification;

- l'azote nitrique peut se perdre facilement par lessivage et atteindre les eaux souterraines car il est beaucoup plus mobile que l'azote ammoniacal dans le sol;
- dans des conditions d'anaérobiose complète ou partielle, la réduction des nitrates en nitrites et en azote moléculaire peut être provoquée par de nombreux microorganismes;
- les nitrites et les nitrates peuvent être décomposés par les bactéries dénitrifiantes;
- dans des sols aérobie acides ($\text{pH} < 5$), les nitrites peuvent être décomposés par des réactions chimiques. Le mécanisme de ces réactions est encore obscur et leur importance reste encore à préciser.

1.4 La dénitrification

La dissimilation est définie comme l'oxydation de composés carbonés aux dépens des nitrates, qui agissent comme accepteurs d'électrons. Peu d'azote est incorporé dans les cellules lors de ce processus, les nitrates étant plutôt réduits en produits gazeux. Pour certains auteurs, le terme dénitrification ne s'applique que quand l'azote moléculaire est le produit

final de la dissimilation. Nous ne ferons pas cette distinction dans le texte qui suit, utilisant les termes dénitrification et dissimilation pour désigner le même processus.

Beaucoup de bactéries peuvent être classées comme dénitrifiantes (tableau 4). On peut grouper les bactéries dénitrifiantes en deux groupes: les dénitrifiantes obligatoires et les dénitrifiantes facultatives. Une espèce telle Micrococcus denitrificans qui ne peut jamais se développer en anaérobiose en l'absence d'un composé oxygéné de l'azote (nitrates ou nitrites) appartient au premier groupe. Par contre, Aerobacter aerogenes, qui fait partie du deuxième groupe, est capable de croître en anaérobiose sur un substrat fermentescible sans la présence de nitrates et de nitrites.

Il est à noter que, chez aucune espèce bactérienne connue, la dissimilation ne présente un caractère rigoureusement obligatoire puisqu'elle peut toujours être remplacée par un autre processus d'oxydo-réduction tel la fermentation dans le cas des dénitrifiantes facultatives et la respiration à base d'oxygène dans le cas des dénitrifiantes obligatoires.

TABLEAU 4: Organismes dénitrifiants

Type d'organisme	Nom	Référence
Bactéries hétérotrophes	<u>Achromobacter</u>	Pochon et de Barjac (1958)
	<u>Aerobacter</u>	Pochon et de Barjac (1958)
	<u>Bacillus</u>	Pochon et de Barjac (1958)
	<u>Micrococcus</u>	Pochon et de Barjac (1958)
	<u>Pseudomonas</u>	Pochon et de Barjac (1958)
Bactéries autotrophes	<u>Thiobacillus</u>	Van Schreven (1965)
Bactéries saprophytes	<u>Pseudomonas</u>	Michoustine <u>et al.</u> (1965)

Etant donné la grande variété d'espèces bactériennes capables de dénitrifier, ce phénomène a lieu dans des conditions très variées. Nous essaierons de définir des limites générales d'activité dans les paragraphes qui suivent.

1.4.1 pH

Au-dessus de pH 6.0, dans les limites physiologiques, le taux de dénitrification varierait peu; au-dessous de cette valeur, il baisserait nettement, pour être encore cependant de 70 pour cent à pH 5.0 et deviendrait nul au-dessous de pH 4.5 (Pochon et de Barjac, 1958). La nature des produits gazeux de la dissimilation dépend du pH comme nous le verrons plus loin.

1.4.2 Température

La température optimum pour la dénitrification est de 27 à 30°C. On a observé la dénitrification dans des sols gelés et elle serait possible jusqu'à des températures d'environ 60 à 65°C (Van Schreven, 1965).

1.4.3 Oxygène et humidité

Wijler et Delwiche (1954) ont observé que la formation de produits gazeux (N_2 et N_2O) au sein d'échantillons de sol était fortement diminuée en présence d'oxygène. Parallèlement, la dénitrification est plus intense quand le taux d'humidité est plus élevé, en présence d'oxygène. Même dans des sols qui sont très bien drainés, se trouvent des interstices et des agrégats qui ne sont pas entièrement oxygénés, et les nitrites et les nitrates qui se déplacent vers ces lieux peuvent être dénitrifiés.

Une expérience effectuée en laboratoire (Mansell et al, 1970) sur le comportement d'une solution de nitrates percolée à travers une colonne de sol a montré que le taux de récupération des nitrates dépend de l'oxygénation. Des mélanges oxygène-hélium contenant 0.2, 5.0 et 20.0 pour cent d'oxygène donnèrent trois différents niveaux d'aération. On récupéra respectivement dans chacune des colonnes 73, 81 et 87 pour cent des nitrates ajoutés au début de l'expérience.

1.4.4 Besoins

Dans le sol, les complexes organiques sont nécessaires comme source d'énergie. D'une manière générale, le pouvoir dénitrifiant va donc de pair avec la fertilité du sol. Woldendorp (1962) a démontré que la dénitrification était stimulée par les racines des végétaux probablement à cause des substances oxydables excrétées par les racines. Le nombre de bactéries dénitrifiantes est d'ailleurs très élevé dans la rhizosphère.

1.4.5 Éléments essentiels

Les éléments minéraux suivants sont nécessaires à la croissance des dénitrificateurs: sulfate, phosphate, chlorure, sodium, potassium, magnésium et calcium. Plusieurs éléments traces seraient requis pour les étapes enzymatiques successives de la dénitrification. Nicholas (1963) cite en particulier le molybdène, le fer, le cuivre et le manganèse.

1.4.6 Inhibiteurs

Outre l'oxygène, certaines substances pourraient inhiber de façon spécifique la dénitrification. Certains agents chélateurs de métaux (cyanure de potassium, 4-méthyl-1,2-dimercaptobenzène) inhiberaient l'enzyme ni-

trate reductase chez Pseudomonas aeruginosa (Fewson et Nicholas, 1961).

Les chlorates et le cuivre inhiberaient de façon compétitive le nitrite reductase (Walker et Nicholas, 1961a) et le p-chloromercuri-benzoate inhiberait l'hydroxylamine reductase (Walker et Nicholas, 1961b).

En général, les conditions défavorables inhibent plus le système de réduction des nitrites que celui des nitrates. Il peut donc y avoir des accumulations de nitrites dans le sol (Bollag et al., 1970).

1.4.7 Présence dans le sol

Dans le sol, les conditions sont en général favorables à la dénitrification là où le potentiel redox est bas et les nitrates et la matière organique dissoute abondants.

1.5 Influence de l'inondation sur le sol

La plus grande partie de l'information que nous avons présentée jusqu'à maintenant est limitée à des sols bien drainés. Plusieurs des principes généraux et des concepts applicables aux sols bien drainés peuvent difficilement être généralisés pour interpréter le phénomène de la transformation de l'azote dans des sols inondés.

Il existe deux différences principales entre la décomposition de la matière organique dans des conditions aérobies et anaérobies. La première a trait à la vitesse de la réaction et la deuxième à la nature des produits formés.

La décomposition aérobie de la matière organique dans des sols bien drainés est accomplie par un vaste groupe de microorganismes. Le mode aérobie de respiration de ces organismes est associé à la libération de beaucoup

d'énergie. Donc, la décomposition d'un substrat et la synthèse du matériel cellulaire ont lieu à une vitesse élevée. Il s'ensuit qu'une grande partie des composés formant la matière organique disparaissent rapidement en tant que bioxyde de carbone, tandis que ceux qui sont moins susceptibles à l'attaque microbienne persistent. D'une façon concomitante, alors que la synthèse cellulaire a lieu, les nutriments du sol sont soumis à une grande demande, ceci étant particulièrement vrai pour l'azote.

La décomposition anaérobie, d'autre part, dépend presque entièrement des activités des bactéries anaérobies strictes. Les anaérobies facultatifs peuvent aussi participer à la décomposition si des nitrates sont présents pour agir comme accepteurs d'électrons à la place de l'oxygène. Etant donné que les bactéries anaérobies utilisent moins complètement l'énergie disponible dans les substances, elles sont moins efficaces que la microflore aérobie. En conséquence, les processus de décomposition et de synthèse cellulaire sont beaucoup plus lents dans un sol inondé que dans un sol bien drainé.

La seconde différence entre la décomposition de la matière organique dans des conditions de sol bien drainé ou inondé, est la nature des produits finaux. Dans un sol bien drainé, les principaux produits finaux de la décomposition sont le bioxyde de carbone, les nitrates, les sulfates, l'eau et les résidus organiques résistants. Dans un sol inondé, la décomposition est moins complète et se caractérise par la formation de bioxyde de carbone, de méthane, de gaz hydrogène, d'acides organiques, d'azote ammoniacal, d'amines, de mercaptans, d'hydrogène sulfureux et de résidus organiques résistants.

Examinons en particulier la décomposition des protéines dans les deux conditions précédentes. La voie métabolique de la décomposition des protéines est probablement la même dans un sol inondé et dans un sol bien drainé jusqu'à la formation d'acides aminés. On assiste d'abord à la biosynthèse d'une partie des acides aminés. Dans des conditions aérobies, la désamination a lieu et les acides carboxyliques ainsi formés sont dirigés vers le cycle de la Krebs où ils sont éventuellement transformés en bioxyde de carbone. L'azote ammoniacal est soit retenu sur des matières colloïdales sous forme échangeable ou non, soit oxydé en nitrates par les nitrificateurs. Dans des conditions anaérobies, les produits de la désamination et de la décarboxylation subséquente peuvent s'accumuler ou être transformés en produits gazeux. Parmi ces produits, on compte de l'azote ammoniacal, des acides carboxyliques, des amines, des mercaptans, de l'hydrogène sulfureux, des alcools et des produits aromatiques.

Nous avons vu que la décomposition aérobie est plus rapide que la décomposition anaérobie. De plus, l'énergie libérée par fermentation est plus basse que l'énergie libérée par décomposition aérobie, ce qui a pour effet de réduire le nombre de cellules microbiennes synthétisées par gramme de carbone organique dégradé dans des conditions anaérobies. On s'attendrait donc à voir une minéralisation plus active de l'azote dans le premier cas. Or, plusieurs expériences effectuées jusqu'à maintenant montrent un plus fort dégagement d'azote minéral dans des conditions anaérobies.

Citons les expériences d'Acharya (1935) qui étudia en laboratoire la décomposition de la paille de riz dans des conditions aérobies, partiellement aérobies (inondation) et entièrement anaérobies. Il a démontré que le taux de décomposition de la paille, le facteur azote (nombre de grammes

d'azote additionnel requis pour la décomposition de 100 grammes de matériel) et l'équivalent d'azote (nombre de grammes d'azote immobilisé durant la décomposition de 100 grammes de matériel) étaient plus élevés dans des conditions aérobies que dans des conditions anaérobies; l'anaérobiose partielle a donné des résultats situés à mi-chemin entre les deux extrêmes précédents. D'autre part, la quantité d'azote inorganique libéré dans la solution suivait un ordre contraire au précédent. D'une façon quantitative, l'azote inorganique libéré dans des conditions anaérobies était 5 à 6 fois plus élevé que celui libéré dans des conditions aérobies.

Sircar et al. (1940) ont présenté des résultats similaires pour des expériences effectuées sur de la paille de riz. Ils ont observé de plus une libération d'azote à un rapport C/N plus élevé dans des conditions anaérobies qu'aérobies.

Au cours d'une étude effectuée en Californie sur la décomposition de la paille de riz dans des conditions d'inondation, Williams et al. (1968) ont conclu que les besoins en azote pour la décomposition de la paille de riz dans des sols inondés étaient de un tiers de la concentration moyenne requise pour la décomposition aérobie de cette matière organique.

Waring et Bremner (1964) ont observé un taux plus élevé de minéralisation nette dans des sols inondés que dans des sols bien drainés. Ils ont montré que, pour une période de deux semaines, pour chaque partie d'azote ammoniacal produit de façon aérobie, 1.23 parties étaient produites dans des sols inondés.

Tusneem et Patrick (1971) ont effectué une étude comparative du taux de minéralisation d'un sol sous deux régimes d'humidité (85 pour cent

d'humidité et inondation) avec et sans addition de matière organique aux rapports C/N différents. Ils ont observé dans tous les cas un plus fort dégagement d'azote inorganique pour les sols inondés que pour les sols bien drainés. Les différences entre les deux régimes étaient plus prononcées dans le cas de rapports C/N plus élevés et ces différences persistaient durant environ deux mois après l'addition de matière organique à un sol. Après deux mois, on assistait à une diminution graduelle de l'azote ammoniacal dans des conditions d'inondation en contraste avec une augmentation d'azote inorganique dans des conditions d'humidité optimum. Il a donc fallu plus de deux mois pour que le cycle minéralisation-immobilisation de Jansson aboutisse à une minéralisation nette dans le cas de sols bien drainés, alors que ce phénomène avait lieu presque immédiatement dans des sols inondés.

On a attribué la libération plus intense d'azote inorganique dans des conditions anaérobies à une nécessité moindre d'azote pour le métabolisme anaérobie. Alexander (1961) a effectué des calculs théoriques pour montrer ce besoin moindre des bactéries anaérobies. Il a calculé que pour la décomposition de 100 unités de carbone, les bactéries aérobies ont besoin de 1 à 2 unités d'azote, tandis que les bactéries anaérobies n'ont besoin que de 0.4 à 1.0 unité d'azote pour le même degré de décomposition.

Les processus de la nitrification sont également affectés par l'inondation d'un sol. Un sol inondé possède un profil caractérisé par deux couches distinctes: une couche de surface oxydée (quelques millimètres ou centimètres de profondeur), présente à l'interface eau-sol, et une couche sous-jacente réduite. La couche de surface correspond à une zone oxydée où les microorganismes vivent de façon aérobie. Sous cette couche se trouve la couche réduite où les microorganismes vivent de façon anaérobie. La ni-

trification a lieu dans la couche superficielle oxydée, les nitrates sont entraînés par percolation vers la zone réduite où ils peuvent être dénitrifiés biologiquement et peut-être chimiquement, en azote moléculaire. D'importantes pertes d'azote résulteraient de ce phénomène d'après de nombreux auteurs (Shiori et Mitsui, 1935; Abichandani et Patnaik, 1955; Basak et al., 1957; Nelson et Hauck, 1965).

Tusneem et Patrick (1971) ont effectué des expériences en enrichissant des sols avec de l'azote sous forme ammoniacale et de la matière organique et en les inondant par la suite. Ils ont trouvé une perte maximale d'azote ammoniacal entre 15 et 60 jours d'incubation (80 pour cent de l'azote perdu); la quantité d'azote perdu diminuait ensuite progressivement en raison de l'épuisement de la matière organique. La période de latence de 15 jours serait due à une immobilisation initiale vigoureuse durant laquelle s'effectuerait la dégradation de la matière organique ayant un rapport C/N élevé. Après cela, le taux de minéralisation deviendrait plus rapide et on observerait alors une minéralisation nette. Les auteurs ont démontré que l'azote perdu provenait non seulement de l'azote ajouté mais aussi de celui initialement présent dans le sol.

1.6 Teneur d'un sol en azote

Après cette étude des processus impliqués dans la transformation des diverses formes d'azote présentes dans le sol, il convient d'examiner, de façon quantitative, comment sont réparties ces diverses formes.

La teneur d'un sol en azote varie considérablement selon les facteurs pédologiques et climatiques qui conditionnent la végétation, dont dépend au total la constitution des réserves azotées du sol. La plus grande

partie de l'azote dans le sol se trouve sous forme organique, une plus petite partie dans les débris plus ou moins récents des animaux et des végétaux et dans les excréments, et dans les microorganismes morts et vivants. Des sols contiennent aussi de l'azote ammoniacal fixé aux colloïdes minéraux. A mesure que la teneur en matière organique diminue avec la profondeur du sol, la partie de l'azote total qui se trouve sous forme d'azote ammoniacal fixé aux colloïdes augmente (Van Schreven, 1965)

Les chiffres suivants, fournis par différents auteurs, indiquent des ordres de grandeur pour la fraction azotée du sol. Dans les horizons superficiels d'une bonne terre végétale sous un climat tempéré, la teneur du sol en azote est de l'ordre de 1 gramme par kilogramme, ce qui correspond à environ 5 tonnes métriques d'azote par hectare. Sur cette masse, 1 à 2 pour cent, soit 50 à 100 kilogrammes par hectare en moyenne, sont sous forme nitrique; le reste est essentiellement sous forme organique, principalement de l'humus. A son maximum, le taux d'azote nitrique peut atteindre 200 à 300 kilogrammes par hectare (Heller, 1969).

Van Schreven (1965) cite, pour des régions à climat tempéré, des valeurs de 2 à 3 tonnes métriques d'azote par hectare, soit 0.10 à 0.15 pour cent de la couche supérieure de 20 centimètres du sol. 3.5 à 7.9 pour cent de l'azote total dans la couche arable peut être représentée comme azote ammoniacal fixé; cette quantité ne dépasse généralement pas 100 kilogrammes d'azote ammoniacal par hectare. D'après Keeney et Gardner (1970), l'azote ammoniacal fixé représente 1 à 25 pour cent de l'azote total du sol dépendant de la profondeur. Quant aux cellules microbiennes, elles contiennent environ 1 pour cent de l'azote total du sol.

2. CHOIX DE L'EXPERIENCE

Un barrage réservoir destiné à alimenter en eau potable la population de Victoriaville doit être prochainement aménagé sur la rivière Bulstrode. Le site du futur réservoir a fait l'objet d'une étude intensive (Campbell et al., 1974) visant à prévoir le comportement et, en particulier, la qualité de l'eau du futur réservoir.

Dans le cadre de ce projet, Campbell et al. (1974) ont effectué plusieurs études en laboratoire et sur le terrain dont une étude pédologique et un essai en laboratoire. Le relevé pédologique a permis de distinguer quatre types différents de sol dans la cuvette du futur réservoir: les paramètres ayant servi à la classification sont la granulométrie du sol et son contenu en carbone organique et en azote organique. Ils ont étudié en laboratoire le comportement de ces quatre types de sol après immersion de la façon suivante: des échantillons de sol ont été placés au fond de bacs expérimentaux opaques et recouverts d'eau en provenance de la rivière Bulstrode. Ils ont ensuite soumis ces milieux, comprenant le sol immergé et l'eau, à des conditions contrôlées de température, d'oxygène dissous et de lumière pendant plus de 50 jours. Des échantillons d'eau ont été prélevés dans ces bacs environ trois fois par semaine et soumis à des analyses physico-chimiques pour déterminer l'impact de l'inondation d'un sol sur la qualité de l'eau sus-jacente. Ces analyses ont servi, avec les résultats des autres études effectuées dans le cadre du projet, à prévoir l'impact sur la qualité de l'eau de la création du barrage-réservoir sur la rivière Bulstrode.

C'est un peu en marge de ce projet que nous avons effectué notre

étude. Notre but était, comme nous l'avons dit précédemment, d'étudier le comportement d'un sol inondé et l'influence de l'inondation sur la qualité de l'eau. Ce but se rapproche de celui de Campbell et al. (1974) tout en étant plus fondamental; ces derniers ont étudié un cas bien précis, le réservoir de Victoriaville, avec pour but principal la prévision du comportement de ce réservoir, et pour but secondaire, la mise au point d'une méthodologie pour l'étude des sites futurs de réservoirs. Notre but était de constater quelques-uns des changements qui se produisent après l'inondation d'un sol au niveau des bactéries telluriques actives dans le cycle de l'azote et d'y relier les variations observées dans la qualité de l'eau sus-jacente. Nous étions donc plus intéressés à vérifier l'efficacité de notre approche qu'à faire des recommandations au sujet de la création du réservoir de Victoriaville.

Par le fait même, nos expériences ont été conçues de façon différente. Ainsi, la totalité de nos expériences ont été effectuées en laboratoire pour des contraintes de temps. De plus, nous n'avons utilisé qu'un seul type de sol parmi les quatre qui sont compris dans la cuvette du futur réservoir. Pour les raisons précédentes, il importait peu d'utiliser l'eau de la rivière Bulstrode. Nous avons donc opté pour une eau que nous pouvions obtenir plus facilement, ceci dans le but de limiter les déplacements, dont le coût en temps nous paraissait trop élevé dans le cadre de notre expérience.

Notre modèle était également différent des bacs expérimentaux utilisés par Campbell et al. (1974) où, rappelons-le, l'eau n'entrait en contact immédiat qu'avec la couche superficielle du sol. Par l'emploi du modèle que nous décrivons maintenant, notre but était de vérifier la possibi-

lité de reproduire en laboratoire l'inondation d'un sol et de comprendre une partie des phénomènes qui y sont reliés. Notre modèle consistait dans des colonnes de type Winogradsky remplies à demi de sol couvert d'eau. Dans cette colonne, illustrée dans la figure 2, l'eau pouvait percoler à travers le sol, après quoi elle était recirculée vers la surface d'où elle pouvait commencer un nouveau cycle. Ce modèle permettait à l'eau d'entrer en contact avec la totalité de la masse du sol, de la couche superficielle oxydée à la couche sous-jacente réduite.

Puisqu'un réservoir naturel est soumis à diverses conditions externes telles que des écarts de température et des variations dans la quantité et la qualité de l'eau d'entrée, et que, de plus, ces mêmes conditions varient d'un endroit à l'autre dans le réservoir, nous avons tenté de reproduire en laboratoire quelques-unes de ces conditions. Ainsi, pour déterminer l'influence de la température, nous soumettions une colonne à une température de 20°C, et une autre, à une température de 4°C. Dans une autre colonne, le sol était alternativement séché et drainé afin de reproduire les conditions existant sur les rives du réservoir. Une autre colonne était soumise à une atmosphère d'azote, afin de reproduire les conditions anaérobies régnant parfois au fond d'un réservoir. Enfin, un duplicata de chacune de ces colonnes a été réalisé, la seule différence étant l'emploi d'eau polluée au lieu d'eau pure, pour simuler l'inondation; ceci était effectué dans le but de vérifier l'influence de l'eau d'entrée sur la qualité de l'eau du futur réservoir.

Afin de comprendre les phénomènes reliés à l'inondation du sol, nous avons effectué des analyses du sol et de l'eau. La couche superficielle du sol dans la colonne a été échantillonnée périodiquement afin que son conte-

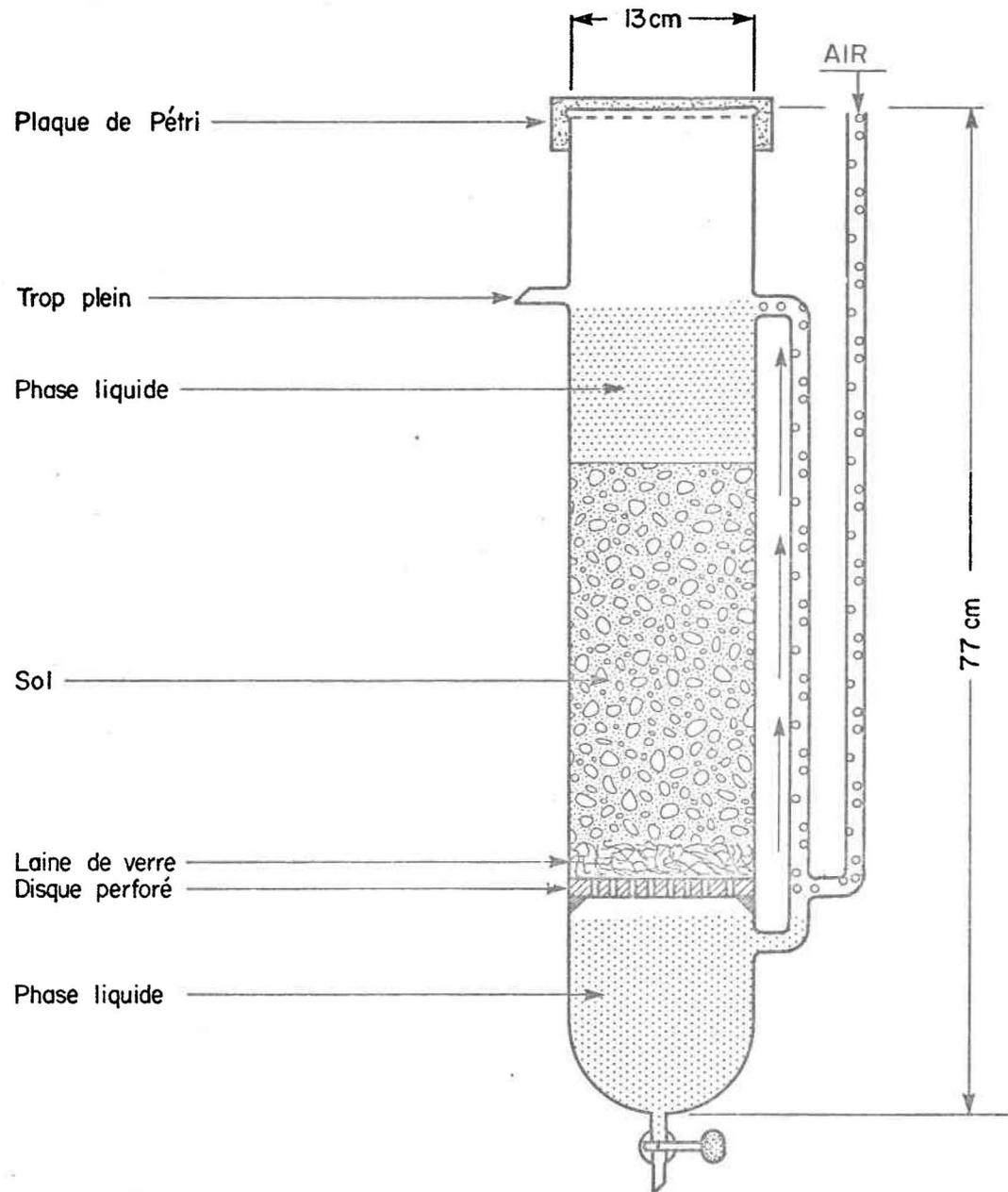
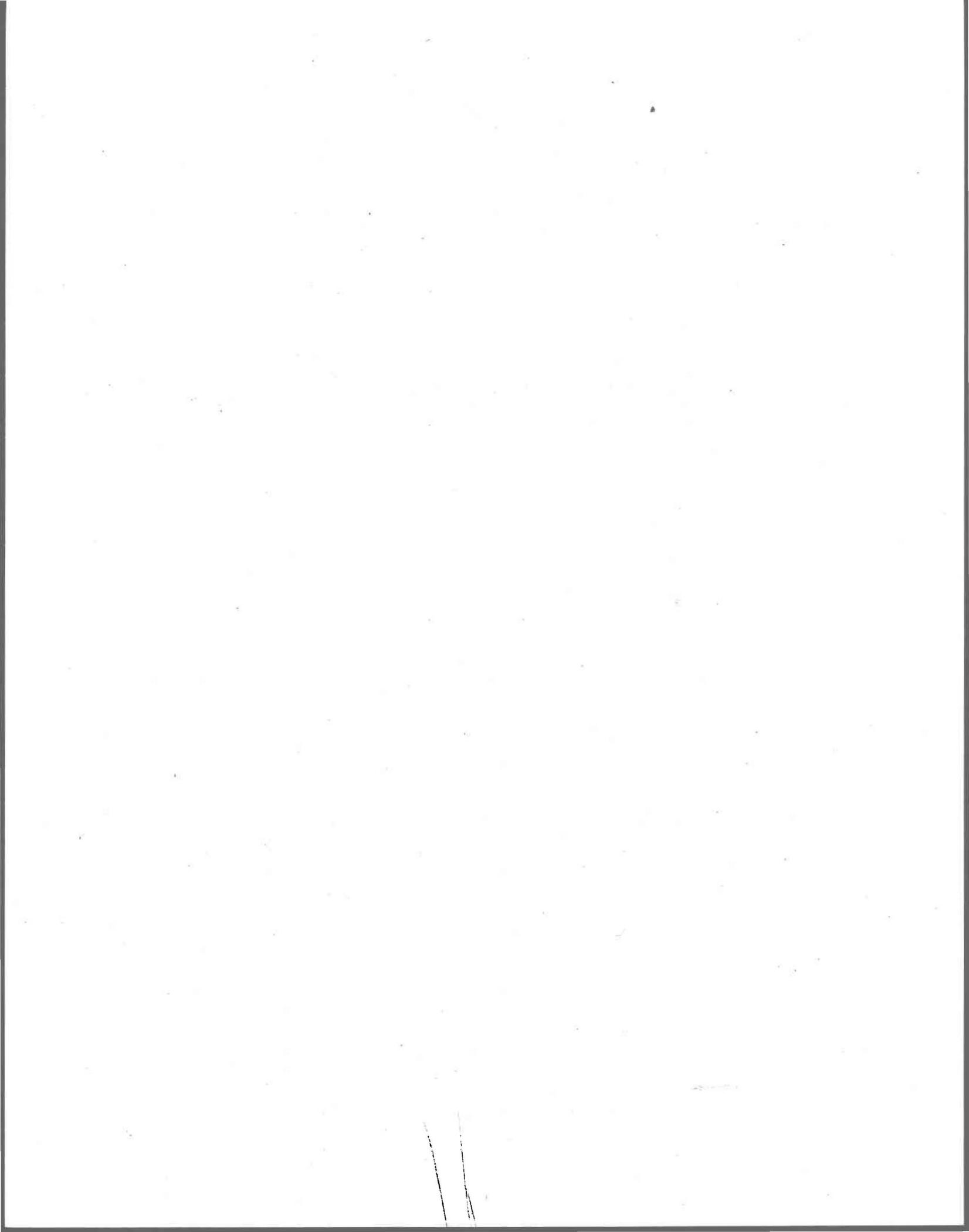


Fig. 2 . Schéma d'une colonne .



nu en bactéries actives dans le cycle de l'azote soit déterminé. Nous avons vu, dans l'introduction, que les bactéries actives dans le cycle de l'azote sont, comme tous les autres microorganismes, affectées par l'inondation. Suite à l'immersion du sol, il se crée un nouvel équilibre, différent de celui qui existe dans un sol bien drainé et adapté à des conditions de saturation en eau. Nous cherchions, grâce aux analyses microbiologiques, à voir comment chaque type de bactéries actives dans le cycle de l'azote était influencé par l'inondation. Pour ce faire, nous avons effectué des analyses microbiologiques du sol avant l'inondation (témoin) et à différents temps après l'inondation. Les résultats nous permettront peut-être la visualisation et l'interprétation de l'évolution de la microflore tellurique active dans le cycle de l'azote.

Des échantillons d'eau ont également été prélevés à la surface de la colonne dans le but de déterminer leur concentration en substances azotées et carbonées. A l'aide des résultats obtenus, nous voulions qualifier les processus de mise en solution des substances renfermées dans le sol et les relier au nouvel équilibre microbiologique du sol.

Notre modèle était conçu pour faciliter l'échantillonnage microbiologique et rendre les résultats plus représentatifs. En effet, le prélèvement, à intervalles réguliers, de deux grammes de sol à la surface, pouvait créer une perturbation de l'état d'équilibre entre l'eau et le sol inondé. Cette perturbation pouvait faire varier considérablement les résultats microbiologiques vu la faible surface de sol exposée à l'eau.

Nous avons contourné cette difficulté de la façon suivante: dans chaque colonne de type Winogradsky, quatre petites colonnes sans fond, que

nous appellerons colonnes A, chacune d'un diamètre de 2.5 centimètre, ont été fixées dans la couche de sol au début de l'expérience (Figure 3). A l'intérieur de chacune de ces colonnes, se trouvait une colonne amovible (colonne B). La colonne B renfermait du sol jusqu'au même niveau que celui dans la colonne de type Winogradsky. Le prélèvement d'un échantillon se faisait donc par l'enlèvement d'une des colonnes B, ce qui donnait un échantillon de 15.0 centimètres de long par 2.0 centimètres de diamètre. Le reste du sol contenu dans la colonne de type Winogradsky n'était pas dérangé par le prélèvement d'une colonne B. De plus, un bouchon était placé sur la colonne A après le prélèvement, de sorte que l'eau ne pouvait y circuler.

Pratiquement, toutefois, il ne nous a pas toujours été possible d'effectuer l'échantillonnage de cette façon, et il nous a souvent fallu recueillir les échantillons à l'aide d'une spatule stérilisée. Même là, le sol était recueilli à l'intérieur des colonnes B, de sorte que nous ne créions pas de perturbation du reste de la surface du sol.

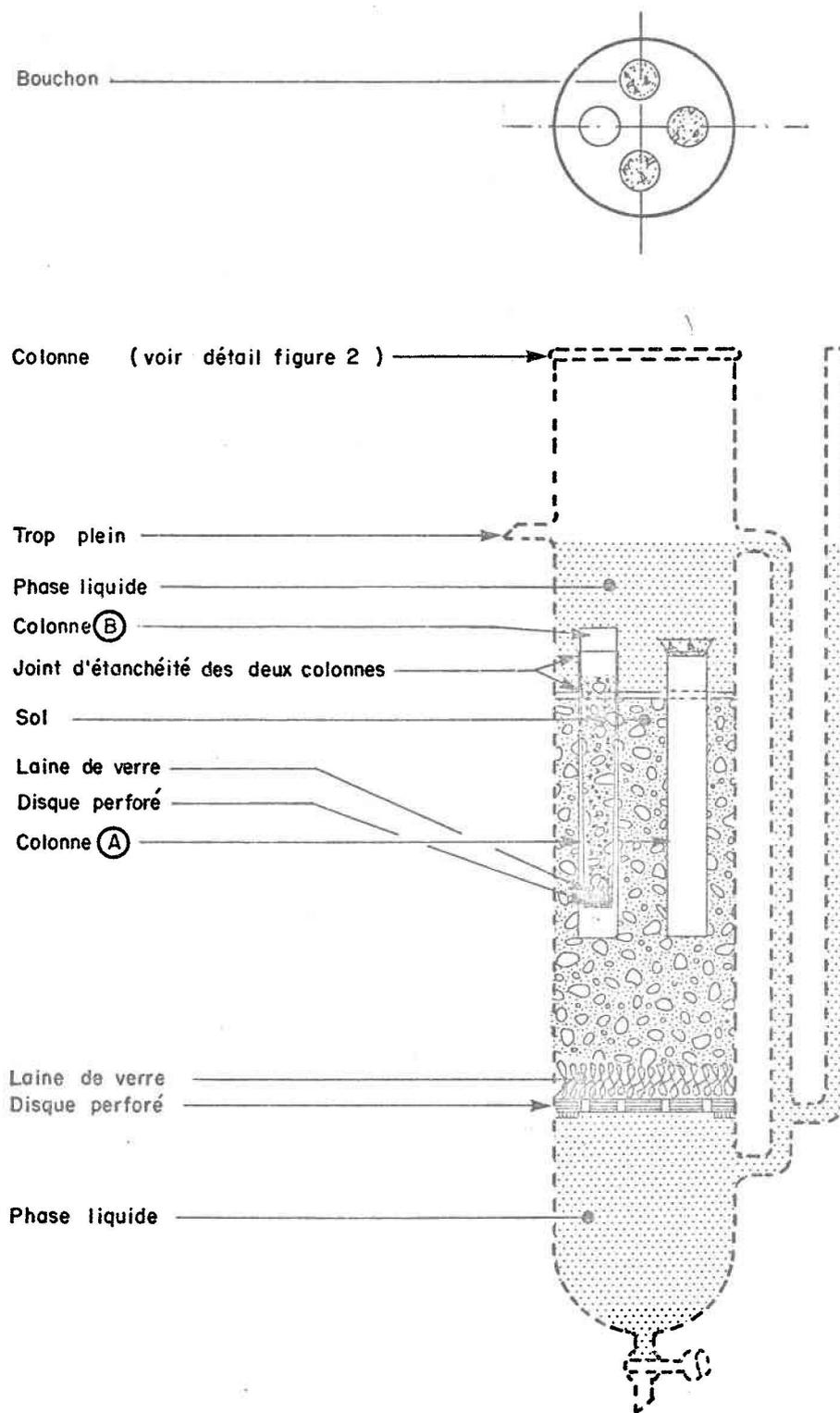


Fig. 3. Schéma des colonnes A et B.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1 Le sol

Le sol a été prélevé dans un pâturage situé près de la rivière Bulstrode à Victoriaville. Une dizaine de points d'échantillonnage ont été déterminés sur une distance de 30 mètres. A chaque point, un trou d'un diamètre de 30 centimètres et d'une profondeur de 15 centimètres était creusé et le sol, débarrassé de sa végétation, était placé dans des sacs en polythène. Environ 20 kilogrammes de sol ont ainsi été recueillis.

Au laboratoire, le sol prélevé était étendu sur un plastic, la couche de sol n'ayant pas plus de 5 centimètres d'épaisseur. Le sol était ainsi séché à la température de la pièce ($20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$) durant une semaine. Pendant cette période, le sol était remué chaque jour afin d'accélérer le séchage. Il était ensuite broyé à l'aide d'un mortier, passé dans un tamis no. 18 (ouvertures de 1.00mm^2) et placé dans des sacs en polythène. Le sol a été conservé à la température de la pièce durant trois mois avant le début des expériences.

Selon Campbell et al. (1974), le sol que nous avons utilisé a les caractéristiques suivantes. Il est formé d'alluvions récentes et a le type "limon argilo-sableux".

C organique:	3.56%
N	: 0.25%
C/N	: 12.7 - 14.4
ISO	: 0.5 - 1.0

% sable	:	47.2
% limon	:	30.2
% argile	:	22.6
pH	:	6.4
P assimilable:		4.8 ppm

Bases échangeables:

Ca:	5.9 meg/100g
Mg:	0.11 meg/100g
K :	0.10 meg/100g
Na:	0.04 meg/100g

Dithionite:

Fe:	0.67%
Al:	0.19%

Oxalate:

Fe:	0.4%
Al:	0.27%

Pyrophosphate:

Fe:	0.34%
Al:	0.25%

3.2 L'eau

Deux types d'eau ont été utilisés: l'eau pure était en fait de l'eau distillée (non-déionisée) tandis que l'eau polluée était prélevée dans les conduites d'égout de Ste-Foy. Un gallon d'eau polluée était recueilli

à chaque semaine dans un puits de regard pendant la durée des expériences. Cette eau était conservée à l'obscurité à 4°C dans un contenant en verre pendant un temps maximum de quatre jours avant son utilisation.

L'eau polluée étant recueillie à chaque semaine, ses caractéristiques variaient. Nous donnons ci-après les intervalles pour les concentrations des paramètres qui nous intéressent.

pH	6.85 - 7.32
Conductivité	420 - 725 mmhos/cm
Azote ammoniacal	7.0 - 13.0 mg/l
Azote organique	6.8 - 13.4 mg/l
Nitrates	0.09 - 0.11 mg/l
Nitrites	0.002 - 0.008 mg/l
Ortho-phosphates	31.0 - 56.0 mg/l
Phosphate total inorganique	31.5 - 60.0 mg/l
Carbone inorganique	39 - 49 mg/l
Carbone organique	41 - 72 mg/l

3.3 Description des expériences

Le remplissage des colonnes de type Winogradsky était effectué de la façon suivante. La colonne était d'abord remplie d'eau à demi-capacité. Un disque perforé en teflon était ensuite descendu jusqu'à un étranglement dans la colonne. On déposait de la laine de verre sur le disque en prenant soin d'expulser toutes les bulles d'air. Environ 2 kilogrammes de sol étaient ensuite entassés sur la laine de verre. En même temps que le sol, les quatre colonnes (A et B) étaient introduites dans la colonne de type Winogradsky de façon à ce que le niveau de sol soit le même dans les colon-

nes B et dans la colonne de type Winogradsky. On ajustait le volume d'eau de façon à ce que chaque colonne en contienne 1.5 litres.

L'eau percolait à travers le sol et était recueillie dans la partie inférieure de la colonne. Cette eau était dirigée vers la partie supérieure de la colonne grâce à une pompe à air ou à azote. En effet, cette dernière poussait le gaz dans le bras de la colonne; une perte de charge était ainsi créée et l'eau était remontée vers la surface par la pression exercée par le gaz.

Les huit colonnes étaient placées durant 64 jours dans des conditions expérimentales différentes qui sont décrites dans le tableau 5.

TABEAU 5: Description des conditions expérimentales

Colonne	Type d'eau	Facteur variable
I	Eau pure	Température: 20°C
II	Eau polluée	Température: 20°C
III	Eau pure	Alternance sécheresse-inondation
IV	Eau polluée	Alternance sécheresse-inondation
V	Eau pure	Température: 4°C
VI	Eau polluée	Température: 4°C
VII	Eau pure	Anaérobiose
VIII	Eau polluée	Anaérobiose

Dans le cas des colonnes VII et VIII, la pompe était remplacée par une bonbonne d'azote grade 40. Quant aux colonnes III et IV, l'eau était vidangée par le robinet situé dans la partie inférieure de la colonne pour simuler une période de sécheresse. Aucun jet d'air n'était utilisé pour

assécher le sol, de sorte que seule la couche superficielle (1 à 2 centimètres) était asséchée durant la période sèche. A la fin de cette période, l'eau qui avait été conservée à 4°C était réadmise dans la colonne par le même robinet grâce à une pression. Les colonnes III et IV ont été soumises à trois cycles inondation-sécheresse.

Premier cycle:	inondation:	jours 0-8
	sécheresse:	jours 9-19
Deuxième cycle:	inondation:	jours 20-36
	sécheresse:	jours 37-42
Troisième cycle:	inondation:	jours 43-57
	sécheresse:	jours 58-64

Les résultats pour le premier cycle ne sont pas disponibles, l'eau vidangée de la colonne ayant été jetée. Les résultats ne seront donc présentés qu'à partir du jour 20 qui devient alors le jour 0 et on référera au premier cycle comme au lessivage initial.

Afin de mesurer l'effet de l'inondation sur la qualité de l'eau et sur les bactéries telluriques actives dans le cycle de l'azote, nous avons effectué plusieurs analyses de l'eau et du sol.

Les échantillons d'eau (160 millilitres) ont été prélevés dans la partie supérieure de la colonne aux jours 0, 4, 8, 15, 22, 36, 43, 57 et 64. Une quantité d'eau pure ou polluée était ajoutée dans la colonne après chaque prélèvement afin de compenser pour les pertes d'eau dues au prélèvement et à l'évaporation. Les colonnes n'étant pas fermées de façon étanche, il se produisait toujours une certaine évaporation entre les jours de prélèvements, facteur dont on a dû tenir compte dans l'interprétation des résultats.

Les analyses chimiques suivantes ont été effectuées sur ces échantillons d'eau: pH, conductivité, azote ammoniacal (NH_4^+), azote total (N-tot.), nitrates (NO_3^-), nitrites (NO_2^-), ortho-phosphates (o-PO_4^{--}), phosphates totaux (PO_4^{--} -tot), carbone organique (TOC) et carbone inorganique (TIC). Les méthodes analytiques sont décrites plus loin.

Les échantillons de sol étaient prélevés à l'aide d'une spatule stérilisée jusqu'à une profondeur de 2 centimètres de la surface. Chaque échantillon était séparé en deux parties de poids mouillé égal. Une partie servait aux analyses microbiologiques, tandis que la deuxième était séchée à 105°C afin de connaître le poids sec. Les méthodes analytiques sont décrites plus loin tandis que le tableau 6 donne les dates des prélèvements pour les analyses microbiologiques.

TABLEAU 6: Jours des prélèvements pour les analyses microbiologiques

Jour	Echantillons analysés
1	Témoin; colonnes I, II, III et IV
6	Colonnes I, III, V et VII
20	Colonnes I, III, V et VII
46	Colonnes II et IV
47	Colonnes V et VII
65	Témoin; colonnes II et IV
66	Colonnes I, III, V et VII

Des échantillons de sol ont également été prélevés au jour 66 dans chaque colonne. Le but de cet échantillonnage était de voir si le pourcentage de matière organique présent dans le sol variait entre les différentes colonnes.

3.4 Méthodes analytiques

3.4.1 Analyses chimiques de l'eau

Les échantillons d'eau étaient prélevés à l'aide d'une pipette graduée à raison de 160 millilitres par colonne. La détermination du pH et de la conductivité était effectuée immédiatement à l'aide d'un pH mètre et d'un conductivité-mètre, tous deux de type "Radiometre". Les échantillons étaient ensuite filtrés sous vide à l'aide d'un filtre millipore 0.45 micromètres et conservés à 4°C durant une période maximum de 12 heures pour les autres analyses.

a) Azote ammoniacal

L'azote ammoniacal était mesuré sur un appareil "Technicon Auto Analyser" pour un intervalle de 0 à 10 parties par million d'azote. La procédure automatisée utilise la réaction de Berthelot selon laquelle la formation d'un composé de couleur verte (indophénol) se produit quand la solution d'un sel ammonium est ajoutée à du phénoxyde de sodium, puis est suivie de l'addition d'hypochlorite de sodium. Une solution de potassium sodium tartrate est ajoutée à l'échantillon pour éliminer la précipitation d'hydroxydes de métaux lourds qui peuvent être présents (Van Slyke et Hiller, 1933; Bolleter et al., 1961).

b) Azote total

La concentration d'azote total était déterminée par la méthode de Kjeldahl (micro-Kjeldahl). L'azote de l'échantillon est transformé en azote ammoniacal par une digestion avec de l'acide sulfurique (H_2SO_4) concentré. Le produit de la digestion est ensuite distillé avec de l'hydroxyde de

sodium (NaOH) après quoi on y ajoute du réactif de Nessler. La concentration d'azote ammoniacal est déterminée par lecture dans un spectrophotomètre à 425 nanomètres (Bremner, 1960).

c) Nitrites

La concentration de nitrites était mesurée dans un appareil "Technicon Auto Analyser" pour un intervalle de 0.0 à 1.0 partie par million d'azote. Dans des conditions acides, l'ion nitrite réagit avec du sulfanilamide pour produire un composé diazo qui se lie avec du dihydrochlorure N-1-naphthylethylenediamine pour former une teinture soluble qui est mesurée par colorimétrie (520 nanomètres) (Standard Methods, 1965; Kamphake et al., 1967; Federal Water Pollution Control Administration, 1969).

d) Nitrates

Un appareil "Technicon Auto Analyser" était utilisé pour la détermination des nitrates (intervalle de 0.0 à 2.0 parties par million d'azote). Les nitrates sont réduits en nitrites par une colonne réductrice de cuivre-cadmium. Les nitrites ainsi formés sont mesurés tel que nous l'avons décrit précédemment. La quantité de nitrates est obtenue en soustrayant la concentration des nitrites (paragraphe précédent) de la concentration retrouvée par cette méthode (Armstrong et al., 1967; Federal Water Pollution Control Administration, 1969).

e) Ortho-phosphates

La concentration d'ortho-phosphates était mesurée sur un appareil "Technicon Auto Analyser" pour un intervalle de 0 à 10 parties par million de phosphates. La détermination automatisée dépend de la réaction du molyb-

date d'ammonium qui, dans un milieu acide, forme de l'acide molybdophosphorique. Cet acide est alors réduit par réaction avec de l'acide ascorbique en complexe de bleu de molybdène (Murphey et Riley, 1962).

f) Phosphates totaux inorganiques

Ce paramètre était mesuré sur un appareil "Technicon Auto Analyser" (intervalle de 0 à 10 parties par million de phosphates). Les phosphates condensés sont d'abord transformés en ortho-phosphates par hydrolyse avec de l'acide sulfurique. La concentration de phosphate est alors déterminée par la réduction de l'acide phosphomolybdique avec de l'acide ascorbique (Murphey et Riley, 1962).

g) Carbone organique (TOC) et carbone inorganique (TIC)

Les analyses de TIC et de TOC étaient effectuées sur un appareil "Beckman Total Organic Carbon Analyser", modèle 915. Le carbone présent sous forme inorganique est transformé grâce à un catalyseur d'acide phosphorique sur quartz à une température de 150°C en bioxyde de carbone. Le carbone organique est transformé en bioxyde de carbone à une température de 950°C grâce à un catalyseur d'oxyde de cobalt. Le bioxyde de carbone est mesuré par l'absorption dans la région infra-rouge.

Les échantillons ayant été conservés à 4°C pendant environ un mois, il est possible que les résultats aient été influencés par l'activité bactérienne. De plus, il peut s'être produit un échange entre les gaz (bioxyde de carbone) en solution et dans l'atmosphère.

3.4.2 Analyses microbiologiques du sol

La structure du sol n'est pas homogène. Outre les divers microsites que nous ne considérerons pas ici, la composition du sol varie avec la profondeur. En surface, la concentration de matière organique est plus grande en raison de la présence de résidus végétaux et animaux qui sont continuellement ajoutés au sol. Le rapport C/N diminue avec la profondeur. De plus, les formes sous lesquelles certaines substances sont présentes dans le sol varient aussi avec la profondeur. Par exemple, l'azote est retrouvé presque essentiellement sous forme ammoniacale à quelques centimètres sous la surface, alors que la forme organique prédomine à la surface. L'azote ammoniacal est fixé sur les complexes échangeurs d'ions.

Cette disparité entraîne une distribution également variée des microorganismes dans le sol, puisque le facteur limitant le plus souvent leur croissance est l'insuffisance de matière organique. Cela s'applique, il va sans dire, aux hétérotrophes. Etant donné le manque de substances nutritives, il y a une compétition sévère entre les différents types de microorganismes. Les hétérotrophes assurent leur survie grâce à leur capacité d'utiliser un substrat répandu dans les conditions où se trouve ce substrat. Quant aux autotrophes, leur présence n'est pas directement liée avec la présence de la matière organique. Cependant, ils sont souvent sensibles aux mêmes conditions qui affectent la distribution des substances nutritives dans le sol (i.e. l'oxygénation, l'humidité, etc.). Ces organismes livrent leur combat pour la vie en se spécialisant dans l'utilisation de sources de nourriture non disponibles à la majorité des autres habitants du sol.

Tenant compte de ces considérations et du temps disponible, nous avons échantillonné seulement la surface (2 centimètres) du sol inondé. Cette méthode nous a permis de retrouver un nombre suffisamment élevé de bactéries, ce dont nous doutions pour un échantillon pris en profondeur.

Plusieurs méthodes sont disponibles pour le dénombrement des bactéries présentes dans le sol. Nous avons choisi la méthode des suspensions-dilutions de sol telle que décrite par Pochon et Tardieux (1962).

L'échantillon de sol est d'abord broyé au mortier puis est mis en suspension dans de l'eau stérile. C'est à partir de cette suspension que sont préparées des dilutions qui serviront à l'ensemencement des milieux de culture. Pour chaque dilution, on compte trois ou cinq tubes contenant un milieu de culture. La lecture des résultats consiste à compter, pour chaque dilution, le nombre de tubes où l'on trouve une croissance. On admet que la présence d'un germe viable dans l'inoculum est nécessaire et suffisante pour qu'il y ait croissance. La détermination du nombre le plus probable de germes est alors déduite du nombre de tubes positifs trouvé pour quelques dilutions consécutives selon les tables de McCrady.

Les sept groupes suivants de bactéries ont été déterminés: fixateurs aérobies, fixateurs anaérobies, germes protéolytiques, ammonificateurs, ferments nitreux, ferments nitriques et dénitrificateurs. Les milieux de culture employés de même que les tests servant à déterminer la présence des bactéries sur ces milieux sont décrits dans les paragraphes qui suivent.

a) Fixateurs aérobies

Un milieu liquide bien aéré et ne contenant pas d'azote combiné

est ensemencé avec les suspensions-dilutions de sol. Ce milieu contient une solution saline standard, du mannitol, un extrait de terre, une solution d'oligo-éléments et du carbonate de calcium. La présence de bactéries dans les milieux de culture se manifeste par la formation d'un voile brun entre le 5e et le 10e jour (Augier, 1956).

b) Fixateurs anaérobies

Un milieu liquide ne contenant pas d'azote combiné est ensemencé avec les suspensions-dilutions de terre. Les ingrédients de ce milieu sont une solution saline standard, du phosphate monopotassique, de la soude décimale, du glucose, un extrait de terre et une solution d'oligo-éléments.

Chaque tube contient une cloche de Durham. La présence de fixateurs est détectée grâce à la formation de gaz dans la cloche après une incubation de quinze jours (Augier, 1957).

c) Germes protéolytiques

Un milieu salin additionné de gélatine comme seule source de carbone et d'azote est ensemencé avec des suspensions-dilutions de sol. La concentration de la gélatine est telle que le milieu est liquide à la température de la pièce, mais devient solide après une heure et demie à 4°C. Les tubes sont donc soumis à cette basse température; on considère que la protéolyse s'est produite dans les tubes où le milieu reste liquide (attaque de la gélatine) (Lajudie et Chalvignac, 1956).

d) Ammonificateurs

Un milieu liquide salin additionné d'asparagine comme seule source

de carbone et d'azote est ensemencé avec les suspensions-dilutions de sol. L'apparition d'ammoniaque, telle qu'indiquée par le réactif de Nessler révèle la présence de germes ammonificateurs.

e) Ferments nitreux

Un milieu liquide contenant du sulfate d'ammonium comme seule source d'azote est ensemencé avec les suspensions-dilutions de terre. Le réactif à la diphénylamine sulfurique révèle par une couleur bleue la présence de nitrites, composés issus de l'activité des ferments nitreux.

f) Ferments nitriques

Un milieu liquide contenant du nitrite de sodium comme seule source d'azote est ensemencé avec les suspensions-dilutions de terre. Après avoir éliminé les nitrites en ajoutant de l'urée au milieu acide, la présence de nitrates est recherchée par l'addition du réactif à la diphénylamine sulfurique (Coppier et de Barjac, 1952).

g) Dénitrificateurs

Un milieu liquide où l'azote est fourni sous forme de nitrates de potassium est ensemencé avec des suspensions-dilutions de terre. On recherche dans ces tubes la présence de nitrates avec le réactif à la diphénylamine sulfurique, après avoir éliminé les nitrites qui ont pu se former. La présence de nitrates, après une certaine période d'incubation, indique l'absence de dénitrificateurs (de Barjac, 1952).

3.4.3 Analyses du sol

a) Matière organique

Le pourcentage de matière organique a été déterminé de façon approximative dans des échantillons de sol prélevés dans chacune des colonnes au jours 66 de la manière suivante. Les échantillons de sol sont séchés à 105°C durant 24 heures pour obtenir le poids sec. Ensuite, ces mêmes échantillons sont placés dans un four à 550°C pendant 24 heures et pesés. La différence entre ce poids et le poids sec est considéré comme représentatif de la quantité de matière organique présente dans le sol (Jackson, 1959).

b) Azote

Le pourcentage d'azote contenu dans le sol a été déterminé par la méthode de Kjeldahl qui comprend deux étapes. La première réside en une digestion de l'échantillon afin de transformer l'azote total en azote ammoniacal. La deuxième consiste en la détermination de l'azote ammoniacal contenu dans le résidu de la digestion. Cette digestion est effectuée par un chauffage de l'échantillon dans de l'acide sulfurique contenant du sulfate d'ammonium et du cuivre comme catalyseur. La concentration d'azote ammoniacal est déterminée par un titrage du résidu de la digestion à l'aide d'un alkali (Bremner et Shaw, 1958).

4. INTERPRETATION DES RESULTATS

4.1 Etude chimique de l'eau

Avant de procéder à l'interprétation des résultats des analyses chimiques effectuées sur l'eau, il a fallu multiplier les résultats par un facteur de correction tenant compte à la fois de l'évaporation et de la quantité d'eau (160 millilitres) prélevée à chaque échantillonnage. Ce facteur variait donc selon la quantité d'eau évaporée entre deux prélèvements. Dans le cas des colonnes renfermant de l'eau polluée, il a fallu, en plus, tenir compte des concentrations d'azote (N-tot., NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^-), de carbone (TIC et TOC) et de phosphore (OPO_4^- et PO_4^- tot.) présentes dans l'eau polluée ajoutée après chaque prélèvement.

Les calculs ont été effectués de telle façon que les résultats qui paraissent dans les figures 4 à 31 indiquent l'augmentation ou la diminution de la concentration des différentes substances par rapport à la valeur précédente. Les résultats ne doivent être interprétés que d'une façon relative.

4.1.1 Colonne I

La figure 4 illustre les concentrations des différentes formes d'azote en solution dans la colonne I, qui contenait un sol inondé avec de l'eau pure; elle était soumise à la température de la pièce, soit $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$.

La concentration d'azote ammoniacal augmente entre les jours 0 et 22, puis diminue jusqu'au jour 43, où elle atteint alors une valeur qui reste stable jusqu'à la fin de l'expérience.

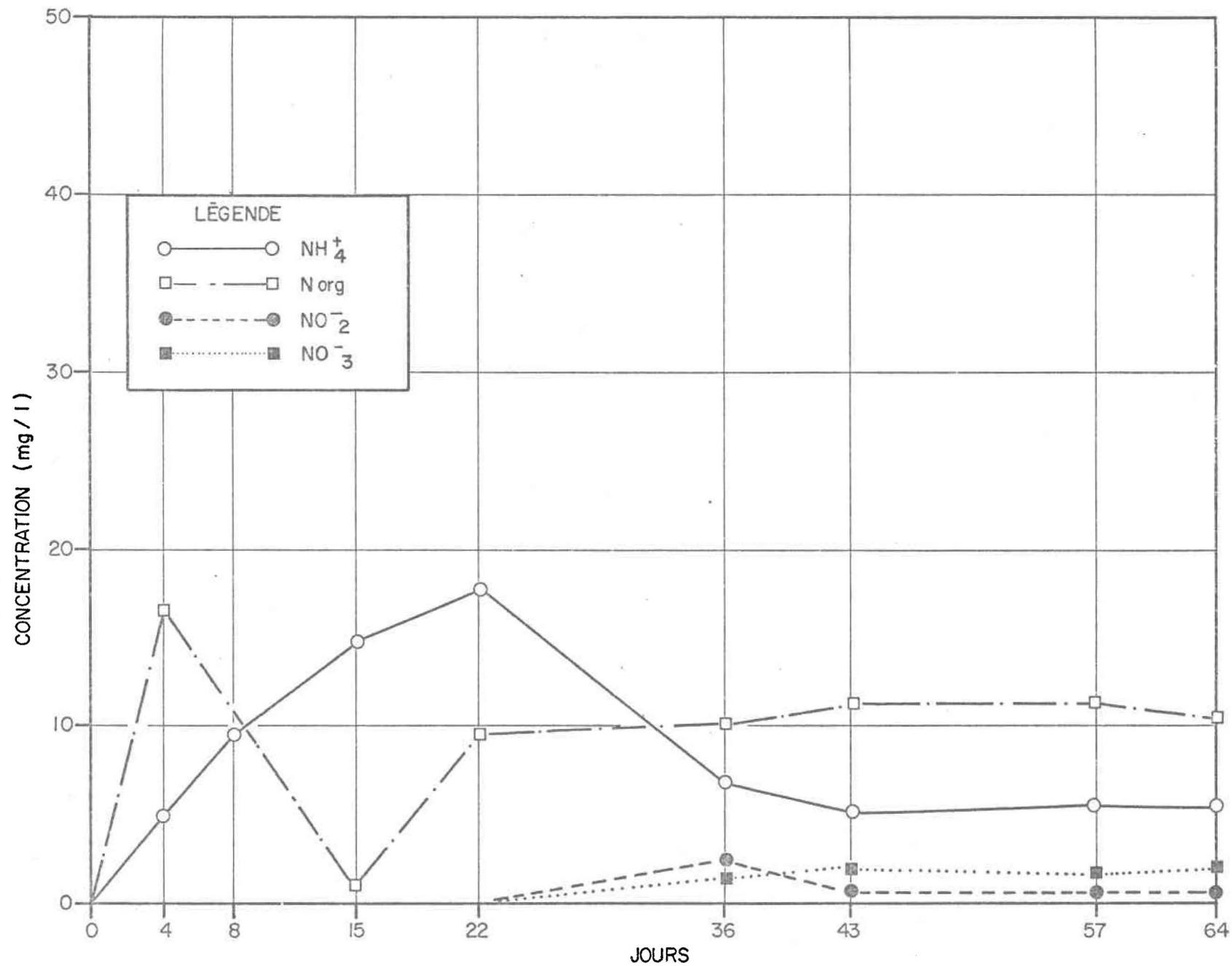


Fig. 4 . Colonne I (eau pure , 20°C) ; concentration des différentes formes d'azote en solution.

L'augmentation initiale de la concentration de l'azote ammoniacal serait due principalement au phénomène de l'ammonification. L'inondation du sol précédemment séché à l'air entraîne la mise en solution d'une grande quantité de matière organique. En effet, le séchage à l'air du sol provoque une modification de sa structure, ce qui produit une libération partielle des composés organiques prisonniers des colloïdes. Cette matière organique est rendue disponible aux bactéries ammonifiantes.

Comme nous l'avons vu précédemment, les bactéries procèdent simultanément à la minéralisation et à l'assimilation de la matière organique et il ne se produit un dégagement d'azote ammoniacal que lorsque la matière organique a un rapport C/N peu élevé. Selon la théorie de Jansson (1958), la matière organique passe continuellement dans le cycle assimilation-minéralisation, et à chaque passage, le rapport C/N de cette matière organique diminue en raison des pertes de carbone. Après plusieurs cycles, le rapport C/N devient suffisamment bas pour entraîner la libération d'azote sous forme de sels d'ammonium, phénomène connu sous le nom d'ammonification. Le rapport initial C/N peu élevé de la matière organique (page 42) et les conditions partiellement anaérobies (page 32) favorisent une libération précoce d'azote ammoniacal.

Après cette augmentation, soit vers le jour 22, la concentration d'azote ammoniacal diminue brusquement jusqu'au jour 43. Nous avons vu dans l'introduction que l'azote ammoniacal formé par ammonification a un devenir multiple (page 18). Cependant, dans le contexte de cette expérience, il est logique de ne retenir que deux de ces possibilités: l'azote ammoniacal peut être soit volatilisé sous forme d'ammoniac gazeux, soit transformé en nitrites en en nitrates par nitrification.

La volatilisation sous forme de gaz ammoniac ne peut expliquer la diminution de la concentration de l'azote ammoniacal. Ce phénomène n'a lieu que sous des conditions très spécifiques qui ne sont pas remplies dans le cadre de cette étude. La volatilisation est favorisée, entre autres, dans un contexte où la nitrification ne peut avoir lieu. Or nous verrons plus tard que la nitrification a lieu dans la colonne I.

Les pertes d'azote ammoniacal seraient donc attribuables en majeure partie à la nitrification. Cette affirmation est soutenue par le fait que la concentration de nitrites augmente au moment même où la concentration d'azote ammoniacal diminue. Cette augmentation de la concentration des nitrites est suivie à quelques jours près par une augmentation des nitrates. De plus, les nitrificateurs étant généralement présents en nombre peu élevé dans le sol, on observe une période de latence avant le début de la nitrification active. Ce laps de temps nécessaire au développement des nitrificateurs expliquerait pourquoi la concentration d'azote ammoniacal ne diminue qu'à partir du jour 22.

Toutefois, les augmentations des concentrations des nitrites et des nitrates ne sont pas suffisamment élevées pour expliquer la perte d'azote sous forme ammoniacal: elles se chiffrent respectivement à 2.5 et 2.0 milligrammes par litre, alors que la concentration d'azote ammoniacal diminue d'environ 13.0 milligrammes par litre. De plus, la concentration d'azote organique reste stable à partir du jour 22 et ne peut expliquer la diminution de la concentration d'azote ammoniacal. Il faut donc chercher l'explication des pertes dans le destin des nitrites et des nitrates formés.

Ces deux composés peuvent disparaître par l'intermédiaire de phéno-

mènes multiples, tel que nous l'avons vu aux pages 23 et 24. Le choix le plus plausible dans le cadre de cette expérience semble la dénitrification bactérienne.

Les conditions reproduites dans la colonne I sont très favorables à ce processus. L'azote ammoniacal peut être transformé en nitrites et en nitrates dans la couche superficielle oxydée. Ces deux formes d'azote étant très solubles dans l'eau, elles percolent à travers le reste du sol qui présente dans son ensemble des conditions anaérobies. Or les bactéries dénitrifiantes sont des anaérobies strictes. De plus, leur métabolisme hétérotrophe est favorisé par la présence d'une concentration élevée de matière organique dans l'eau (voir figure 5). Les nitrites et les nitrates seraient donc transformés en azote moléculaire par l'intermédiaire des bactéries dénitrifiantes dans la colonne I. Cet azote moléculaire serait ensuite perdu par libération dans l'atmosphère. Nous avons déjà cité à la page 30 plusieurs auteurs qui ont obtenu des résultats similaires (Shiori et Mitsui, 1935; Abichandí et Patnaik, 1955; Basak et al., 1957; Nelson et Hauck, 1965; Tusneem et Patrick, 1971).

Après le jour 43, les substances azotées conservent des valeurs stables. Il semble qu'un équilibre ait été atteint entre les processus de minéralisation, d'assimilation, de nitrification et de dénitrification.

Si l'on observe maintenant la figure 5, on constate que la courbe représentant le carbone organique (TOC) a la même forme que celle de l'azote organique de la figure 4. Il y a d'abord une augmentation de la concentration du carbone organique durant les quatre premiers jours. Ensuite, on observe une diminution jusqu'au jour 22, à partir duquel les concentrations se stabilisent jusqu'à la fin de l'expérience.

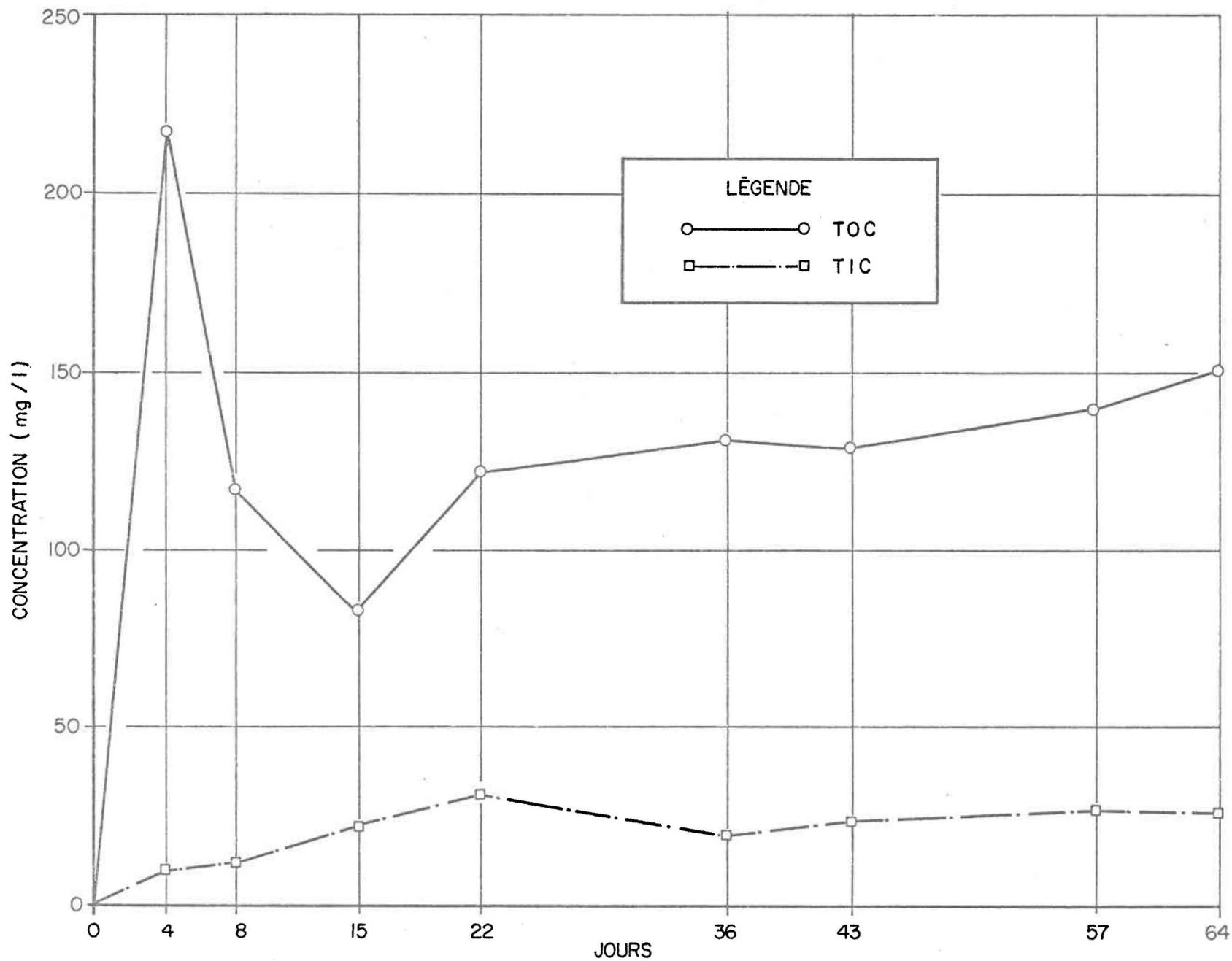


Fig. 5. Colonne I (eau pure, 20°C) ; concentration des différentes formes de carbone en solution.

L'augmentation initiale serait due à deux processus distincts. Le premier consiste dans la mise en solution physique de la matière organique présente dans le sol. Le second dépend de l'activité bactérienne. Il consiste en la dégradation de polymères en unités plus petites et plus solubles. Le rapport C/N de cette matière organique est d'environ 10, selon le rapport des concentrations de carbone organique et d'azote organique retrouvées en solution (figures 4 et 5). Ce rapport se rapproche de celui retrouvé par Campbell et al. (1974) (page 42).

La concentration de la matière organique diminue ensuite correspondant probablement à une ammonification active. Une partie de la matière organique est dégradée par des bactéries aérobies et anaérobies. Nous avons vu dans l'introduction (page 29) que les produits de la décomposition aérobie sont le bioxyde de carbone, les sulfates, l'eau et les résidus résistants, tandis que ceux de la décomposition anaérobie sont le bioxyde de carbone, le méthane, l'hydrogène, les acides organiques, l'azote ammoniacal, les amines, les mercaptans, l'hydrogène sulfureux ainsi que des résidus résistants. C'est la deuxième forme de décomposition qui prime dans un sol inondé. L'azote ammoniacal produit se retrouve en solution tel que nous l'avons vu précédemment. Quant au bioxyde de carbone produit, il n'a pas été mesuré. La matière organique qui reste après le jour 22 (azote organique et carbone organique) serait constituée de la fraction difficile à métaboliser d'une part, et des sous-produits et des résidus organiques résistants issus de la décomposition aérobie et anaérobie d'autre part.

La figure 6 illustre la variation du pH avec le temps dans la solution aqueuse de la colonne I. Le pH est relativement stable jusqu'au

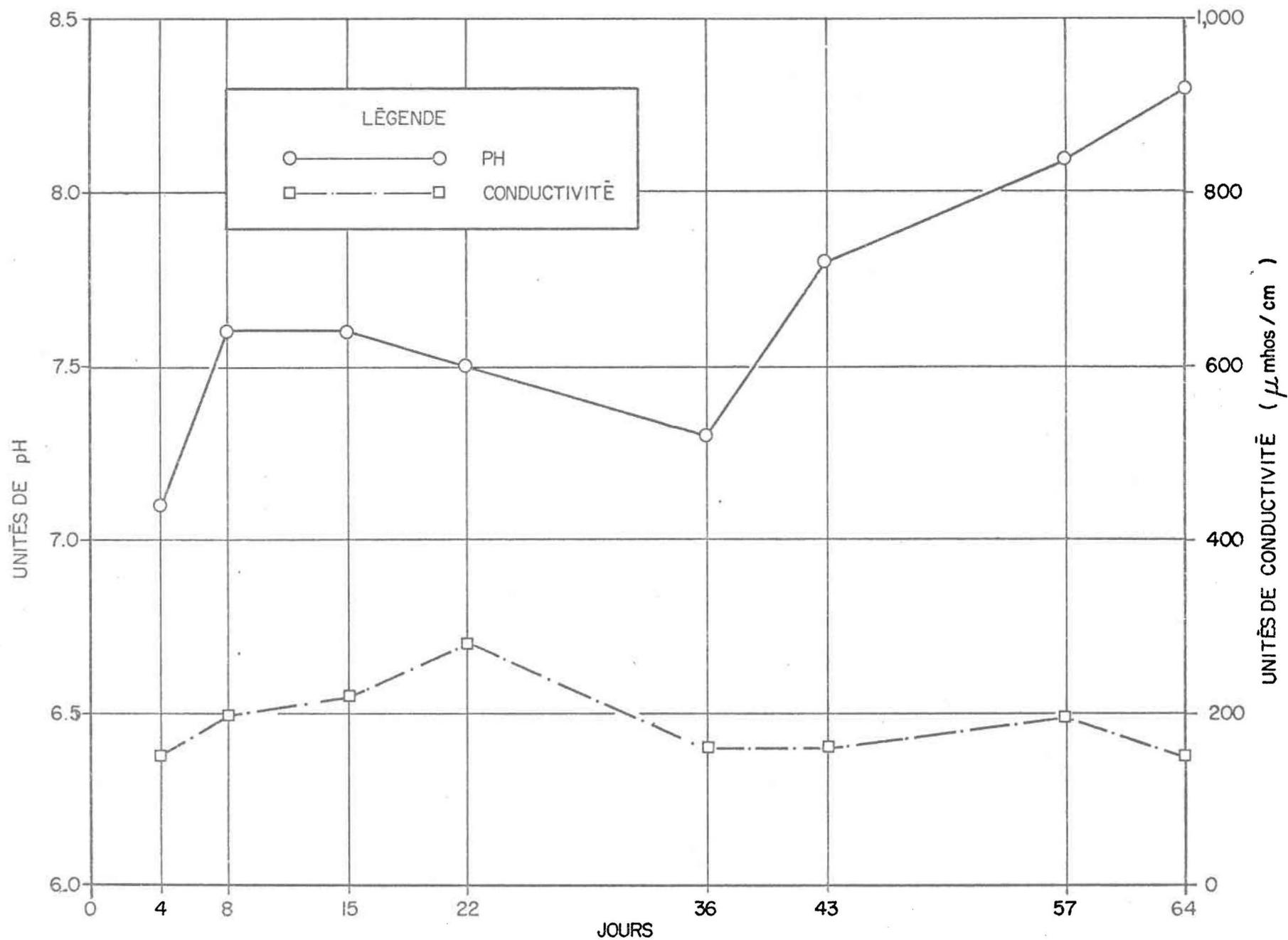


Fig. 6 . Colonne I (eau pure, 20°C); variation du pH et de la conductivité dans la solution .

jour 36, à partir duquel il augmente jusqu'à la fin de l'expérience. Il demeure toujours légèrement alcalin du début à la fin de l'expérience.

Dans la même figure, on voit la variation de la conductivité en fonction du temps. La courbe de la conductivité a la même forme que celle de l'azote ammoniacal, ce qui suggère que la conductivité est reliée au processus de la minéralisation. La conductivité est relativement élevée, se maintenant autour de 200 μmhos par centimètre.

Les concentrations d'ortho-phosphates et de phosphates totaux inorganiques ont également été mesurés dans l'eau. Ces dernières étaient rarement décelables, ce qui peut s'expliquer de deux façons. Tout d'abord, une certaine quantité de phosphates est nécessaire au métabolisme bactérien. Ensuite, les phosphates sont adsorbés plus solidement par le sol que l'azote, ce qui rend plus difficile leur mise en solution.

4.1.2 Colonne II

La figure 7 illustre la concentration des différentes formes d'azote en solution dans la colonne II. Cette dernière était maintenue sous les mêmes conditions que la colonne I à une exception près: le sol était inondé avec de l'eau polluée.

La courbe représentant l'azote ammoniacal est semblable à celle illustrée dans la figure 4. On y remarque une augmentation initiale de la concentration de l'azote ammoniacal jusqu'au jour 15, suivie d'une diminution jusqu'à la fin de l'expérience.

L'augmentation initiale de la concentration d'azote ammoniacal est semblable, par son amplitude et sa durée, à celle mesurée dans la solution

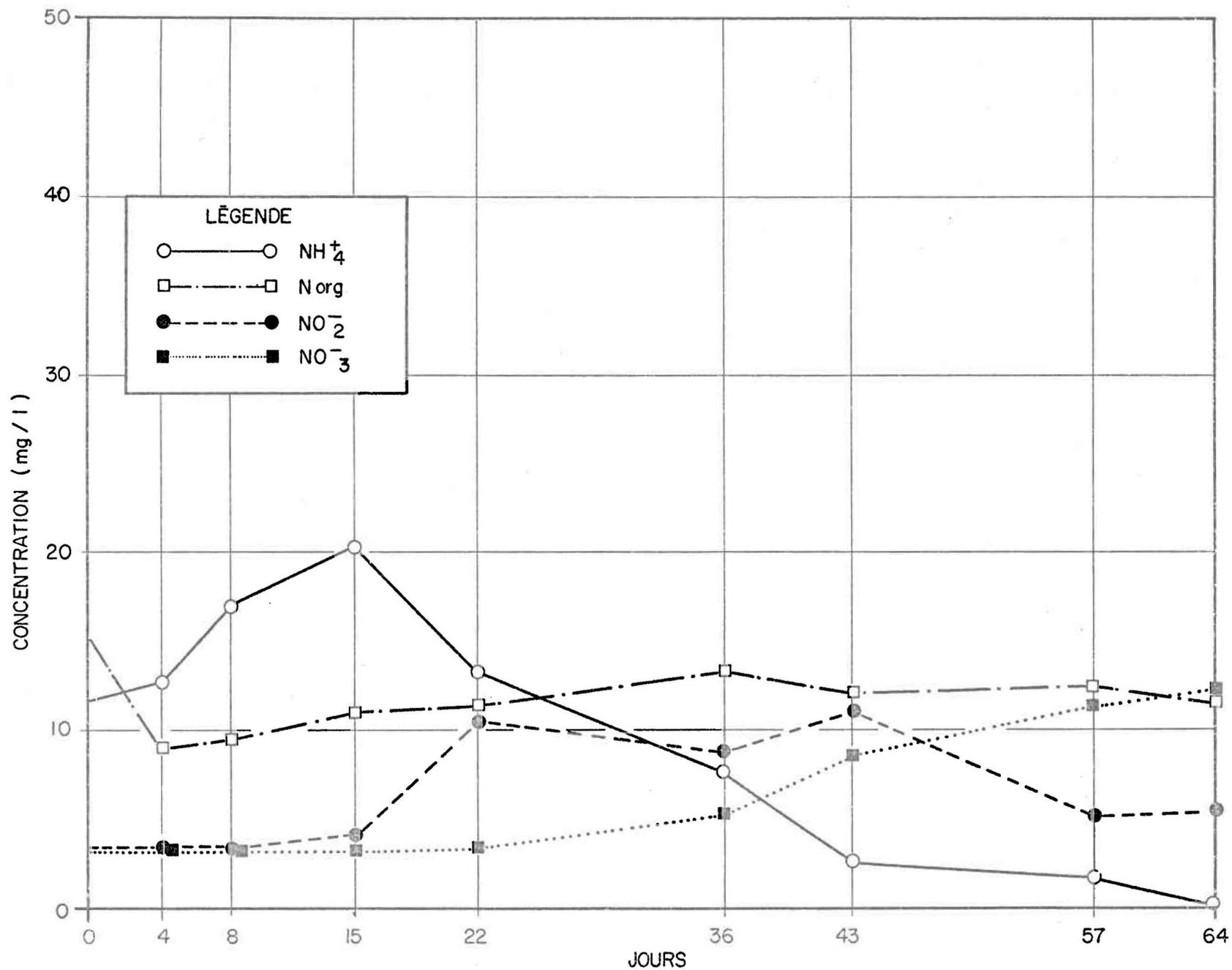


Fig. 7 . Colonne II (eau polluée, 20°C); concentration des différentes formes d'azote en solution.

aqueuse de la colonne I. Cependant, on y remarque deux différences légères. Tout d'abord, la valeur observée au jour 0 est plus élevée que pour la colonne I; cette valeur représente la concentration de l'azote ammoniacal dans l'eau polluée. En second lieu, l'augmentation de la concentration de l'azote ammoniacal est plus rapide que dans la colonne I, peut-être en raison de la présence de bactéries ammonifiantes acclimatées dans l'eau polluée.

Il existe, comme dans le cas de la colonne I, une diminution de la concentration de l'azote ammoniacal. Cette diminution aboutit cependant à la disparition complète de l'azote ammoniacal de l'eau, tandis que la période de stabilisation observée pour la colonne I entre les jours 43 et 64 est absente ici. Nous considérons que cette différence est causée par l'addition, après chaque prélèvement, d'eau contenant de l'azote ammoniacal. L'addition de ce composé stimule la nitrification aux dépens de l'ammonification. L'équilibre que l'on observait après le 43e jour dans la colonne I ne peut se créer dans la colonne II. Il est périodiquement détruit par l'apport extérieur d'azote ammoniacal.

Outre ces différences mineures, il semble que les processus en cause soient les mêmes pour les deux colonnes. On assisterait, dans la colonne II, à la minéralisation et l'ammonification de la matière organique presque dès le début, suivie de la disparition de l'azote ammoniacal. Cette diminution de la concentration de l'azote ammoniacal correspond à une augmentation de la concentration des nitrates en solution. On assisterait donc, comme dans la colonne I, à une nitrification active.

L'interprétation de la courbe de l'azote organique et de celle du

carbone organique représentées dans les figures 7 et 8 n'est pas aussi simple que dans le cas de la colonne I. On n'observe pas dans la première de pic initial. Ceci peut être dû à la présence, dans l'eau polluée, de bactéries ammonifiantes capables de minéraliser rapidement la matière organique facilement métabolisable rendue disponible suite à l'inondation du sol. Cette interprétation est renforcée par le fait que la concentration maximale d'azote ammoniacal est atteinte plus rapidement dans la colonne II que dans la colonne I. La présence de ces bactéries expliquerait également la différence entre les courbes représentant les concentrations du carbone organique en solution pour les colonnes I et II.

La figure 9 illustre les valeurs du pH en fonction du temps. Cette courbe ressemble à celle obtenue pour les valeurs du pH mesurées dans la colonne I.

La conductivité enregistrée dans la solution aqueuse de la colonne II est illustrée dans la même figure. La conductivité est beaucoup plus élevée que dans la colonne I. Ceci constitue d'ailleurs la seule différence importante dans le comportement des deux colonnes. La plus haute conductivité enregistrée dans la colonne II provient probablement de la présence d'une plus grande quantité d'ions dans l'eau polluée.

Dans la figure 10, on observe les concentrations d'ortho-phosphates et de phosphates totaux en solution. Ces deux composés étaient présents dans l'eau polluée qui a servi à l'inondation du sol; leur concentration est donc plus élevée au départ dans la colonne II que dans la colonne I. On voit que les deux formes de phosphates disparaissent rapidement de l'eau, probablement pour s'adsorber au sol.

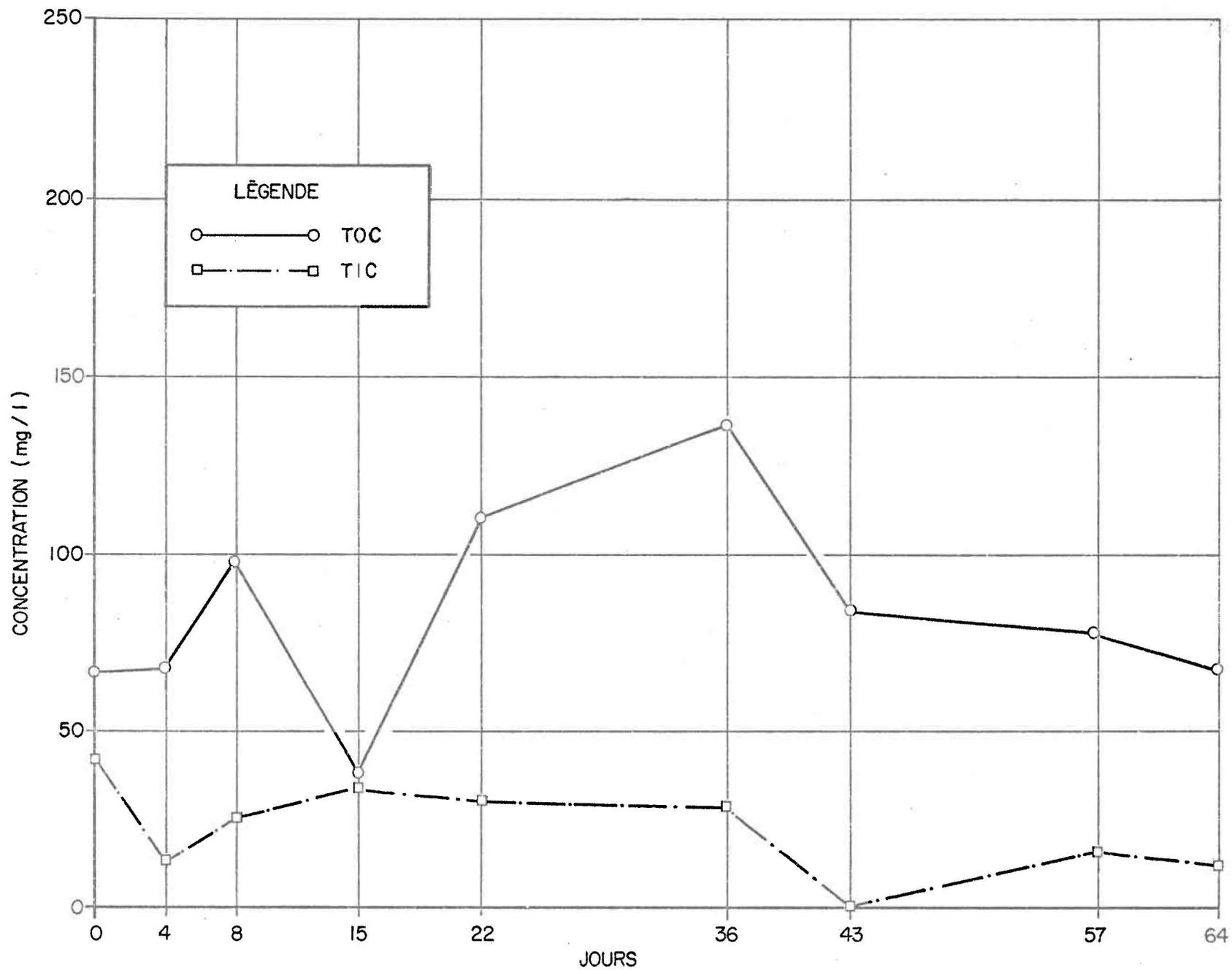


Fig. 8. Colonne II (eau polluée, 20°C); concentration des différentes formes de carbone en solution.

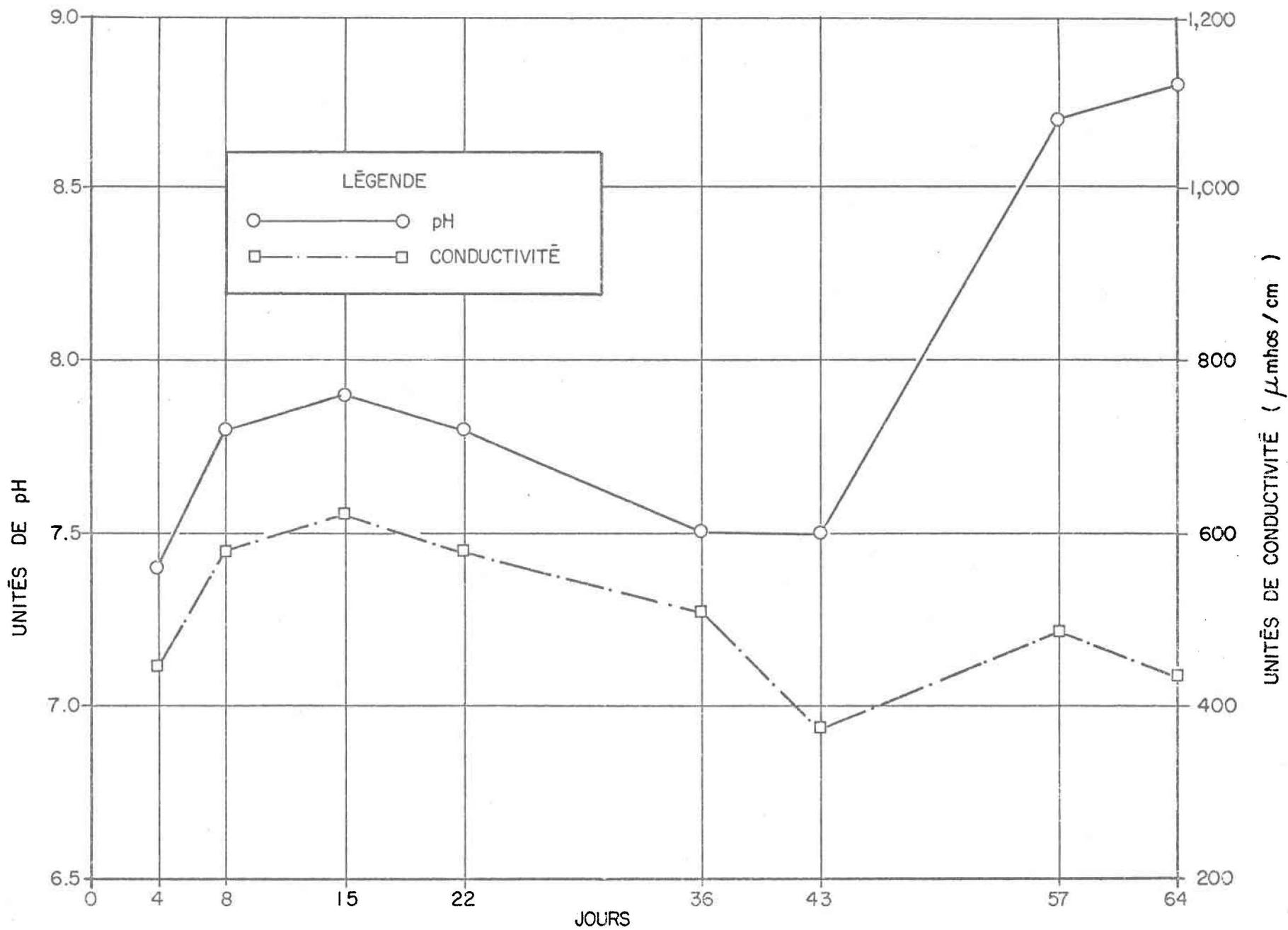


Fig. 9 . Colonne II (eau polluée, 20°C); variation du pH et de la conductivité dans la solution .

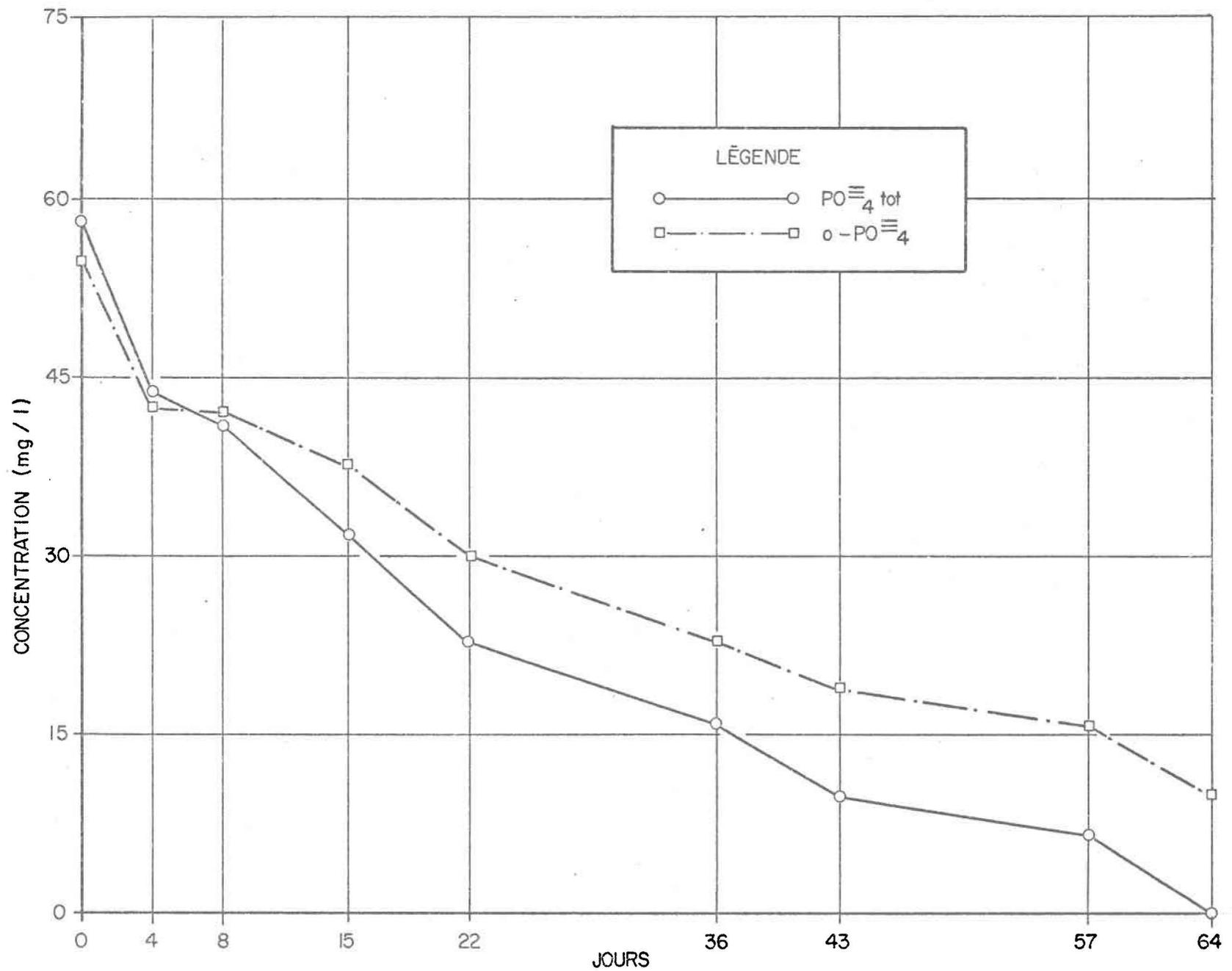


Fig. 10. Colonne II (eau polluée, 20°C); concentration des différentes formes de phosphore en solution .

4.1.3 Colonne III

La figure 11 illustre les concentrations des différentes formes d'azote en solution dans la colonne III. Le sol, dans cette colonne, était soumis à des périodes alternées d'inondation et de sécheresse; la température était de $20^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

La durée de l'expérience a été de 44 jours pour les colonnes III et IV. De plus, le sol contenu dans ces deux colonnes avait déjà été inondé durant huit jours, puis asséché durant 12 jours, avant de servir à cette expérience. Les résultats de ce premier cycle ne sont pas disponibles. Il est à craindre que ce premier lessivage ait dépourvu le sol d'une certaine quantité de matière organique et d'autres composés, influençant ainsi les résultats obtenus au cours des 44 jours suivants.

L'azote ammoniacal augmente rapidement au début pour diminuer ensuite progressivement jusqu'à la fin (figure 11). Cet azote proviendrait de l'ammonification de la matière organique du sol.

La concentration d'azote ammoniacal diminue dès le deuxième jour. L'exposition du sol à l'air durant la période d'assèchement ayant précédé l'expérience a vraisemblablement créé des conditions favorables au développement des bactéries aérobies responsables de la nitrification. D'ailleurs, la nitrification s'effectue comme elle se ferait dans des conditions idéales. La concentration des nitrates augmente constamment et il ne se produit aucune accumulation des nitrites. La nitrification serait donc directement responsable des pertes d'azote sous forme ammoniacal, comme dans les colonnes I et II.

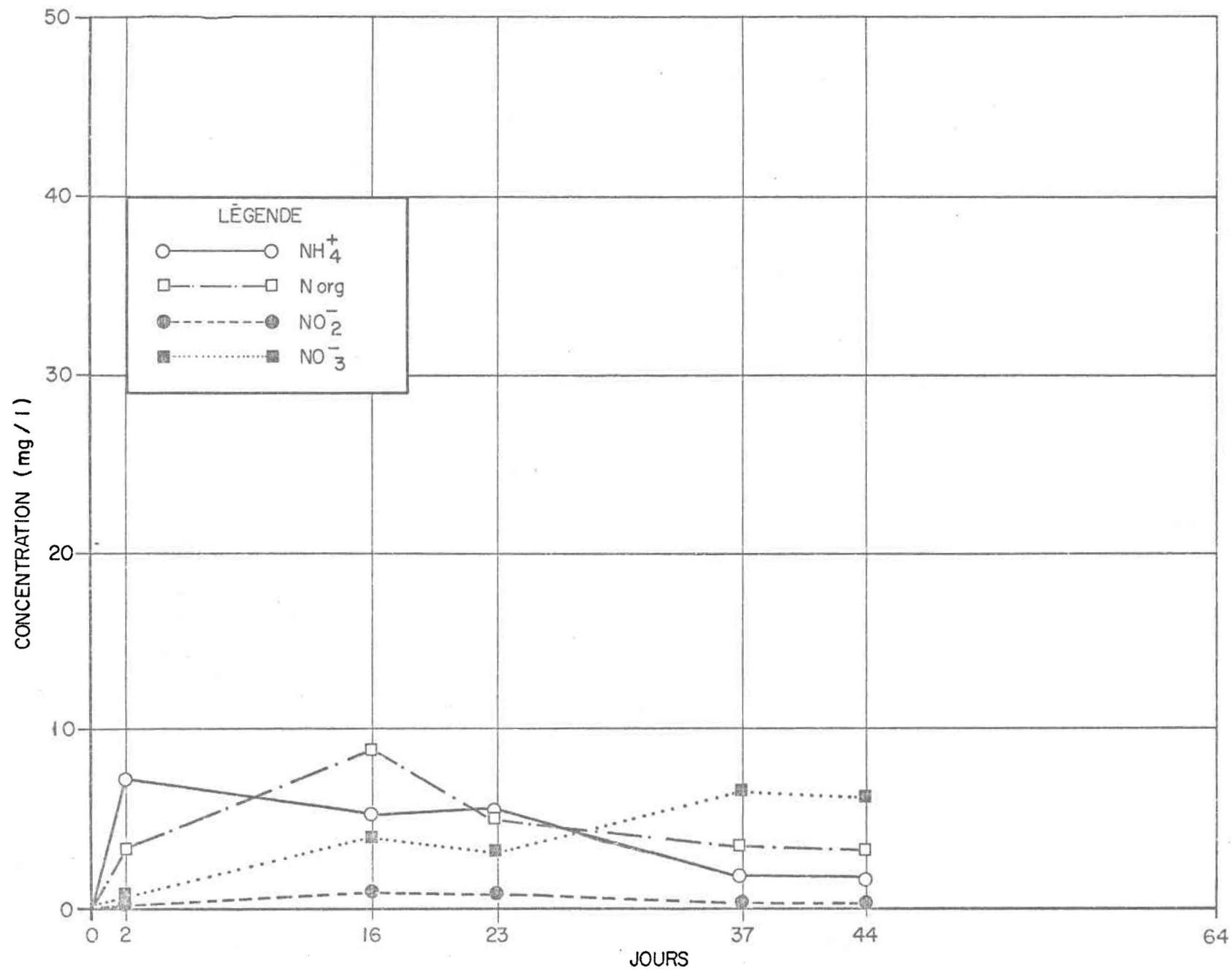


Fig. 11 . Colonne III (eau pure, alternance) ; concentration des différentes formes d'azote en solution.

La concentration des nitrates est beaucoup plus élevée dans la colonne III que dans les deux colonnes précédentes. Cette forte concentration est suffisamment élevée pour expliquer la disparition de l'azote ammoniacal. La nitrification ne serait donc pas suivie ici d'une forte dénitrification en raison, principalement, des meilleures conditions d'aération régnant dans la colonne III que dans les colonnes I et II.

Si l'on considère maintenant les courbes représentatives des concentrations d'azote organique (figure 11) et de carbone organique (figure 12), on s'aperçoit que leurs concentrations sont moins élevées que dans les colonnes I et II.

Cette différence proviendrait de deux facteurs. En premier lieu, une certaine quantité de matière organique a probablement été lessivée du sol lors du premier cycle. Deuxièmement, la décomposition aérobie est sûrement plus active dans la colonne III que dans la colonne I. Or, les bactéries aérobies effectuant une dégradation plus complète de la matière organique, laissent peu de sous-produits. Les principaux produits finaux du métabolisme aérobie sont le bioxyde de carbone et des résidus organiques résistants. Le bioxyde de carbone peut être facilement perdu dans l'atmosphère, réduisant ainsi la quantité de carbone en solution.

Il semble donc que les mêmes processus bactériens soient actifs dans les colonnes I et III. Une forte minéralisation de la matière organique aurait cependant eu lieu durant la phase initiale d'assèchement dans la colonne III. La présence d'une plus grande quantité d'oxygène aurait alors favorisé la décomposition plus complète d'une grande partie de la matière organique. En outre, la nitrification aurait été stimulée par la présence de l'oxygène durant la phase initiale.

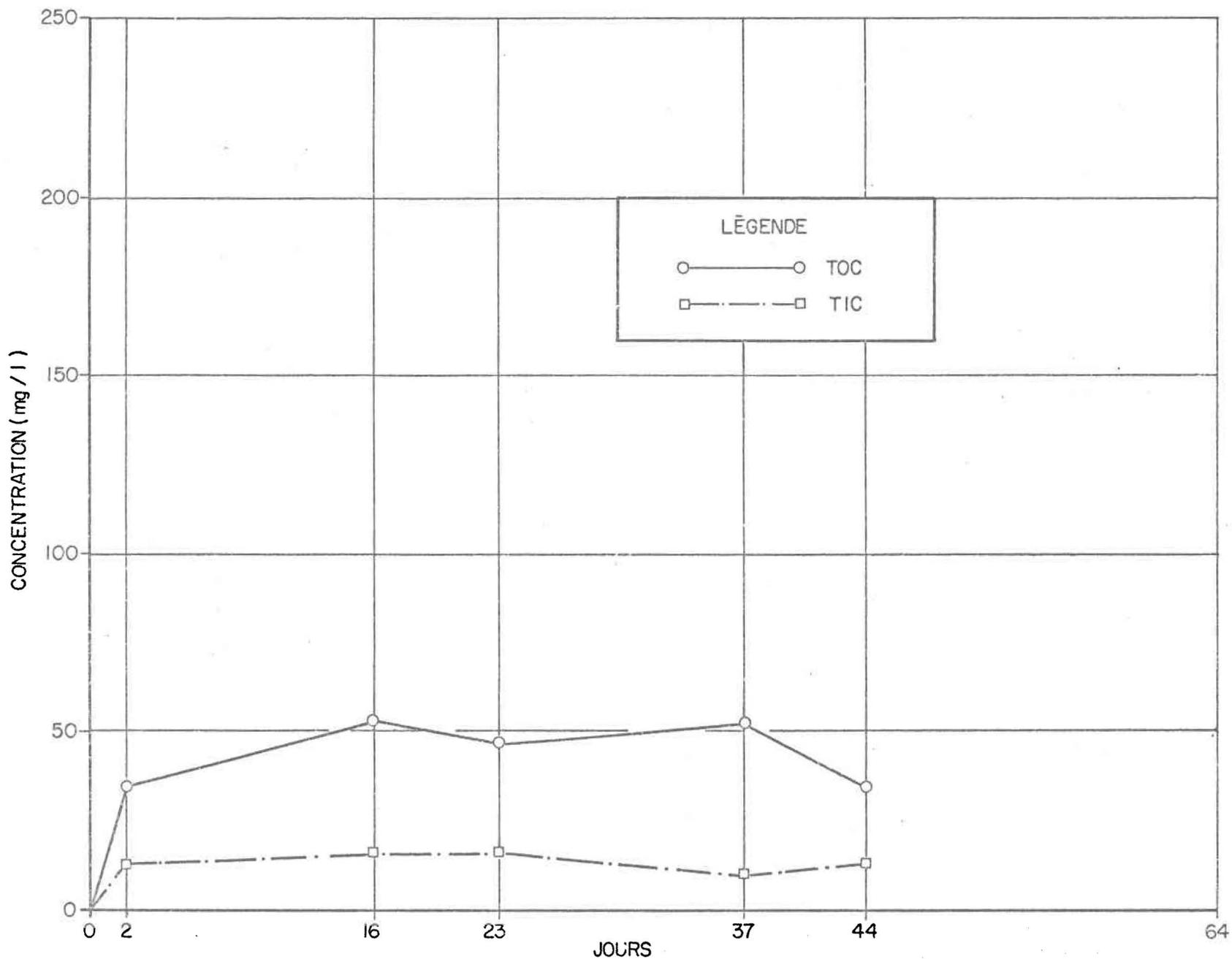


Fig. I2. Colonne III (eau pure, alternance); concentration des différentes formes de carbone en solution.

La figure 13 illustre la variation des valeurs du pH dans la colonne III. On observe que le pH est légèrement alcalin. On ne remarque pas l'augmentation finale du pH enregistrée dans les colonnes I et II.

La variation de la conductivité en fonction du temps est illustrée dans la figure 13. La conductivité est plus basse que celle enregistrée dans la colonne I. Cela provient probablement du lessivage d'ions conducteurs au cours de la première inondation du sol, et aussi de la moins grande concentration des sous-produits ioniques de la décomposition aérobie.

Les phosphates totaux et les ortho-phosphates sont rarement décelables dans l'eau. Ils sont probablement adsorbés par le sol.

4.1.4 Colonne IV

La figure 14 illustre les concentrations des différents paramètres azotés en solution dans la colonne IV. Cette dernière était soumise aux mêmes conditions que la colonne III, sauf pour l'inondation où l'on a utilisé de l'eau polluée. Ici aussi, les résultats obtenus durant les 44 jours que dura l'expérience sont influencés par le premier cycle auquel a été soumis le sol avant le début de l'expérience et pour lequel nous n'avons pas de résultats disponibles.

La courbe illustrant la variation de la concentration de l'azote ammoniacal en fonction du temps diffère de celle observée pour la colonne III. La concentration d'azote ammoniacal augmente du jour 0 au jour 37, et diminue ensuite jusqu'à la fin. De plus, la concentration d'azote ammoniacal est plus élevée que dans la colonne III.

Une raison peut être invoquée pour expliquer ces différences entre

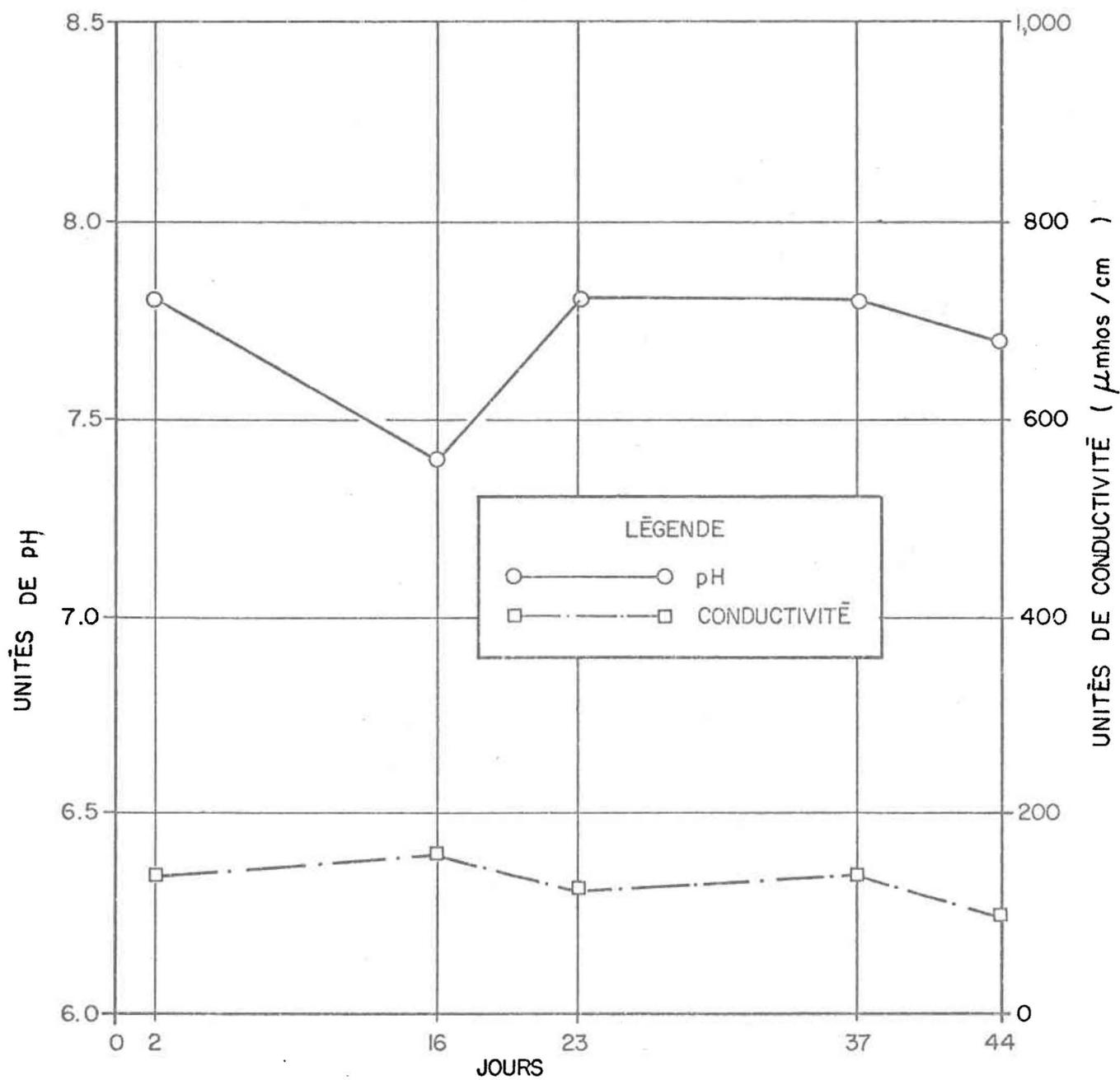


Fig. 13 . Colonne III (eau pure, alternance) ; variation du pH et de la conductivité dans la solution .

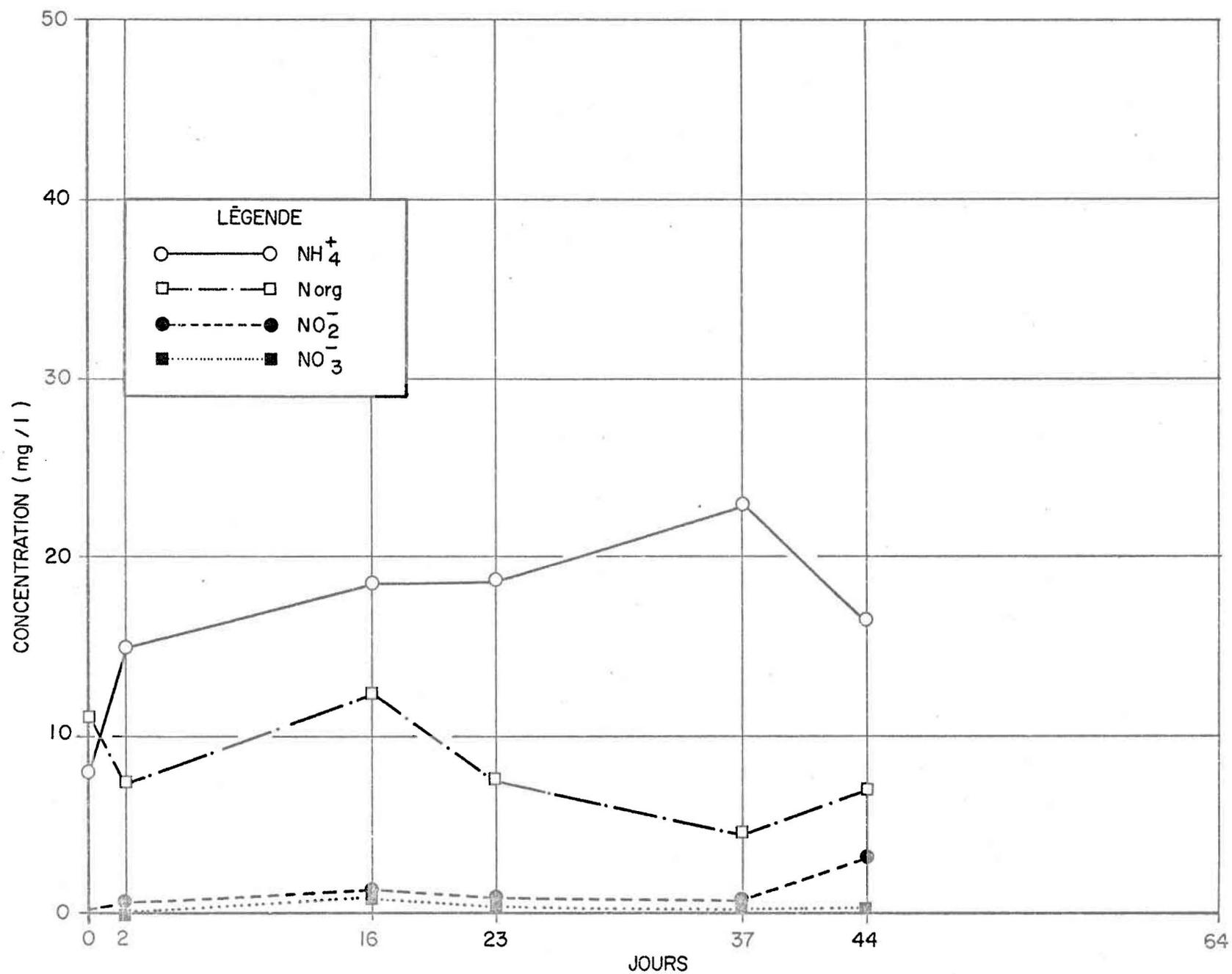


Fig . 14. Colonne IV (eau polluée, alternance.) ; concentration des différentes formes d'azote en solution .

les colonnes III et IV: l'eau polluée constitue un apport extérieur de matière organique pouvant servir de substrat aux bactéries ammonifiantes. Etant donné le lessivage initial, cette source de matière organique serait assez importante pour causer une différence entre les deux colonnes. On se rappelle que nous n'avons pas observé une telle différence entre les colonnes I et II, où il n'y eut aucun lessivage initial.

L'ammonification n'est pas le seul processus bactérien affecté. La production de nitrites ne débute qu'au jour 40 environ, alors que l'eau vidangée de la colonne (période d'assèchement) était gardée à 4°C. De plus, seuls les germes nitreux semblent actifs, car il ne se produit pas d'augmentation des nitrates.

Les concentrations d'azote organique (figure 14) et de carbone organique (figure 15) sont plus élevées que celles mesurées dans la colonne III, ce qui peut provenir de la matière organique présente dans l'eau polluée.

La figure 16 illustre les valeurs du pH enregistrées en fonction du temps dans la solution aqueuse de la colonne IV. Comme pour les autres colonnes, le pH caractérise un milieu faiblement alcalin.

Dans la figure 16, on voit la variation de la conductivité avec le temps. Ce paramètre présente des valeurs plus élevées dans la colonne IV que dans la colonne III peut-être en raison de la présence dans l'eau polluée d'une plus grande quantité d'ions.

La courbe illustrant les concentrations d'ortho-phosphates et de phosphates totaux paraissent dans la figure 17. Elle est similaire à celle représentée dans la figure 10.

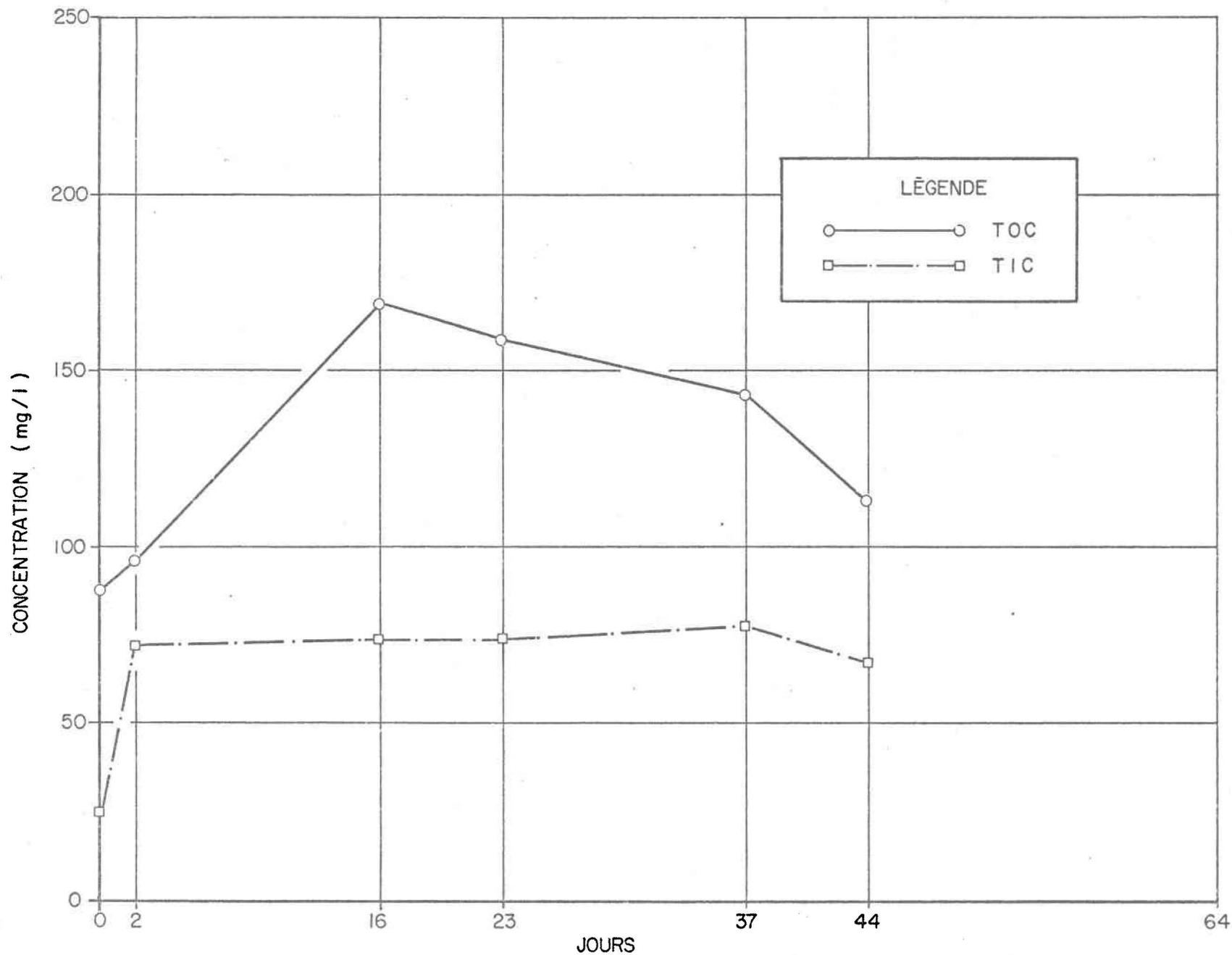


Fig. 15 . Colonne IV (eau polluée, alternance) ; concentration des différentes formes de carbone en solution .

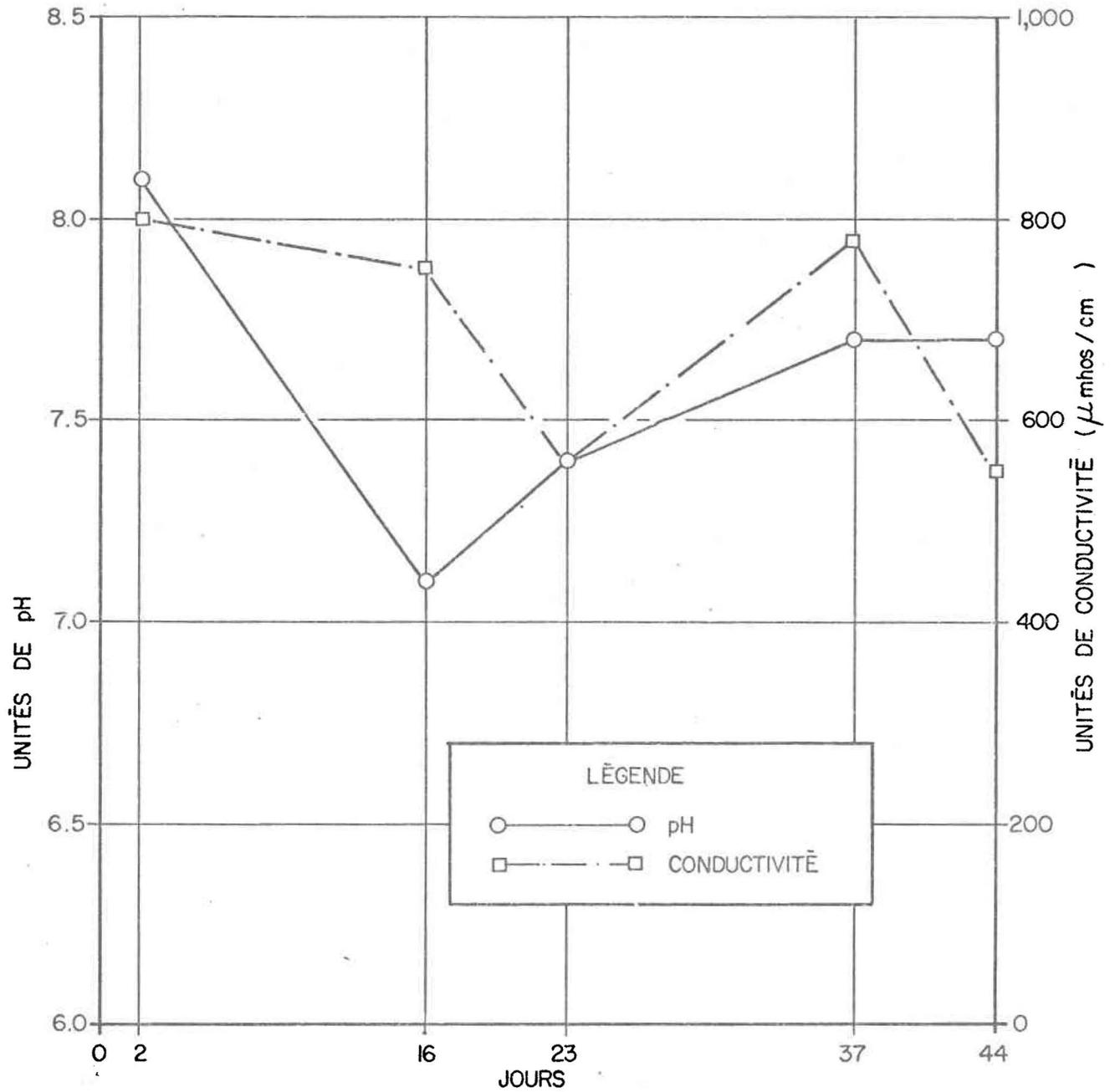


Fig.16 . Colonne IV (eau polluée, alternance); variation du pH et de la conductivité dans la solution.

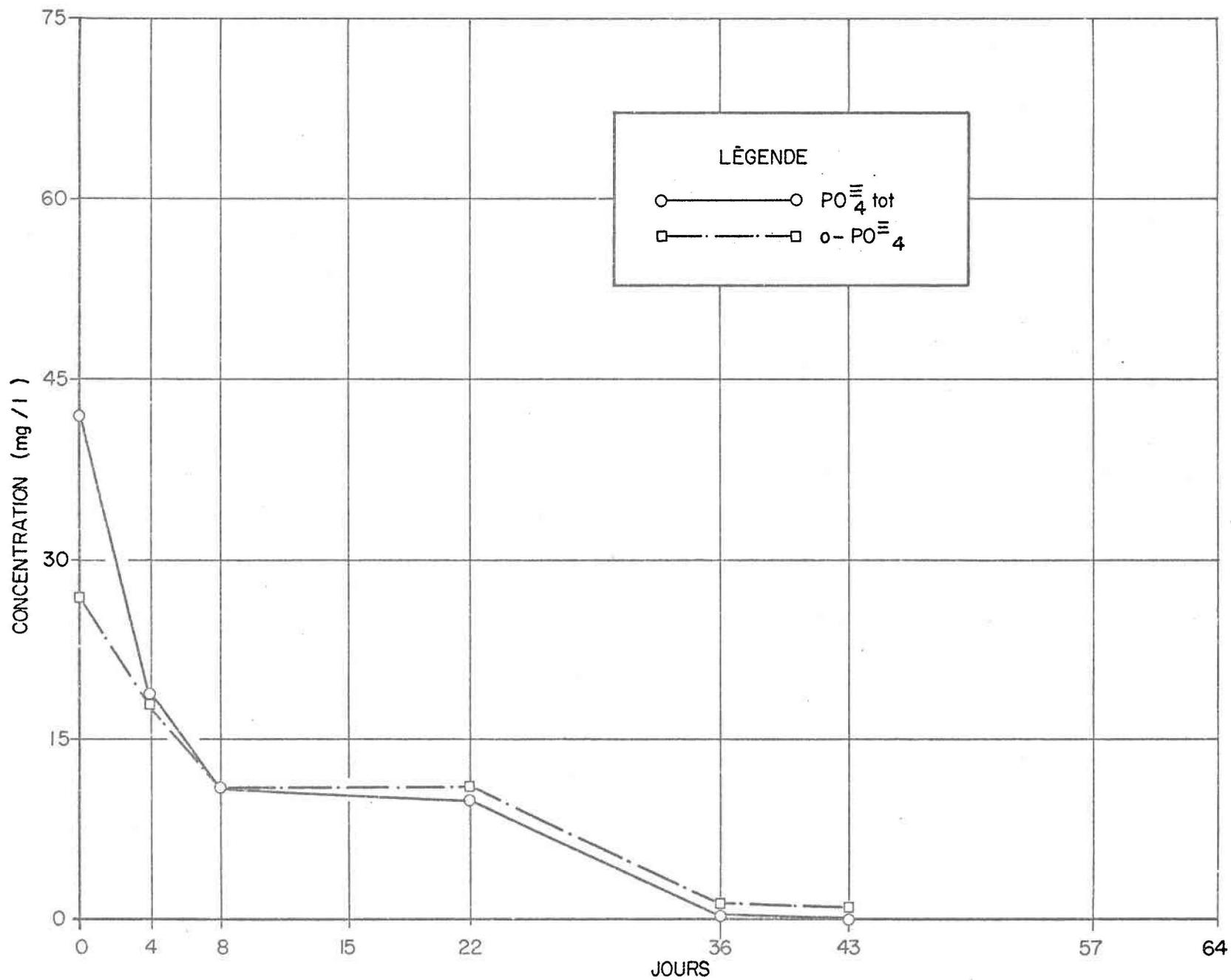


Fig. 17. Colonne IV (eau polluée, alternance); concentration des différentes formes de phosphore en solution .

4.1.5 Colonne V

La colonne V était soumise aux mêmes conditions que la colonne I sauf pour la température qui était maintenue à $4^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

La figure 18 illustre les variations des concentrations des différents paramètres azotés en fonction du temps. La courbe représentant les valeurs de l'azote ammoniacal indique une lente augmentation entre les jours 0 et 64. La valeur atteinte au 64e jour est de beaucoup inférieure aux valeurs maximum obtenues pour les quatre colonnes précédentes. Il semble que les processus d'ammonification soient ralentis sous l'effet de la basse température.

La production de nitrites et de nitrates est très faible dans la colonne V. Les principales espèces bactériennes responsables de la nitrification autotrophe ont des limites d'activité qui se situent entre 10 et 33°C pour Nitrosomonas et entre 8 et 28°C pour Nitrobacter (p. 19). Leur métabolisme est donc pratiquement nul à 4°C . Quant aux bactéries hétérotrophes capables d'effectuer la nitrification, elles sont également affectées par la basse température. De toute façon, il reste à prouver que ces bactéries peuvent produire des quantités de nitrites et de nitrates comparables à celles produites par les autotrophes.

Si l'on observe maintenant les figures 18 et 19, on s'aperçoit que les concentrations d'azote organique et de carbone organique sont plus faibles dans la colonne V que dans la colonne I. Ce phénomène laisse supposer que la basse température exerce une influence sur la minéralisation bactérienne de la matière organique, ainsi que sur sa dépolymérisation.

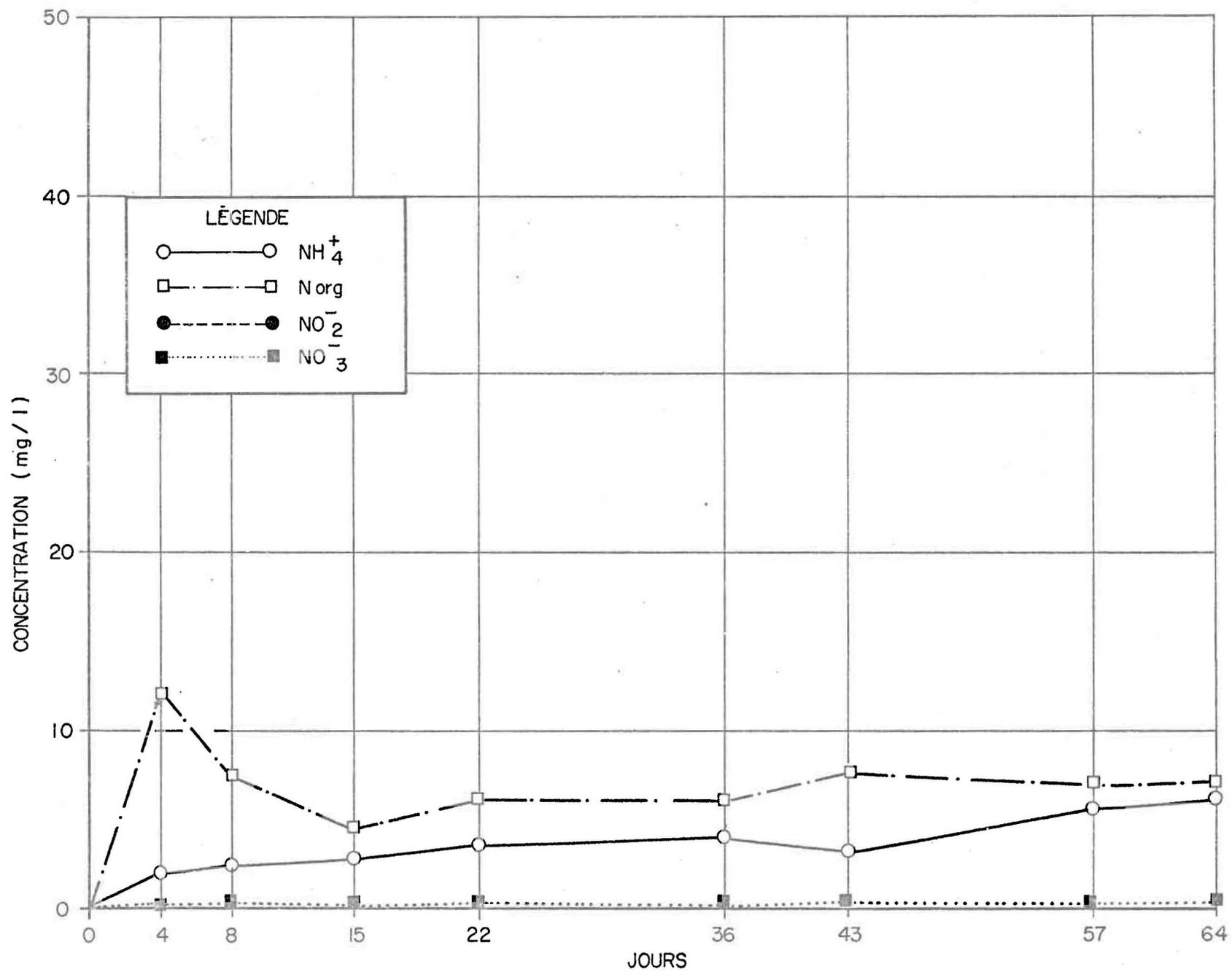


Fig. 18. Colonne V (eau pure, 4°C); concentration des différentes formes d'azote en solution.

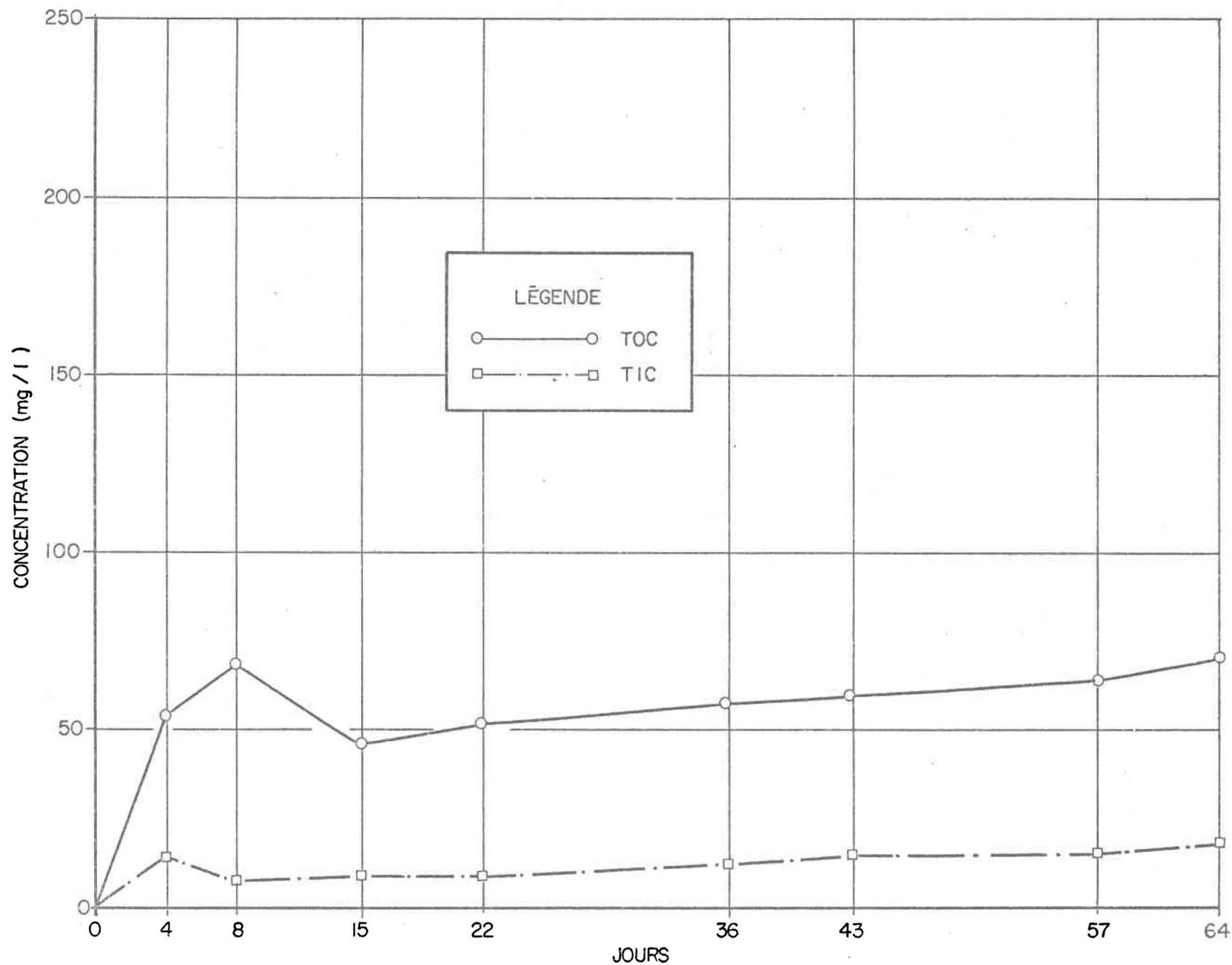


Fig. 19. Colonne V (eau pure, 4°C); concentration des différentes formes de carbone en solution.

La courbe du pH dans la colonne V (figure 20) est différente de celle de la colonne I. La conductivité illustrée dans la même figure est plus faible que celle mesurée dans les colonnes précédentes.

Les concentrations d'ortho-phosphates et de phosphates totaux sont plus élevées que dans la colonne I. Cela peut être dû en partie à la moins grande demande imposée par le métabolisme bactérien ralenti sous l'effet de la température.

4.1.6 Colonne VI

La colonne VI était soumise aux mêmes conditions que la colonne V à l'exception de l'utilisation d'eau polluée à la place d'eau pure.

Les courbes démontrant les variations des concentrations des substances azotées et carbonées en fonction du temps dans la colonne VI (figures 21 et 22) sont semblables à celles de la colonne V quant à leur forme et leur amplitude. Au jour 0, les concentrations sont cependant plus élevées dans la colonne VI que dans la colonne V car les substances azotées et carbonées sont évidemment présentes en plus grande quantité dans de l'eau polluée que dans de l'eau pure. On peut donc supposer qu'il se produit le même ralentissement des activités bactériennes dans les deux colonnes, et que c'est la basse température qui est responsable de la faible concentration des substances azotées et carbonées contenues dans l'eau.

Dans la figure 23, on remarque la courbe illustrant la variation du pH avec le temps. Il demeure toujours légèrement alcalin. Dans le même graphique, on note que la conductivité est plus forte que celle mesurée dans la colonne I. Ceci provient de la présence de plus d'ions dans l'eau polluée.

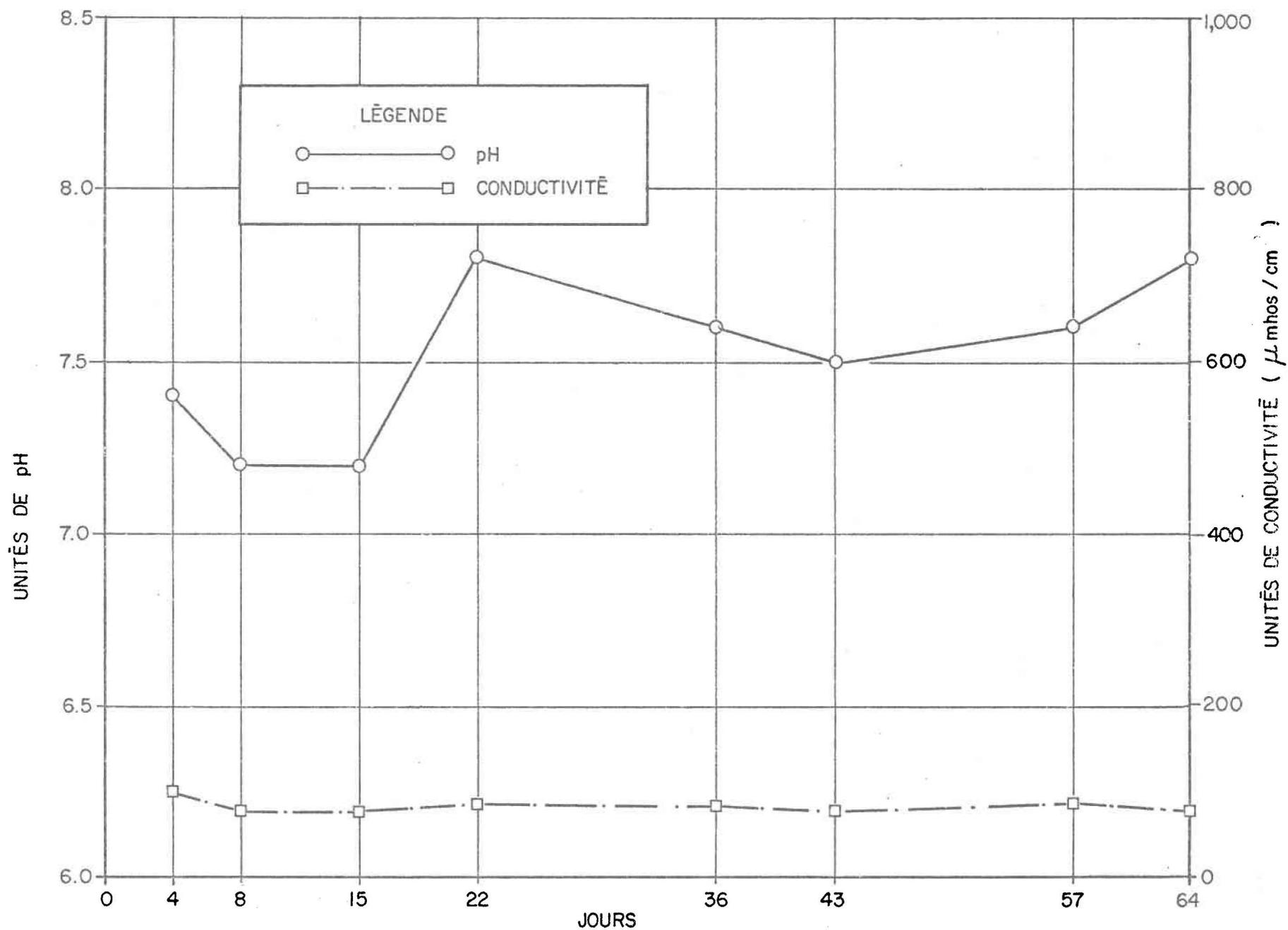


Fig.20. Colonne V (eau pure, 4°C) ; variation du pH et de la conductivité dans la solution.

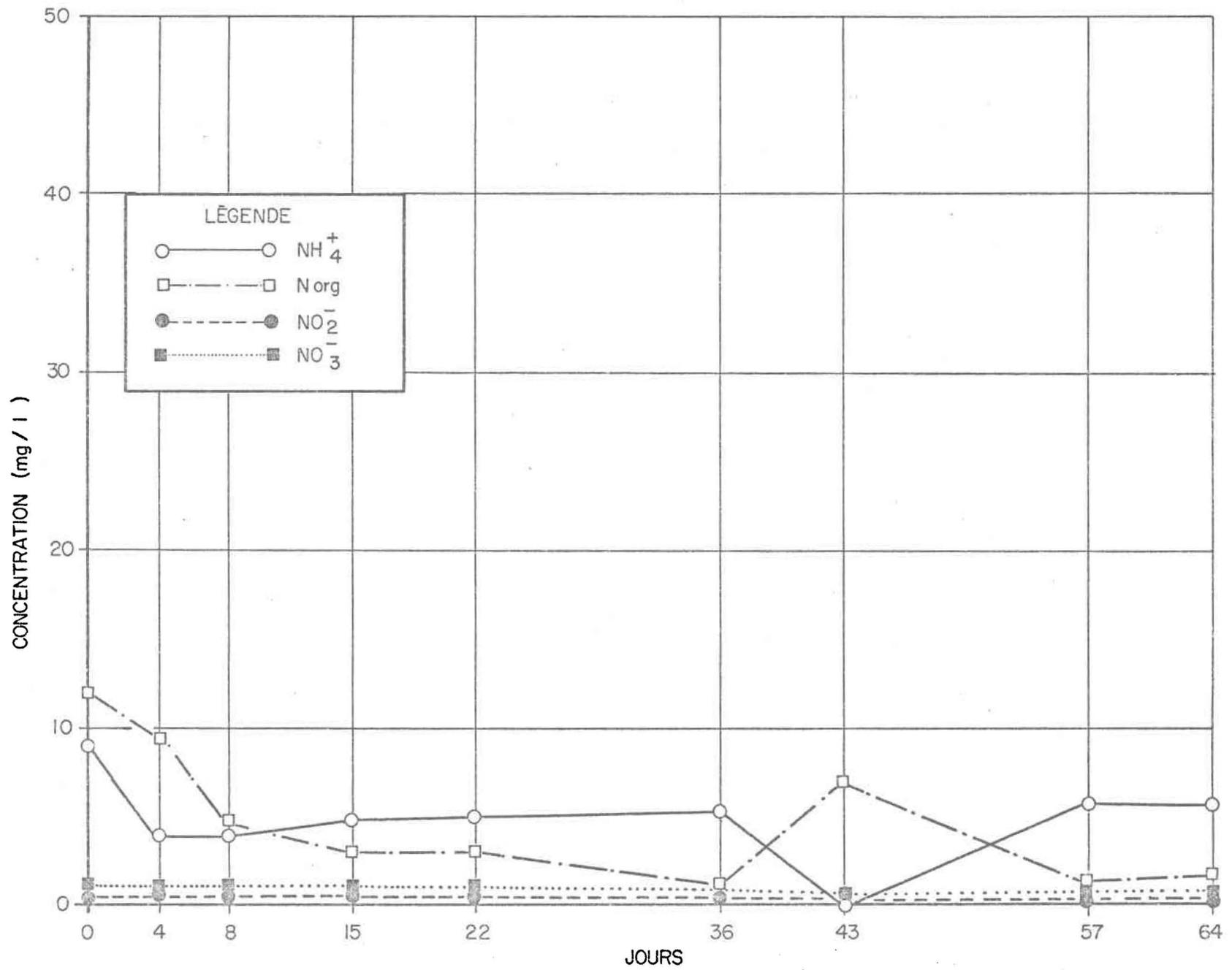


Fig. 21 . Colonne VI (eau polluée, 4°C) ; concentration des différentes formes d'azote en solution .

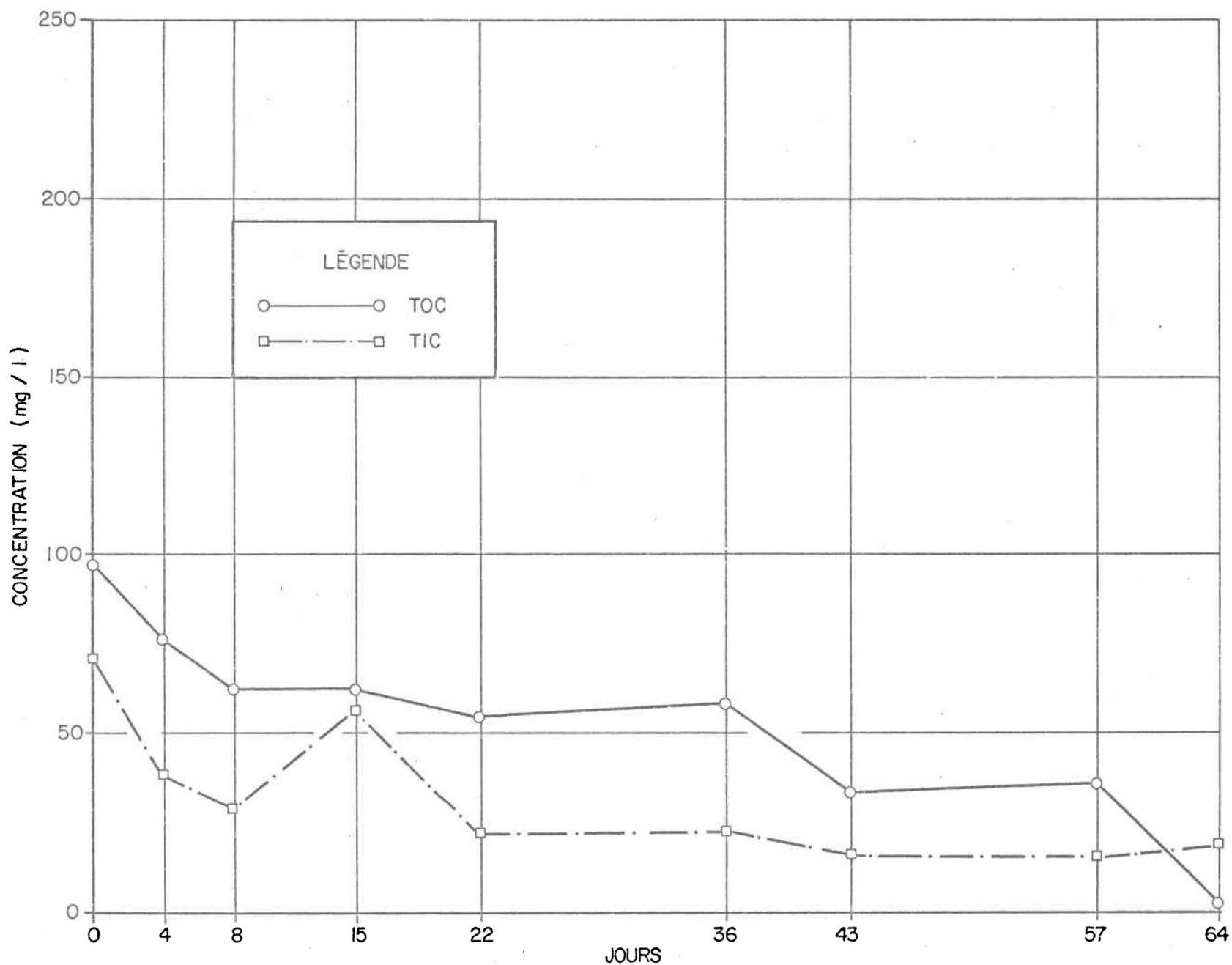


Fig. 22. Colonne VI (eau polluée, 4°C) ; concentration des différentes formes de carbone en solution .

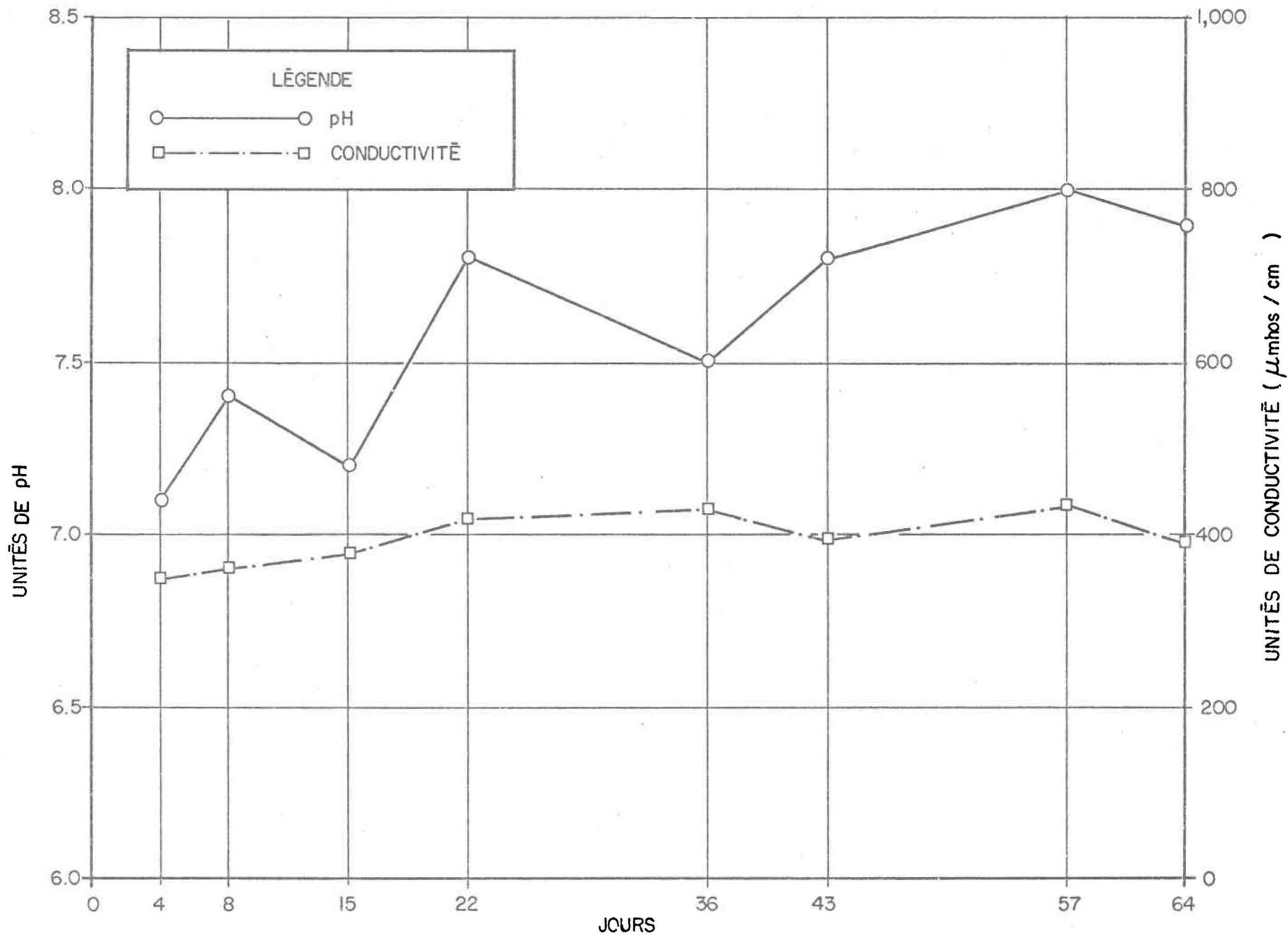


Fig. 23 . Colonne V1 (eau polluée, 4°C) ; variation du pH et de la conductivité dans la solution .

La figure 24 illustre la variation des ortho-phosphates et des phosphates totaux en fonction du temps dans la colonne VI. La tendance de la courbe est semblable à celles pour les colonnes II et IV. Les phosphates seraient donc adsorbés au sol.

4.1.7 Colonne VII

Dans la colonne VII, le sol était inondé avec de l'eau pure et maintenu à la température de la pièce. Cependant, l'air circulant au-dessus de l'eau était remplacé par de l'azote moléculaire.

La figure 25 montre les concentrations des différentes formes d'azote présentes dans l'eau. La concentration d'azote ammoniacal augmente jusqu'au jour 22 environ, puis varie peu jusqu'à la fin de l'expérience.

La partie croissante de la courbe est similaire à celle observée dans la colonne I, bien que la quantité d'azote ammoniacal produit semble légèrement plus grande. On peut donc supposer que durant les vingt premiers jours, les bactéries ammonifiantes procèdent à l'ammonification de la matière organique mise en solution par l'inondation et par l'intermédiaire des bactéries qui dégradent les polymères organiques non solubles.

C'est justement à partir de ce 22e jour qu'une différence importante apparaît entre les colonnes VII et I. On se rappelle que dans la colonne I, l'azote ammoniacal produit par les bactéries ammonifiantes était alors nitrifié. Or, les conditions anaérobies prévalant dans la colonne VII inhibent la nitrification. On ne retrouve pas de nitrites ni de nitrates en quantité appréciable dans l'eau et la concentration d'azote ammoniacal demeure constante. Par le fait même, la dénitrification n'a pas lieu.

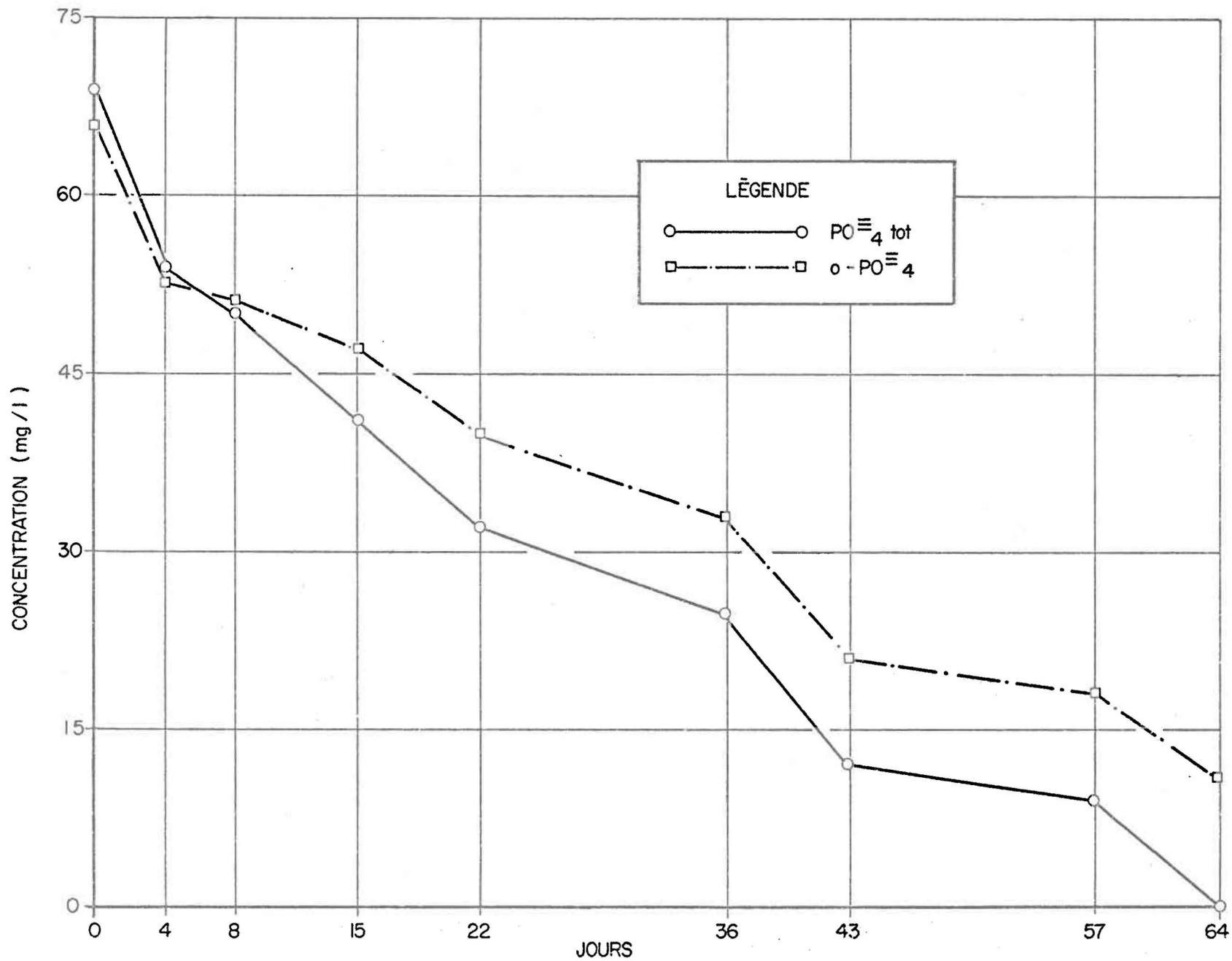


Fig. 24. Colonne VI (eau polluée, 4°C) ; concentration des différentes formes de phosphore en solution.

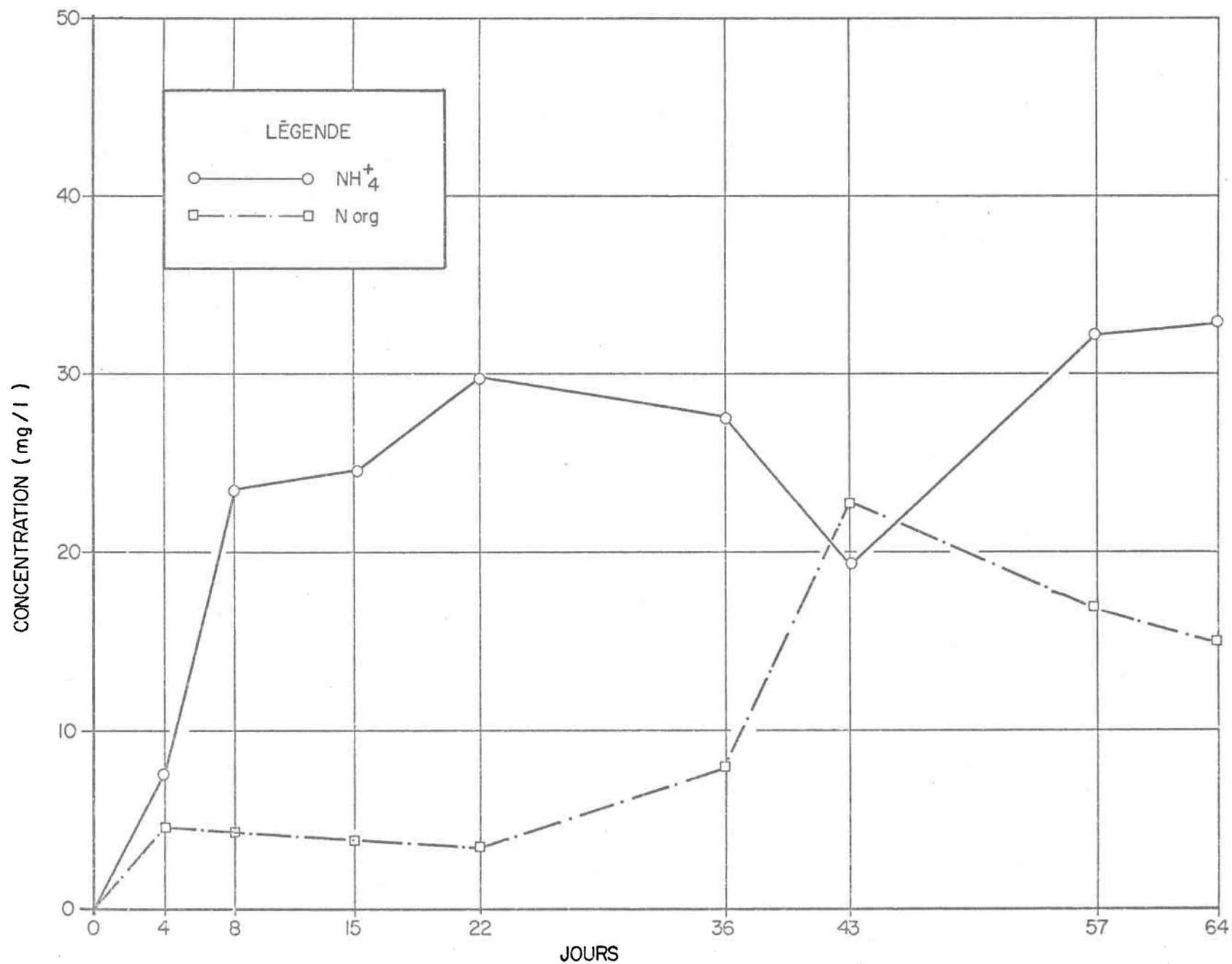


Fig. 25. Colonne VII (eau pure, anaérobiose); concentration des différentes formes d'azote en solution.

La concentration de carbone organique est beaucoup plus élevée dans la colonne VII que dans la colonne I (figure 26). Il semble que la décomposition anaérobie entraîne la formation d'une quantité plus grande de sous-produits organiques. Or, la colonne VII est la seule, avec la colonne VIII, que nous étudierons ensuite, dans laquelle l'oxygène est complètement exclus, livrant la matière organique aux seules bactéries anaérobies.

Si l'on observe maintenant la figure 27, on se rend compte que la courbe du pH n'est pas semblable à celle de la colonne I. Dans le même graphique, on voit que la conductivité est plus élevée dans la colonne VII que dans la colonne I. Ceci peut s'expliquer par le fait que la décomposition anaérobie est caractérisée par une plus grande libération de sous-produits que la décomposition aérobie. Or certains de ces sous-produits peuvent agir comme conducteurs. De plus, l'anaérobiose favorise la mise en solution d'ions, tels les ions ferreux, dont les sels sont précipités en présence d'oxygène.

La concentration d'ortho-phosphates et de phosphates totaux est peu importante dans la colonne VII. Elle est cependant plus élevée que dans les autres colonnes renfermant de l'eau pure. L'anaérobiose favorise la mise en solution de certains ions, tels l'ion ferreux, avec une libération concomitante de phosphates en solution.

4.1.8 Colonne VIII

Les conditions reproduites dans la colonne VIII ne se distinguent de celles de la colonne VII que par la présence d'eau polluée remplaçant l'eau pure. La figure 28 représente les concentrations des différentes

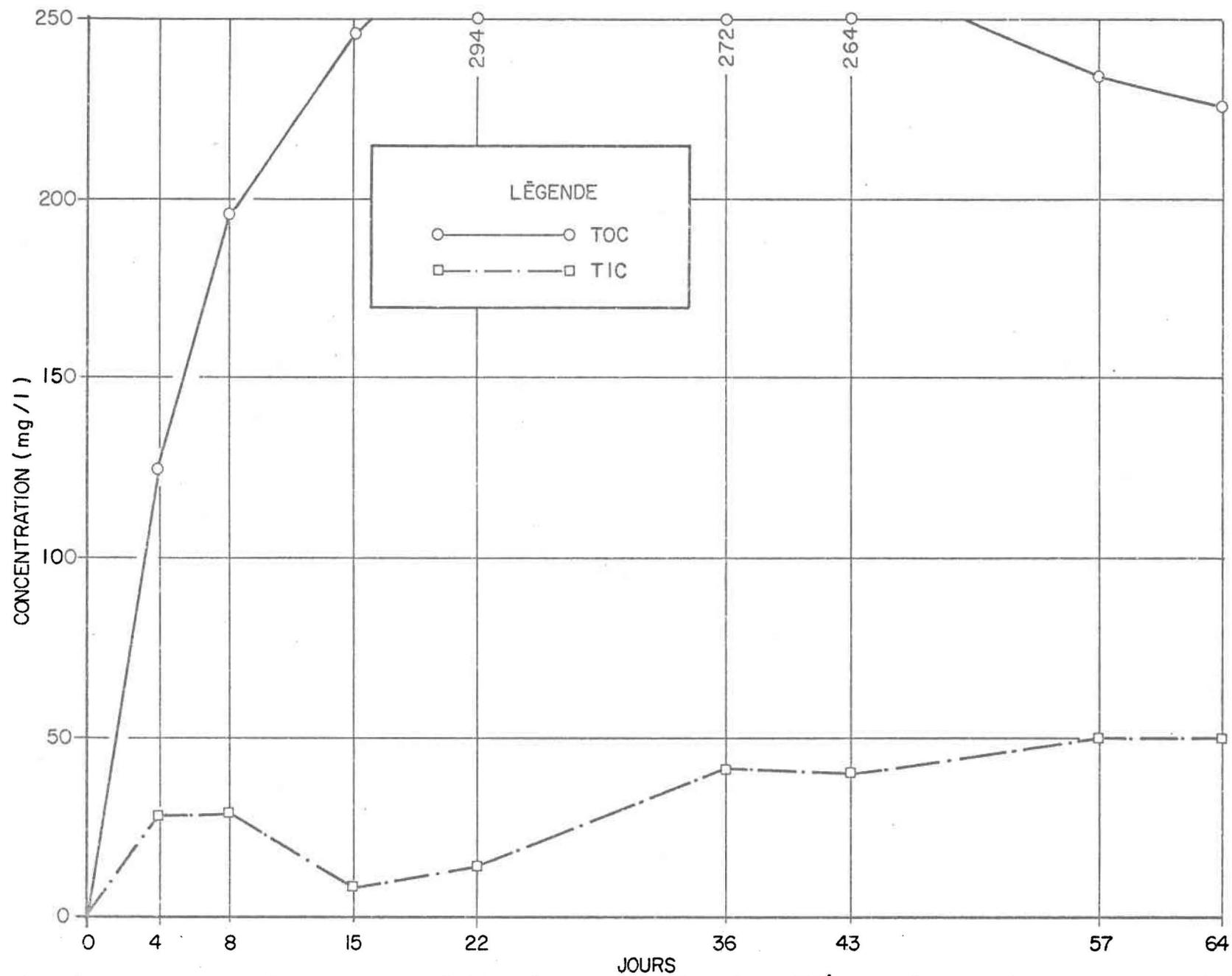


Fig. 26 . Colonne VII (eau pure , anaérobie) ; concentration des différentes formes de carbone en solution .

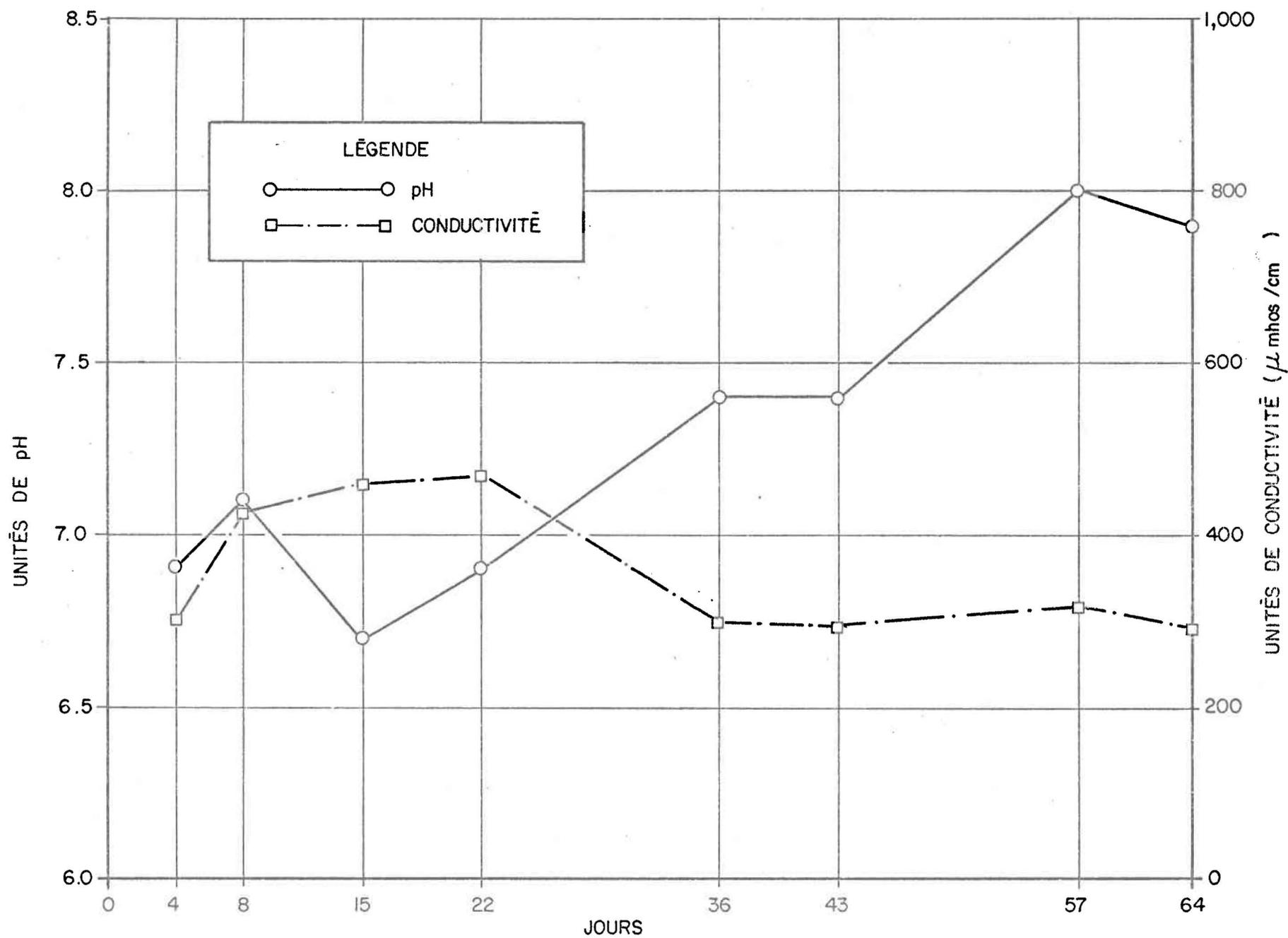


Fig. 27. Colonne VII (eau pure, anaérobiose); variation du pH et de la conductivité dans la solution.

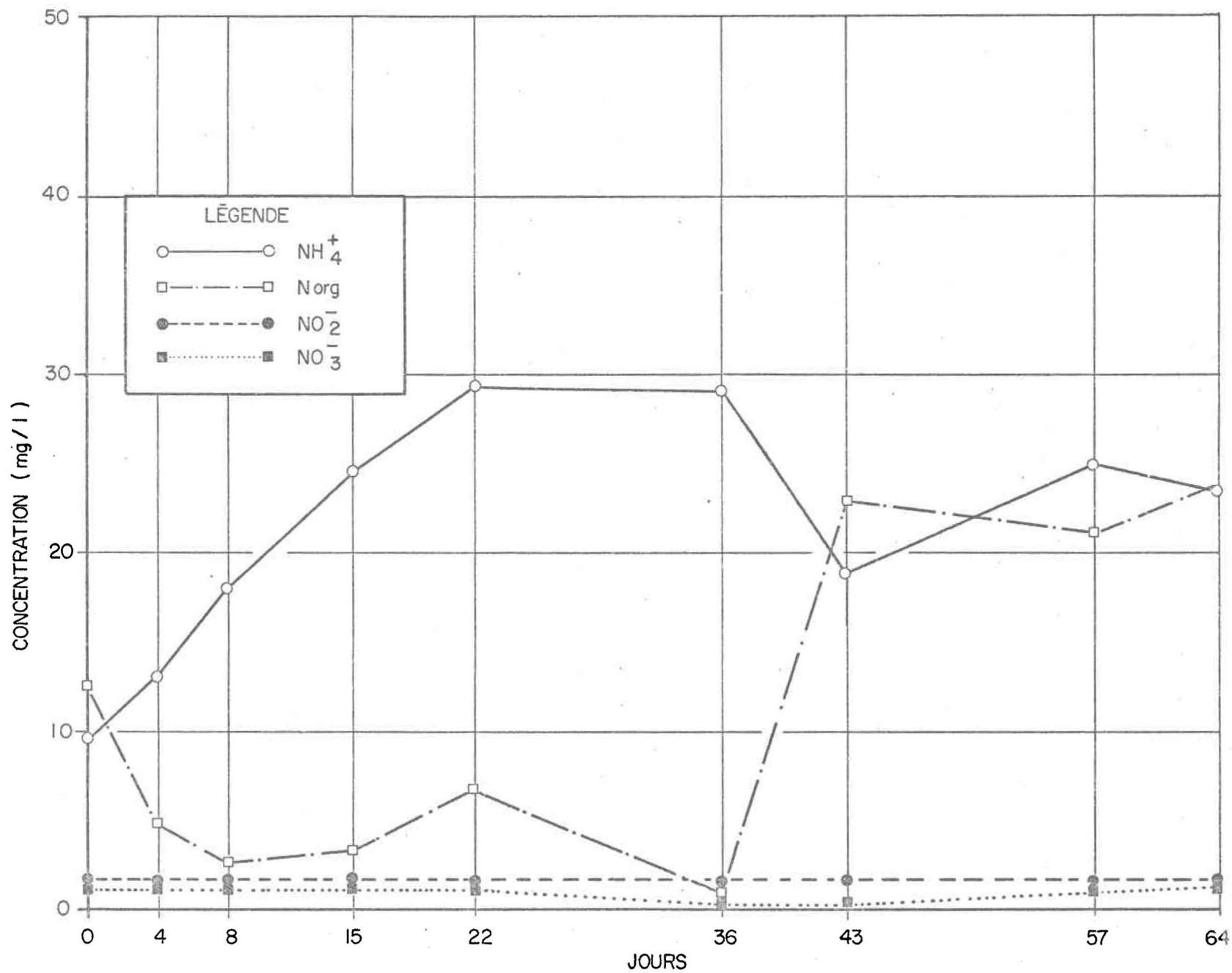


Fig. 28. Colonne VIII (eau polluée, anaérobie) ; concentration des différentes formes d'azote en solution.

substances azotées en solution. Cette figure ressemble presque en tous points à la figure 25. Il semble que l'eau polluée n'ait aucun effet significatif dans des conditions d'anaérobiose. On assisterait donc, dans la colonne VIII, à une minéralisation active de l'azote organique qui résulterait dans la production d'azote ammoniacal. Cet azote ammoniacal ne pouvant être nitrifié en anaérobiose, il resterait en solution en quantité assez constante.

Dans la figure 29, on voit que la courbe du carbone organique est assez similaire à celle de la figure 26. Ce carbone organique serait donc constitué en majeure partie de sous-produits de la décomposition anaérobie de la matière organique.

Si l'on observe maintenant la variation du pH avec le temps (figure 30), on se rend compte que la courbe est similaire à celle de la colonne VII. Dans le même graphique, on voit que la conductivité est plus élevée dans la colonne VIII que dans la colonne VII. La présence de plus d'ions conducteurs dans l'eau polluée expliquerait cette différence.

Quant aux ortho-phosphates et aux phosphates totaux représentés dans la figure 31, on note une disparition graduelle des phosphates de la solution aqueuse. Les phosphates seraient utilisés, en partie, par les microorganismes du sol et seraient en partie adsorbés au sol qui retient, comme nous l'avons dit précédemment, (page 64) plus facilement les composés phosphatés qu'azotés.

4.2 Etude statistique

Les résultats des analyses chimiques ont été soumis à des tests statistiques qui sont décrits ici.

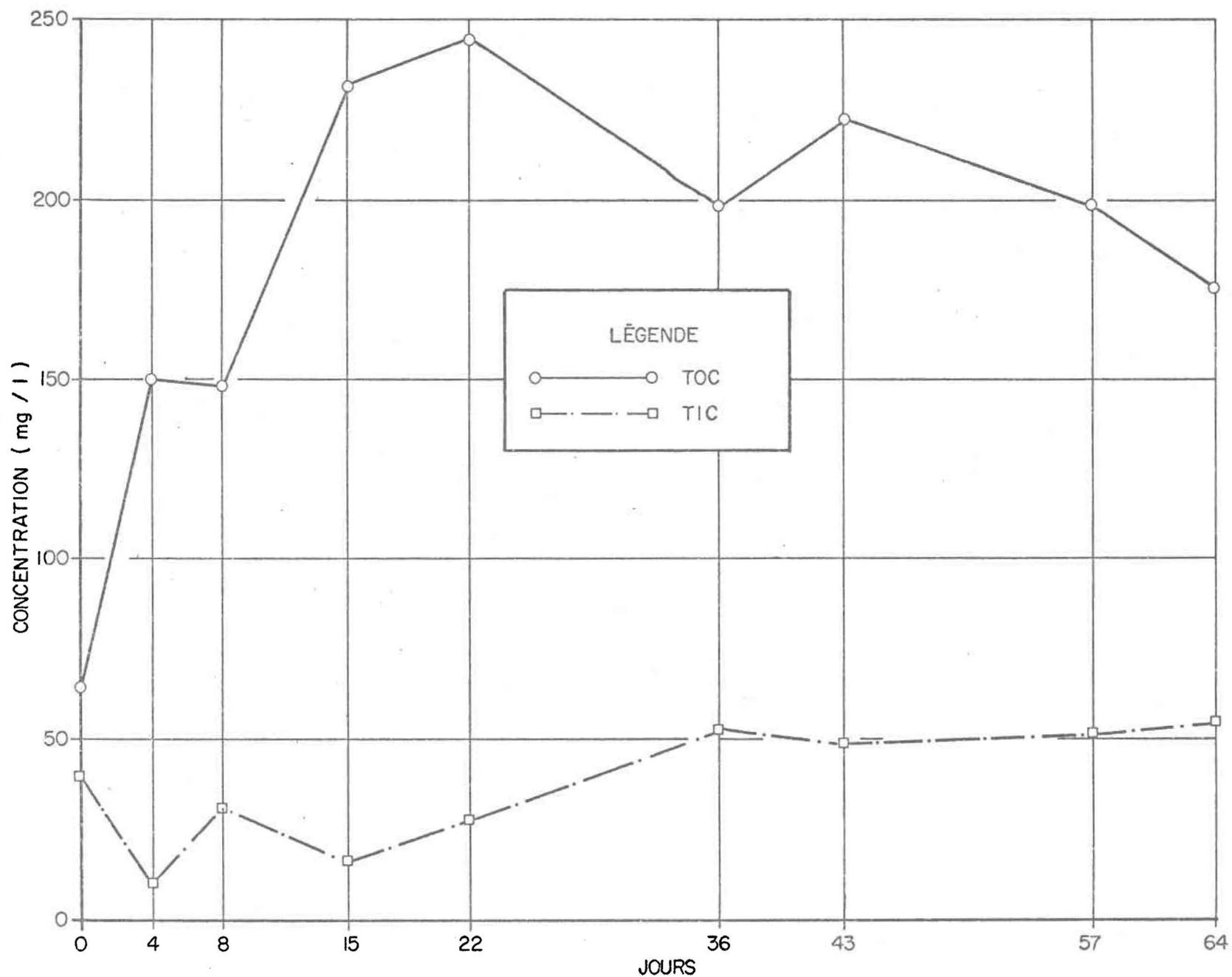


Fig. 29. Colonne VIII (eau polluée, anaérobie) ; concentration des différentes formes de carbone en solution.

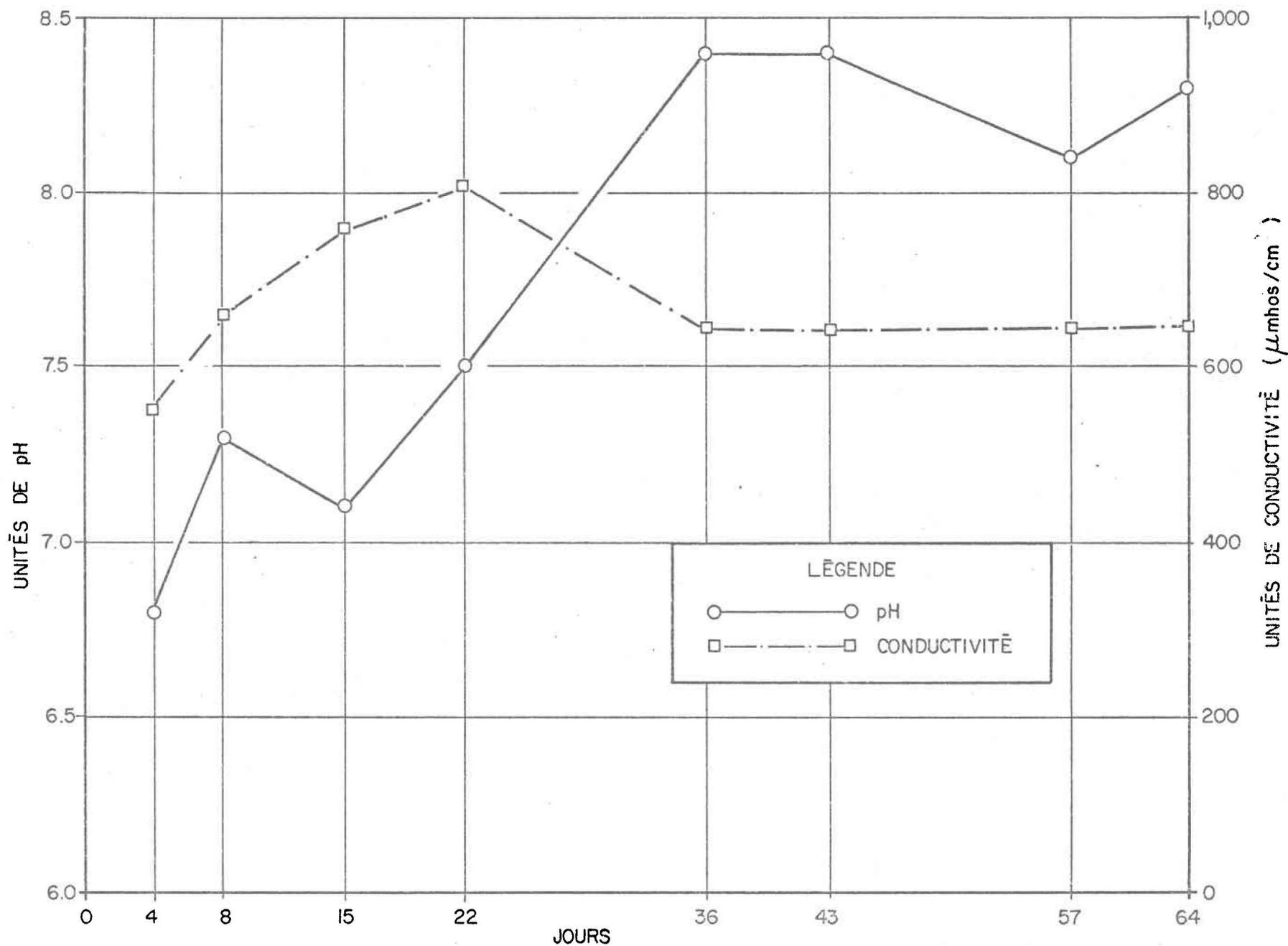


Fig. 30 . Colonne VIII (eau polluée, anaérobie); variation du pH et de la conductivité dans la solution.

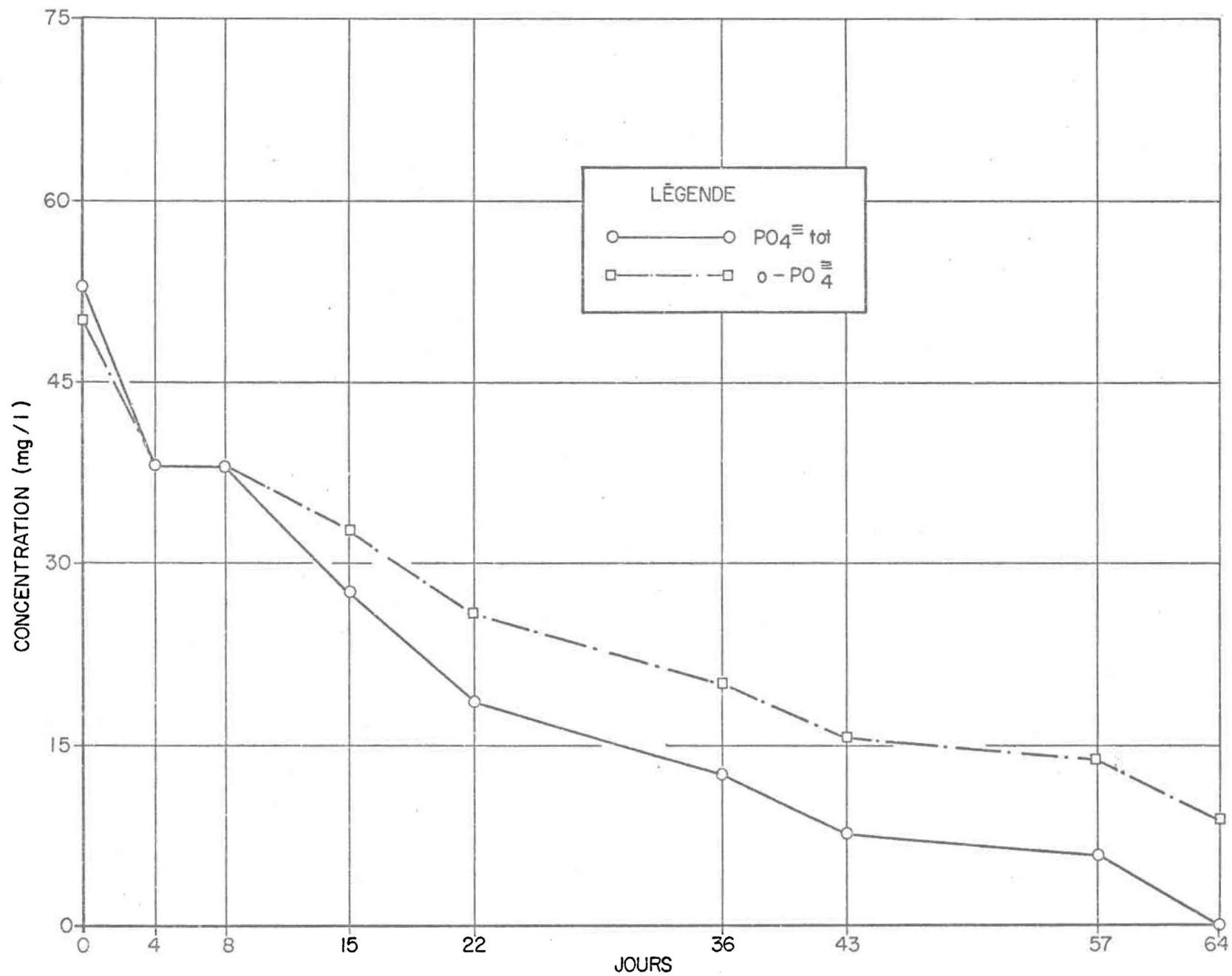


Fig. 31 . Colonne VIII (eau polluée, anaérobie) ; concentration des différentes formes de phosphore en solution.

4.2.1 Remarques générales

D'une manière générale, il est impossible de trouver une bonne adéquation de la variation des différents paramètres en raison de l'insuffisance des points de mesure. L'étude statistique reste donc globale et a pour but des comparaisons sur des valeurs moyennes, et on essaie, suivant les différents facteurs, de mettre en évidence une seule source de variation.

Pour ce faire, nous utilisons le test d'égalité des moyennes ou test de Student. Ce test nous permet une comparaison statistique entre les moyennes de deux séries de données. Cette comparaison est moins puissante que l'analyse des variances où les séries sont comparées non seulement par paires, mais aussi en fonction de l'ensemble des données disponibles. L'analyse des variances met en cause un certain nombre d'hypothèses qu'il nous est impossible de vérifier avec le nombre restreint de données disponibles.

La seconde méthode statistique que nos résultats nous permettent d'utiliser est le calcul du coefficient de corrélation et la mise en évidence de corrélations significatives ou non. Le coefficient de corrélation est calculé entre deux séries de données de même taille ayant une correspondance temporelle parfaite.

4.2.2 Test de Student

Le test de Student permet, comme nous venons de le dire, la comparaison des moyennes de deux séries de données. Chaque série est considérée comme un échantillon représentatif d'une population. Le test examine si

les moyennes des populations dont proviennent les séries sont égales. Pour cela, on utilise les moyennes des séries qui sont des estimations des moyennes des populations.

La possibilité existe que la série ne soit pas représentative de la population. On parle alors du niveau de signification du test. Le niveau de signification représente donc la probabilité de rejeter l'hypothèse d'égalité des moyennes alors que cette hypothèse est vraie. Nous avons choisi un niveau de signification de 5 pour cent pour le test d'égalité des moyennes.

Le test est appliqué aux 8 séries de données pour le même paramètre, les séries étant prises par paires. Chaque série est constituée de 5 à 9 mesures qui représentent les concentrations mesurées à divers jours dans la solution aqueuse d'une colonne. En tout, il y a 8 séries pour le même paramètre, une pour chaque colonne.

Le test d'égalité des moyennes doit être précédé du test d'égalité des variances ou test de F. Ce test examine si les variances des deux populations sont significativement différentes. Il nous permet ainsi de choisir la forme adéquate du test de Student à utiliser.

Il existe naturellement des limites à ce qu'on peut conclure à partir du seul test d'égalité des moyennes. Tout d'abord, les moyennes des concentrations d'une substance peuvent ne pas être significativement différentes entre deux colonnes tandis que les courbes représentant ces concentrations ne sont pas semblables. On ne peut alors conclure à la similitude des processus dans les deux colonnes, bien que les moyennes ne soient pas significativement différentes. En d'autres mots, on ne peut se baser sur

ce seul test statistique pour obtenir une compréhension acceptable des phénomènes impliqués dans l'inondation d'un sol puisque nos données ne représentent pas des concentrations à l'équilibre.

Dans notre cas, le test de Student est indicatif, car pour des échantillons de petite taille, on doit supposer que les séries observées proviennent de distributions normales, ce qu'on ne peut vérifier ici.

4.2.3 Test de signification du coefficient de corrélation

Comme nous l'avons dit précédemment, il existe de sérieuses limitations à l'emploi du seul test d'égalité des moyennes pour l'interprétation des résultats. Nous avons donc recours à un test supplémentaire relatif au coefficient de corrélation. Ce test nous permet de dire si deux séries de données fluctuent de la même manière en fonction du temps. Dans notre expérience, il s'agissait de déterminer si les différentes substances apparaissent et disparaissent de la solution de la même manière afin de mettre en relief les similitudes et les différences entre les huit colonnes. Il donne une meilleure idée de la similitude des processus bactériens impliqués que le test de Student, et, couplé à ce dernier, il permet une interprétation plus objective des résultats.

Nous avons appliqué ce test dans les cas où il semblait y avoir une certaine similitude de forme dans les courbes représentant les valeurs des paramètres mesurés. Plusieurs séries de données ont ainsi subi le test.

Le coefficient de corrélation entre deux séries observées est une estimation du coefficient de corrélation théorique entre les deux populations dont proviennent les séries. On a donc ici aussi fait l'hypothèse

que les séries proviennent de distributions normales, hypothèse qu'on ne peut vérifier.

Compte tenu des erreurs d'échantillonnage et de la petite taille des échantillons, il est possible de trouver un coefficient de corrélation assez fort entre les séries observées sans que cela signifie qu'il y a effectivement une corrélation entre les phénomènes considérés. Nous avons donc effectué un test de signification pour vérifier si le coefficient de corrélation était significativement différent de 0.

Finalement, le coefficient de corrélation permet de mesurer une dépendance linéaire si elle existe. Aucun autre type de dépendance ne sera révélé par le coefficient.

4.2.4 Résultats

Nous présentons ici les résultats des tests statistiques en même temps que nous donnons une interprétation sommaire. Dans la discussion (page 137), nous en donnerons une interprétation plus complète puisqu'elle tiendra compte des autres résultats obtenus au cours de cette expérience.

Les résultats obtenus grâce au test d'égalité des moyennes sont présentés dans le tableau 7. Les signes "+" et "-" indiquent respectivement une différence non-significative et une différence significative entre les moyennes de deux séries de données.

On remarque d'abord d'une manière générale, que le test d'égalité des moyennes appliqué à la comparaison des différentes colonnes pour le pH ne révèle aucune différence significative.

TABLEAU 7: Test d'égalité des moyennes

PARA- METRE COLONNES	pH	COND.	NH ₄ ⁺	Norg	NO ₂ ⁻	NO ₃ ⁼	Ntot	oPO ₄ ⁼	PO ₄ ⁼ tot	TIC	TOC
1 et 2	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+
3 et 4	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
5 et 6	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
7 et 8	+	-	+	+	+	-	+	-	-	+	+
1 et 3	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-
1 et 5	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
1 et 7	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-
3 et 5	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	-
3 et 7	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
5 et 7	+	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
2 et 4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 et 6	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-
2 et 8	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
4 et 6	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-
4 et 8	+	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+
6 et 8	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-

Légende: +: Moyennes non significativement différentes

-: Moyennes significativement différentes

La comparaison statistique des moyennes pour la conductivité entre les colonnes I et II indique que les moyennes de chacune des séries sont significativement différentes. Il en va de même pour les ortho-phosphates et les phosphates totaux. La valeur de la conductivité de même que les concentrations des ortho-phosphates et des phosphates totaux sont beaucoup plus élevées dans l'eau polluée que dans l'eau pure. Il est donc normal qu'elles soient plus élevées dans la colonne II que dans la colonne I, et que la différence entre les moyennes de chacun des paramètres soit significative. Cette différence se retrouve d'ailleurs dans toutes les comparaisons entre une colonne contenant de l'eau pure et l'autre, de l'eau polluée.

La comparaison statistique des moyennes pour les concentrations des nitrites entre les colonnes III et IV révèle que les moyennes de chacune des séries ne sont pas significativement différentes. Outre le pH, c'est le seul paramètre pour lequel nous avons obtenu un tel résultat pour les colonnes III et IV.

La comparaison statistique des moyennes pour les concentrations d'azote ammoniacal entre les colonnes V et VI indique que les moyennes de chacune des séries ne sont pas significativement différentes. Il en va de même pour l'azote organique, l'azote total, le carbone inorganique et le carbone organique.

La comparaison statistique des moyennes pour les concentrations d'azote ammoniacal entre les colonnes VII et VIII indique que les moyennes de chacune des séries ne sont pas significativement différentes. Il en va de même pour les moyennes de l'azote organique, des nitrites, de l'azote total, du carbone inorganique et du carbone organique.

Si l'on regarde maintenant les tableaux 8 et 9, on voit que les résultats sont présentés de façon quelque peu différente. En effet, nous avons groupé les résultats en deux séries. La première comprend les quatre colonnes renfermant de l'eau pure, c'est-à-dire les colonnes I, III, V et VII, tandis que la seconde est composée des colonnes contenant de l'eau polluée, soient les colonnes II, IV, VI et VIII.

Dans la série "eau pure", le tableau 8 donne pour chaque paramètre l'ordre croissant des moyennes à l'intérieur duquel les égalités sont soulignées. La moyenne est représentée par le symbole M et l'index donne la colonne.

On remarque dans le tableau no 8 que l'ordre est généralement: $M_5 < M_3 < M_1 < M_7$. Les moyennes des colonnes III et V sont souvent égales. Rappelons que les colonnes III et V sont celles où les processus de minéralisation sont les moins actifs. Dans la première, c'est le lessivage initial de la matière organique qui est responsable de ce phénomène. Dans le cas de la colonne V, c'est la température ambiante qui est trop basse pour permettre aux bactéries de métaboliser la matière organique du sol à une vitesse normale.

Les moyennes des concentrations dans la colonne I sont plus élevées que celles des colonnes III et V. Le métabolisme bactérien n'est inhibé par aucun des deux facteurs provoquant le ralentissement observé dans les colonnes III et V. Par contre, elles sont moins élevées que celles de la colonne VII.

Dans cette dernière, seules les bactéries anaérobies sont actives sous l'atmosphère d'azote. Or ces bactéries décomposent la matière organi-

que avec un fort dégagement de sous-produits, contrairement aux bactéries aérobies qui produisent surtout des gaz à partir de la matière organique. Il y a donc accumulation dans la colonne VII des sous-produits de la décomposition anaérobie qui ne peuvent être oxydés et éventuellement transformés en gaz en raison de l'absence totale d'oxygène.

TABLEAU 8: Egalité des moyennes (eau pure)

Paramètre	Ordre
Azote ammoniacal	$M_5 \leq M_3 \leq M_1 < M_7$ ($M_1 \neq M_5$)
Nitrites	$M_7 < M_5 < M_3 \leq M_1$
Nitrates	$M_7 \leq M_5 < M_1 < M_3$
Azote organique	$M_3 < M_5 \leq M_1 \leq M_7$ ($M_5 \neq M_7$)
Azote total	$M_3 \leq M_5 < M_1 < M_7$
Carbone organique	$M_3 < M_5 < M_1 < M_7$
Carbone inorganique	$M_5 \leq M_3 < M_1 \leq M_7$
Ortho-phosphates	$M_1 < M_5 \leq M_3 \leq M_7$ ($M_5 \neq M_7$)
Phosphates totaux inorganiques	$M_1 < M_3 \leq M_5 \leq M_7$ ($M_3 \neq M_7$)
pH	$M_1 \leq M_5 \leq M_3 \leq M_7$ ($M_1 = M_7$)
Conductivité	$M_5 < M_3 < M_1 < M_7$

Parmi les paramètres dont les moyennes ne suivaient pas l'ordre $M_5 < M_3 < M_1 < M_7$, on retrouve d'abord le pH. Rappelons que le test d'égalité des moyennes appliqué à la comparaison des différentes colonnes prises par paires n'a révélé aucune différence significative.

Les moyennes des concentrations des nitrites suivent également un ordre différent: dans leur cas, $M_7 < M_5 < M_3 < M_1$. Il en va de même pour les

nitrites. Il est normal que les concentrations des nitrites et des nitrates soient les plus basses dans la colonne VII. L'absence d'oxygène dans cette dernière est un facteur inhibiteur pour la nitrification. Dans la colonne V, la basse température est aussi un facteur inhibant en grande partie la nitrification puisque les limites d'activité des germes nitreux et nitriques se situent au-dessus de 4°C. Les colonnes III et I présentent les conditions les plus favorables pour la nitrification, la température étant plus élevée, et l'oxygénation meilleure que dans les deux autres colonnes.

Quant aux ortho-phosphates et aux phosphates totaux, l'ordre $M_1 < M_5 < M_3 < M_7$ reflète à la fois l'activité bactérienne et les processus physiques de mise en solution de ces composés. Dans la colonne I, plusieurs espèces bactériennes sont très actives dans les processus de minéralisation, de nitrification et de dénitrification. Or le métabolisme bactérien requiert la présence de phosphore. Ce dernier ne se retrouve donc dans la solution qu'en petites quantités, le reste étant utilisé par les bactéries. Dans les colonnes III et V, l'activité des bactéries est moins intense; leurs besoins en phosphore s'en trouvent donc diminués. Dans la colonne VII, les conditions anaérobies facilitent la réduction et la mise en solution de certains ions dont l'ion ferreux avec une libération concomitante de phosphates. Dans des conditions aérobies, le fer se trouve sous forme ferrique qui forme des sels peu solubles avec les phosphates.

La deuxième série, présentée dans le tableau 9, comprend, comme nous l'avons dit précédemment, les moyennes des paramètres mesurés dans les colonnes contenant de l'eau polluée. Les symboles sont les mêmes que dans le tableau précédent.

En général, l'ordre est semblable à celui retrouvé dans les colonnes contenant de l'eau pure: $M_6 < M_2 < M_4 < M_8$. Cependant, les moyennes pour les différents paramètres dans les colonnes II et IV sont inversées, tandis que les moyennes de plusieurs paramètres dans la colonne IV sont souvent égales à celles de la colonne VIII.

TABLEAU 9: Egalité des moyennes (eau polluée)

Paramètres	Ordre	
Azote ammoniacal	$M_6 < M_2 < M_4 \leq M_8$	
Nitrites	$M_6 < M_8 < M_4 < M_2$	
Nitrates	$M_8 \leq M_6 < M_4 \leq M_2$	
Azote organique	$M_6 \leq M_4 \leq M_2 < M_8$	$(M_6 \neq M_2)$
Azote total	$M_6 < M_2 \leq M_4 < M_8$	
Carbone organique	$M_6 \leq M_2 < M_4 \leq M_8$	$(M_6 \neq M_4; M_2 \neq M_8)$
Carbone inorganique	$M_6 < M_2 \leq M_8 < M_4$	
Ortho-phosphates	$M_6 \leq M_2 \leq M_8 \leq M_4$	$(M_6 = M_4)$
Phosphates totaux inorganiques	$M_6 \leq M_2 \leq M_8 \leq M_4$	$(M_6 = M_4)$
pH	$M_4 \leq M_6 \leq M_8 \leq M_2$	$(M_4 = M_2)$
Conductivité	$M_6 < M_2 < M_4 \leq M_8$	

La colonne VI, qui est soumise à une température de 4°C, se comporte de la même façon, qu'elle contienne de l'eau pure ou de l'eau polluée. La basse température y retentit l'activité bactérienne.

L'influence de l'eau polluée semble également minime dans la colonne maintenue en anaérobiose: les moyennes des paramètres azotés (sauf les nitrites et les nitrates) et carbonés, de même que celle de la conductivité

sont plus élevées que dans les autres colonnes. L'anaérobiose mène à l'accumulation de nombreux sous-produits de la décomposition de la matière organique.

La colonne II ne semble pas se comporter différemment de la colonne I en dépit de la présence d'eau polluée. Les moyennes des paramètres mesurés sont en effet supérieures à celles mesurées à 4°C et inférieures à celles mesurées dans les conditions anaérobies.

C'est le comportement de la colonne IV qui semble responsable de l'inversion observée dans l'ordre des moyennes par rapport à celles enregistrées dans les colonnes contenant de l'eau pure. Il semble que les processus bactériens soient plus actifs dans la colonne IV que dans la colonne II. L'explication de ce phénomène tient en partie à l'apport de matière organique par l'eau polluée. De plus, puisque la nitrification ne semble pas importante dans cette colonne, les produits de la minéralisation peuvent s'accumuler dans l'eau.

Le pH se comporte de la même façon qu'il le faisait dans les colonnes contenant de l'eau pure: le test d'égalité des moyennes appliqué à la comparaison des différentes colonnes prises par paires ne révèle aucune différence significative entre les quatre colonnes contenant de l'eau polluée.

Les moyennes des nitrites et des nitrates sont généralement ordonnées de la même façon que dans les colonnes contenant de l'eau pure. La nitrification dans un sol inondé avec de l'eau polluée est donc inhibée par les mêmes facteurs, soit une basse température et l'anaérobiose, tandis qu'elle est favorisée dans des conditions opposées.

Le test d'égalité des moyennes appliqué à la comparaison des moyen-

nes des concentrations des ortho-phosphates entre les différentes colonnes prises par paires ne révèle aucune différence significative. Il en va de même pour les phosphates totaux. On se rappelle que la colonne I renferme moins de ces composés que les trois autres colonnes renfermant de l'eau pure. Cependant, les concentrations retrouvées dans les colonnes I, III, V et VII sont extrêmement faibles. Or l'eau polluée utilisée dans les colonnes II, IV, VI et VIII renferme une quantité beaucoup plus élevée de phosphates. Il est possible qu'une différence de l'ordre de celle observée dans les colonnes renfermant de l'eau pure existe dans les colonnes renfermant de l'eau polluée. Cependant, l'ordre de grandeur de ces variations n'est pas décelable ici en raison des très fortes moyennes mesurées.

Pour compléter l'analyse statistique, nous avons calculé le coefficient de corrélation entre plusieurs séries prises par paires. Les résultats paraissent dans les tableaux 10 à 19. La valeur du coefficient, de même que le résultat du test de signification appliqué au coefficient de corrélation y sont indiqués.

Nous mettons en évidence les points saillants résumés dans le tableau 19. L'interprétation sera donnée dans la discussion.

On remarque d'abord une corrélation positive significativement différente de 0 entre les colonnes I et II pour les nitrates. Il en va de même pour le pH et la conductivité. L'effet de l'eau polluée sur les processus bactériens tels la nitrification serait donc assez réduite.

Le test de signification appliqué au coefficient de corrélation entre les séries pour les colonnes III et IV pour le carbone organique indique une corrélation positive significativement différente de 0. C'est la

II	nil $r = 0.67$						
III	nil $r = 0.49$	nil $r = 0.84$					
IV	nil $r = -0.62$	nil $r = -0.53$	nil $r = 0.80$				
V	nil $r = -0.27$	- $r = -0.78$	- $r = -0.93$	nil $r = 0.30$			
VI	nil $r = 0.24$	nil $r = 0.13$	nil $r = -0.40$	nil $r = 0.04$	nil $r = 0.47$		
VII	nil $r = 0.26$	nil $r = 0.34$	nil $r = -0.54$	nil $r = 0.03$	+ $r = 0.78$	nil $r = 0.53$	
VIII	nil $r = 0.49$	nil $r = -0.15$	nil $r = 0.29$	nil $r = -0.22$	nil $r = 0.53$	nil $r = -0.12$	+ $r = 0.82$
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII

TABLEAU 10: Corrélations pour l'azote ammoniacal entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.

Légende: + corrélation significative positive
 - corrélation significative négative
 nil absence de corrélation

II	nil r = 0.24						
III	nil r = 0.37	nil r = 0.66					
IV	nil r = -0.52	nil r = 0.70	nil r = 0.64				
V	+ r = 0.89	nil r = -0.56	nil r = 0.14	nil r = -0.55			
VI	nil r = 0.48	nil r = 0.04	nil r = 0.45	nil r = -0.16	+ r = 0.77		
VII	nil r = -0.14	nil r = 0.31	nil r = 0.30	nil r = -0.41	nil r = -0.12	nil r = -0.05	
VIII	nil r = 0.20	nil r = 0.28	nil r = -0.24	nil r = -0.77	nil r = 0.12	nil r = -0.03	+ r = 0.76
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII

TABLEAU 11: Corrélations pour l'azote organique entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.

Légende + corrélation significative positive
 - corrélation significative négative
 nil absence de corrélation

II	nil r = 0.36						
III	nil r = 0.75	nil r = 0.55					
IV	nil r = 0.00	nil r = 0.00	nil r = -0.29				
V	nil r = -0.29	nil r = -0.12	nil r = -0.63	nil r = 0.09			
VI	nil r = -0.41	nil r = -0.65	- r = -0.90	nil r = -0.00	nil r = 0.23		
VII	nil r = -0.34	nil r = -0.01	nil r = -0.81	nil r = 0.61	nil r = 0.62	nil r = 0.09	
VIII	- r = -0.94	nil r = -0.35	nil r = -0.72	nil r = 0.23	nil r = 0.19	nil r = 0.32	nil r = 0.44
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII

TABLEAU 12: Corrélations pour les nitrites entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol

Légende + corrélation significative positive
 - corrélation significative négative
 nil absence de corrélation

II	+						
	r = 0.88						
III	nil	+					
	r = 0.87	r = 0.90					
IV	nil	nil	nil				
	r = 0.18	r = -0.27	r = 0.14				
V	+	nil	+	nil			
	r = 0.77	r = 0.76	r = 0.88	r = -0.08			
VI	nil	nil	nil	nil	nil		
	r = -0.60	r = -0.51	r = 0.62	r = 0.32	r = -0.63		
VII	+	+	nil	nil	nil	nil	
	r = 0.84	r = 0.95	r = 0.76	r = -0.18	r = 0.66	r = -0.42	
VIII	nil	nil	nil	nil	nil	nil	nil
	r = -0.56	r = -0.17	r = 0.14	r = -0.47	r = 0.67	r = 0.57	r = -0.04
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII

TABLEAU 13: Corrélations pour les nitrates entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol

Légende + corrélation significative positive
 - corrélation significative négative
 nil absence de corrélation

II	nil $r = -0.00$						
III							
IV			+				
			$r = 0.90$				
V	nil $r = 0.15$						
VI		nil $r = -0.03$			nil $r = -0.62$		
VII	- $r = -0.72$				nil $r = -0.13$		
VIII		nil $r = 0.19$				nil $r = -0.51$	+ $r = 0.85$
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII

TABLEAU 14: Corrélations pour le carbone organique entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol

Légende + corrélation significative positive
 - corrélation significative négative
 nil absence de corrélation

II	nil $r = -0.06$						
III							
IV			nil $r = -0.11$				
V	nil $r = 0.26$						
VI		+ $r = 0.71$			nil $r = -0.50$		
VII	nil $r = 0.13$				+ $r = 0.82$		
VIII		nil $r = -0.29$				nil $r = -0.49$	+ $r = 0.81$
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII

TABLEAU 15: Corrélations pour le carbone inorganique entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.

Légende + corrélation significative positive
 - corrélation significative négative
 nil absence de corrélation

II	nil r = 0.26						
III	nil r = 0.28	nil r = 0.14					
IV	nil r = -0.31	+ r = 0.94	nil r = 0.30				
V	nil r = 0.50	nil r = 0.53	nil r = -0.31	nil r = 0.02			
VI	nil r = 0.30	+ r = 0.99	nil r = 0.20	+ r = 0.91	nil r = 0.48		
VII	nil r = -0.28	+ r = -0.94	nil r = 0.27	nil r = -0.76	nil r = -0.70	- r = -0.89	
VIII	nil r = 0.37	+ r = 1.00	nil r = 0.13	+ r = 0.92	nil r = 0.54	+ r = 0.99	- r = -0.94
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII

TABLEAU 16: Corrélacion pour les ortho-phosphates entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.

Légende + corrélation significative positive
 - corrélation significative négative
 nil absence de corrélation

II	+							
	r = 0.90							
III	nil	nil						
	r = 0.52	r = 0.29						
IV	nil	nil	nil					
	r = 0.28	r = 0.37	r = 0.74					
V	nil	nil	nil	nil				
	r = 0.39	r = 0.42	r = 0.52	r = 0.60				
VI	+	nil	nil	nil	+			
	r = 0.78	r = 0.66	r = 0.74	r = 0.54	r = 0.74			
VII	+	nil	nil	nil	nil	+		
	r = 0.75	r = 0.72	r = -0.05	r = -0.23	r = 0.57	r = 0.81		
VIII	nil	nil	nil	-	nil	+	+	
	r = 0.5	r = 0.31	r = -0.48	r = -0.90	r = 0.57	r = 0.77	r = 0.78	
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII	

TABLEAU 17: Corrélations pour le pH entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol

Légende + corrélation significative positive
 - corrélation significative négative
 nil absence de corrélation

II	+							
	r = 0.74							
III	nil	nil						
	r = 0.27	r = 0.21						
IV	nil	+	nil					
	r = 0.62	r = 0.89	r = 0.20					
V	nil	nil	nil	+				
	r = -0.21	r = -0.19	r = 0.86	r = 0.91				
VI	nil	nil	+	+	nil			
	r = 0.29	r = 0.02	r = 0.88	r = 0.93	r = -0.06			
VII	+	+	nil	nil	nil	nil		
	r = 0.87	r = 0.90	r = 0.48	r = 0.62	r = -0.35	r = -0.09		
VIII	+	nil	nil	nil	nil	nil	+	
	r = 0.89	r = 0.66	r = 0.12	r = 0.52	r = -0.50	r = 0.40	r = 0.79	
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII	

TABLEAU 18: Corrélations pour la conductivité entre les différentes séries en fonction du temps de contact avec le sol.

Légende + corrélation significative positive
 - corrélation significative négative
 nil absence de corrélation

II	NO ₃ ⁼ (+) pH (+) COND (+)						
III		NO ₃ ⁼ (+)					
IV		oPO ₄ ⁼ (+) COND (+)	TOC (+)				
V	Norg (+) NO ₃ ⁼ (+)	NH ₄ ⁺ (-)	NH ₄ ⁺ (-) NO ₃ ⁼ (+)	COND (+)			
VI	pH (+)	TIC (+) oPO ₄ (+)	NO ₂ ⁻ (-) COND (+)	oPO ₄ ⁼ (+) COND (+)	Norg (+) pH (+)		
VII	NO ₃ ⁼ (+) TOC (-) pH (+) COND (+)	NO ₃ ⁼ (+) oPO ₄ ⁼ (-) COND (+)			NH ₄ ⁺ (+) TIC (+)	oPO ₄ ⁼ (-) pH (+)	
VIII	NO ₂ ⁻ (-) COND (+)	oPO ₄ ⁼ (+)		oPO ₄ (+) pH (-)		oPO ₄ ⁼ (+) pH (+)	NH ₄ ⁺ (+) Norg (+) TOC (+) TIC (+) pH (+) COND (+) oPO ₄ ⁼ (+)
COLONNES	I	II	III	IV	V	VI	VII

Tableau 19: Corrélations significatives entre les séries pour les différents paramètres.

Légende + corrélation significative positive
- corrélation significative négative

seule corrélation significative entre les différentes séries pour les deux colonnes. L'examen des courbes avait également suggéré une différence marquée entre les processus bactériens impliqués dans les deux colonnes.

On note une corrélation positive significativement différente de 0 entre les séries pour l'azote organique pour les colonnes V et VI. Il en va de même pour le pH. L'examen des résultats des analyses chimiques nous avait amenés à conclure à une influence plus marquée de la température que de l'eau polluée sur les processus bactériens.

Le test de signification appliqué au coefficient de corrélation entre les séries pour l'azote ammoniacal pour les colonnes VII et VIII révèle un coefficient de corrélation positif significativement différent de 0. Il en va de même pour plusieurs paramètres (azote organique, carbone organique, carbone inorganique, pH et conductivité). Les processus bactériens seraient donc assez similaires dans les deux colonnes en dépit de la différence dans la qualité de l'eau. Le test statistique appuie donc nos déductions antérieures basées sur les résultats des analyses chimiques de l'eau.

Par ailleurs, on note pour les colonnes VII et VIII un coefficient de corrélation négatif significativement différent de 0 pour les ortho-phosphates. Le même cas se produit pour les colonnes II et VII, ainsi que pour les colonnes VI et VII. Dans tous les cas, le coefficient est calculé entre deux séries dont une pour une colonne renfermant de l'eau pure, et l'autre, de l'eau polluée. Nous avons déjà remarqué que les ortho-phosphates contenus dans l'eau polluée en concentration élevée disparaissaient de la solution aqueuse. Nous avons donné deux explications, soit l'adsorption au sol et l'utilisation par les microorganismes telluriques. Il semble que dans

la colonne renfermant de l'eau pure (colonne VII), les phosphates contenus dans le sol soient mis en solution dans l'eau. Rappelons que la colonne VII, contrairement aux autres colonnes renfermant de l'eau pure, était maintenue sous des conditions anaérobies qui facilitent une telle mise en solution.

Le test de signification appliqué au coefficient de corrélation entre les séries pour les colonnes II et IV pour les ortho-phosphates indique une corrélation positive significativement différente de 0. Il en va de même pour les colonnes II et VI, les colonnes II et VIII, les colonnes IV et VI, les colonnes IV et VIII et les colonnes VI et VIII. Rappelons que dans toutes les colonnes renfermant de l'eau polluée, on notait une disparition graduelle des ortho-phosphates de la solution aqueuse.

Pour résumer, l'analyse statistique sommaire des résultats par le test de Student et le calcul du coefficient de corrélation et sa signification, nous a donné plusieurs indications valables quant au comportement de la microflore tellurique. Les résultats des tests statistiques seront confrontés aux résultats des analyses chimiques et microbiologiques dans la discussion.

4.3 Etude microbiologique

Les résultats microbiologiques ont été obtenus selon la méthode décrite dans Pochon et Tardieux (1962). Cette méthode a pour base les tables de McCrady, qui nous donnent le nombre le plus probable de bactéries présentes dans un échantillon de sol. Pour obtenir le nombre de bactéries par gramme de sol, ce nombre est multiplié par un facteur de correction basé sur le poids sec du sol. Tous les résultats qui paraissent dans le tableau

20 sont exprimés sous forme du nombre de bactéries par gramme de sol.

On remarque sur le tableau 20 deux échantillons témoins, T_1 et T_2 . Un de ces échantillons (T_1) de sol non-inondé a été analysé au jour 0, tandis que l'autre (T_2) l'a été au jour 64. Le nombre de bactéries varie, en général, de façon peu significative entre les deux échantillons. Pour les fixateurs aérobies, les fixateurs anaérobies, les ferments nitreux et les ferments nitriques, cette différence va jusqu'à un facteur 2.5, ce qui est considéré comme négligeable en microbiologie. Pour les germes protéolytiques, la différence est un peu plus élevée, soit de l'ordre d'un facteur 5; cette variation est également non-significative. Seul le nombre d'ammonificateurs varie assez considérablement (facteur 10) dans les deux échantillons et il y aura lieu d'en tenir compte lors de l'interprétation des résultats microbiologiques.

Le sol des colonnes I, II, III, IV, V et VII a été échantillonné à plusieurs reprises au cours de l'expérience. Les résultats des analyses microbiologiques effectuées sur ces échantillons paraissent dans le tableau 20. Nous tenterons d'interpréter ces résultats et, si possible, de les relier avec les variations des paramètres chimiques mesurés dans l'eau.

4.3.1 Colonne I

Les fixateurs aérobies sont présents en nombre très restreint dans le sol de la colonne I. Le nombre maximum retrouvé est de 37 individus par gramme de sol, ce qui n'est pas comparable avec la moyenne de 2000 individus par gramme de sol citée par Winogradsky (1926). Il se peut que les conditions partiellement anaérobies régnant dans les deux premiers centimètres de sol inondé soient responsables de cette faible densité. Le rapport C/N peu

TABLEAU 20: Distribution des différentes espèces bactériennes dans le sol des colonnes

Identification de l'échantillon	Fixateurs aérobies	Fixateurs anaérobies	Germes protéolytiques	Ammonificateurs	Ferments nitreux	Ferments nitriques	Dénitri-ficateurs
Témoin I	4.0	4.5 x 10	9.0 x 10 ⁵	2.5 x 10 ⁷	9.0 x 10 ²	5.0 x 10 ²	4.5 x 10 ⁷
Témoin II	9.0	9.5 x 10	1.9 x 10 ⁵	2.5 x 10 ⁶	5.0 x 10 ²	1.9 x 10 ²	-
Col. I : jour 1	0.0	1.3 x 10 ²	6.9 x 10 ⁶	> 10 ⁸	1.2 x 10 ³	6.9 x 10 ²	1.3 x 10 ⁵
jour 6	6.0	6.4 x 10 ²	1.3 x 10 ⁷	> 10 ⁸	7.0 x 10 ²	4.3 x 10 ²	-
jour 20	6.0	3.5 x 10 ²	2.6 x 10 ⁷	3.5 x 10 ⁷	4.1 x 10 ⁴	6.9 x 10 ²	6.2 x 10 ⁶
jour 66	3.7 x 10	3.7 x 10 ²	4.4 x 10 ⁶	2.2 x 10 ⁷	2.8 x 10 ³	7.4 x 10 ³	1.4 x 10 ⁴
Col. II : jour 1	9.0	2.4 x 10 ²	6.1 x 10 ⁶	> 10 ⁸	6.1 x 10 ²	1.1 x 10 ³	1.3 x 10 ⁶
jour 46	1.0 x 10	3.7 x 10	3.3 x 10 ⁷	3.7 x 10 ⁷	1.3 x 10 ⁶	7.4 x 10 ²	6.7 x 10 ⁴
jour 65	4.0	2.7 x 10 ²	9.7 x 10 ⁶	4.8 x 10 ⁷	9.7 x 10 ⁵	5.4 x 10 ³	3.2 x 10 ⁴
Col. III: jour 1	0.0	5.6 x 10 ²	3.7 x 10 ⁶	> 10 ⁸	1.1 x 10 ³	1.1 x 10 ³	1.2 x 10 ⁷
jour 6	5.5	2.1 x 10 ²	6.8 x 10 ⁶	> 10 ⁸	4.1 x 10 ²	1.2 x 10 ²	5.5 x 10 ⁶
jour 20	0.0	3.3 x 10 ²	1.2 x 10 ⁷	1.3 x 10 ⁸	1.2 x 10 ⁵	1.2 x 10 ³	1.5 x 10 ⁶
jour 66	3.2 x 10	3.2 x 10	6.4 x 10 ⁶	1.9 x 10 ⁷	1.2 x 10 ⁴	6.4 x 10 ³	2.6 x 10 ⁵
Col. IV : jour 1	1.1 x 10	1.8 x 10 ³	6.0 x 10 ⁷	> 10 ⁸	2.3 x 10 ²	1.8 x 10 ²	3.0 x 10 ⁵
jour 46	1.3 x 10 ²	2.8 x 10 ³	1.0 x 10 ⁸	5.1 x 10 ⁸	1.0 x 10 ⁶	5.6 x 10 ²	1.2 x 10 ⁸
jour 65	1.7 x 10	1.1 x 10 ²	1.0 x 10 ⁸	5.2 x 10 ⁷	1.0 x 10 ⁶	2.2 x 10 ³	3.5 x 10 ⁴
Col. V : jour 6	1.2 x 10	1.2 x 10 ²	2.5 x 10 ⁷	> 10 ⁸	6.5 x 10 ²	1.0 x 10 ²	2.6 x 10 ⁶
jour 20	0.0	3.2 x 10 ²	1.1 x 10 ⁸	1.2 x 10 ⁸	6.3 x 10 ³	6.3 x 10	1.4 x 10 ⁵
jour 47	1.2 x 10	1.2 x 10 ²	> 10 ¹⁰	1.2 x 10 ⁸	6.5 x 10 ³	6.5 x 10 ²	> 10 ⁸
jour 66	0.0	1.2 x 10 ²	1.2 x 10 ⁷	5.7 x 10 ⁸	6.4 x 10 ²	1.2 x 10 ²	3.8 x 10 ⁶
Col. VII: jour 6	0.0	2.1 x 10 ²	6.8 x 10 ⁵	> 10 ⁸	4.1 x 10 ²	2.6 x 10 ²	-
jour 20	0.0	3.3 x 10 ²	6.6 x 10 ⁶	1.3 x 10 ⁷	6.6 x 10 ³	6.6 x 10 ²	2.6 x 10 ⁴
jour 47	1.8 x 10	3.0 x 10 ²	> 10 ¹⁰	4.8 x 10 ⁷	1.1 x 10 ³	6.0 x 10	1.3 x 10 ⁸
jour 66	0.0	3.6 x 10 ²	1.3 x 10 ⁷	3.6 x 10 ⁸	7.2 x 10 ²	1.3 x 10 ²	4.3 x 10 ³

élevé de la matière organique est un autre facteur à considérer. On se rappelle que les fixateurs sont hétérotrophes et que la source de carbone disponible ne doit pas contenir d'azote assimilable pour que la fixation ait lieu. Dans le cas où la quantité d'azote disponible est suffisante, comme dans la colonne I, les fixateurs entrent directement en compétition avec d'autres hétérotrophes à croissance plus rapide. Les fixateurs ne sont sûrement pas favorisés dans une telle situation.

Le nombre des fixateurs anaérobies, bien que plus élevé que celui des fixateurs aérobies, demeure faible. On n'a dénombré que 130 à 640 fixateurs anaérobies par gramme de sol. Meikeljohn (1956) cite un nombre moyen de 418,000 individus par gramme de sol. Un des facteurs auxquels on peut attribuer la faible croissance des fixateurs anaérobies est la compétition très forte des hétérotrophes à croissance plus rapide amenée par le rapport C/N peu élevé de la matière organique.

Les germes protéolytiques sont responsables de la décomposition des protéines. On se rappelle que, dans la colonne I, la matière organique facilement assimilable disparaît au cours des vingt premiers jours durant lesquels la minéralisation est active; après vingt jours, il se crée un état stationnaire des différentes formes d'azote, suite à la diminution de la concentration de la matière organique facile à métaboliser. Le nombre des bactéries protéolytiques est plus élevé aux jours 1, 6 et 20 qu'au jour 66. Il semble se produire une augmentation progressive du nombre de germes entre les jours 0 (correspondant au témoin) et 20, alors que l'abondance de la matière organique permet leur multiplication. Au jour 66, le nombre de bactéries protéolytiques est moindre que celui enregistré au jour 1; cette diminution correspondrait à un état d'équilibre entre les différents pro-

cessus bactériens. La seule matière organique alors disponible aux bactéries protéolytiques est formée des sous-produits, difficiles à métaboliser, issus de la décomposition de la matière organique durant les vingt premiers jours.

Le nombre des bactéries ammonifiantes est plus élevé aux jours 1 et 6 que la limite supérieure permise par la méthode employée. Cette croissance est aidée par un substrat très abondant; l'inondation rend disponible une grande partie de la matière organique du sol, qui, avec un rapport C/N peu élevé, constitue un substrat idéal pour les bactéries ammonifiantes. Au jour 20, la concentration de la matière organique facile à métaboliser diminue, ce qui entraîne une diminution du nombre des bactéries ammonifiantes. Ce nombre atteint un minimum au jour 66, alors que la période d'abondance du substrat est terminée.

Les germes nitreux sont présents en nombre peu élevé aux jours 1 et 6. Bien que le substrat soit alors abondant, les nitrificateurs, qui sont habituellement présents en petit nombre dans le sol, ont besoin d'un certain temps avant d'atteindre un nombre plus élevé. Au jour 20, leur densité est 40 fois plus élevée qu'au jour 1. Rappelons que l'on observe une augmentation de la concentration des nitrites approximativement à partir de ce jour.

Quant aux germes nitriques, leur développement est retardé par rapport à celui des germes nitreux. Leur densité, peu élevée aux jours 1, 6 et 20, augmente considérablement au jour 64. La libération des nitrates est également décalée de quelques jours par rapport à celle des nitrites.

Les dénitrificateurs sont responsables de la transformation des ni-

trates en azote moléculaire et en autres produits gazeux. On se rappelle des pertes d'azote dans le cas de la colonne I, pertes que nous avons attribuées au processus de dénitrification. Le nombre de germes dénitrifiants appuie cette explication. La densité maximum est atteinte au jour 20, ce qui correspond à une période de pertes intensives d'azote.

4.3.2 Colonne II

On remarque dans le tableau 20 que le nombre de fixateurs (aérobies et anaérobies) est sensiblement le même dans la colonne II que celui trouvé dans la colonne I. Les conditions pouvant avoir une influence sur la fixation sont d'ailleurs similaires dans les deux colonnes.

Les germes protéolytiques suivent la même tendance que dans la colonne I. Peu nombreux au jour 0, leur croissance est vite stimulée par la présence de matière organique à fort contenu d'azote (jour 1). Au jour 46, ils sont présents en nombre plus élevé qu'au jour 1; la teneur élevée en protéines du milieu entre les jours 0 et 20 leur a probablement permis d'atteindre cette densité. Après le jour 20, il reste encore des protéines dans le milieu; elles sont issues de la décomposition de la matière organique facile à métaboliser. De plus, la croissance des bactéries protéolytiques serait favorisée par les apports de protéines provenant de l'eau polluée. Au jour 65, leur nombre diminue en raison de l'épuisement relatif du substrat.

Les ammonificateurs sont présents en nombre très élevé dès le jour 1 probablement en raison de l'abondance du substrat et de la diversité des espèces bactériennes impliquées dans l'ammonification. Cette diversité leur permet de connaître un développement très rapide comparé à celui d'autres espèces bactériennes plus spécialisées. Aux jours 46 et 65, leur nombre di-

minue en raison de la diminution relative de la concentration de la matière organique.

Le nombre de germes nitreux est peu élevé au jour 1. Ils ont besoin, comme nous l'avons dit précédemment, d'un laps de temps pour leur développement. Aux jours 46 et 65, leur nombre est très élevé, probablement à cause de l'abondance d'azote ammoniacal, et de l'absence de dénitrificateurs d'autre part. De plus, l'eau polluée ajoutée aux jours 43 et 57, contient peut-être une quantité relativement élevée de ces bactéries. De très fortes concentrations de nitrites sont d'ailleurs enregistrées à ces dates.

Quant aux germes nitriques, leur nombre est comparable à celui enregistré dans la colonne I. Les moyennes des concentrations des nitrates ne sont pas significativement différentes entre les deux colonnes.

Le nombre de dénitrificateurs est moins élevé dans la colonne II que dans la colonne I. Nous avons d'ailleurs déjà mentionné que la dénitrification n'est pas aussi active dans la colonne II que dans la colonne I. Les résultats microbiologiques correspondent donc aux résultats chimiques.

4.3.3 Colonne III

Pour les colonnes III et IV, les résultats des analyses chimiques entre les jours 0 et 20 n'ont pas été donnés pour les raisons décrites antérieurement. Cependant, les résultats des analyses microbiologiques demeurent disponibles pour cette période. Le jour 20 des analyses microbiologiques correspond donc au jour 0 des analyses chimiques.

Le nombre de fixateurs aérobies et anaérobies dans la colonne III est semblable à celui observé dans les colonnes I et II. Il semble donc que

le faible rapport C/N de la matière organique soit un facteur déterminant de leur développement car, rappelon-le, il favorise la croissance d'autres hétérotrophes à croissance plus rapide que les fixateurs.

Comme dans la colonne I, le nombre de germes protéolytiques augmente entre les jours 0 (sol séché) et 20, ce qui serait dû à l'abondance de matière organique facile à métaboliser. Au jour 66, leur nombre diminue pour deux raisons principales, soit le lessivage initial et l'épuisement de la matière organique.

Les ammonificateurs sont présents en grande quantité entre les jours 0 et 20. Comme nous l'avons déjà dit, ces germes répondent rapidement à la présence de la matière organique qui est plus abondante durant cette période. Au jour 66, leur nombre diminue pour les raisons déjà invoquées dans le cas des bactéries protéolytiques.

Les ferments nitreux sont abondants au jour 20 pour deux raisons principales. Tout d'abord, la couche superficielle du sol est bien oxygénée car c'est la période d'assèchement. En second lieu, le substrat (azote ammoniacal) est abondant en raison de l'ammonification active qui a lieu entre les jours 0 et 20. Au jour 66, les germes nitreux sont moins abondants qu'au jour 20, mais plus qu'aux jours 1 et 6. Il reste moins de matière organique qu'au jour 20, mais l'oxygénation est meilleure qu'aux jours 1 et 6 car le sol est asséché au jour 66.

Les germes nitriques sont peu abondants aux jours 1, 6 et 20, probablement en raison de l'absence de substrat (nitrites). Au jour 66, leur nombre augmente, ce qui correspond à la présence d'une plus grande concentration de nitrates en solution.

Quant aux dénitrificateurs, leur nombre est très élevé aux jours 1, 6 et 20. Il diminue au jour 66 alors que l'oxygénation du sol est meilleure.

4.3.4 Colonne IV

Dans la colonne IV, on remarque d'abord une plus grande quantité de fixateurs anaérobies que dans les colonnes I, II et III. Leur nombre demeure tout de même faible comparé aux valeurs citées par Meiklejohn (1956).

Les germes protéolytiques sont très abondants dans cette colonne. Leur présence semble liée à celle d'une quantité plus grande de sous-produits protéiques de la décomposition anaérobie, l'oxygénation semblant moins bonne que dans les colonnes I, II et III.

Quant au nombre d'ammonificateurs, il ne diminue qu'au jour 65, suite probablement à l'épuisement de la matière organique.

Le nombre de germes nitreux est très élevé aux jours 46 et 65. L'eau polluée ajoutée aux jours 43 et 57 peut apporter une certaine quantité de ces bactéries.

Les dénitrificateurs ne sont abondants qu'au jour 46, ce qui correspond à une période d'inondation. Au jour 66, leur nombre est moins élevé car l'oxygénation se fait mieux durant la période d'assèchement.

4.3.5 Colonne V

On ne remarque pas de différence importante entre le nombre de fixateurs aérobies et anaérobies dans les colonnes I, II et V. Par contre, les germes protéolytiques et les ammonificateurs sont présents en nombre très

élevé malgré la basse température.

Le nombre de ferments nitreux et nitriques est en général moins élevé que dans la colonne I. La présence de nitrites et de nitrates est d'ailleurs rarement décelable en solution. Quant au nombre de dénitrificateurs, il est parfois plus élevé que dans les colonnes I et II, en dépit de la basse température.

4.3.6 Colonne VII

Le nombre de fixateurs aérobies et anaérobies n'est pas différent de celui trouvé dans la colonne I, ce qui a tendance à confirmer l'hypothèse selon laquelle le rapport C/N de la matière organique serait le facteur déterminant pour leur développement.

Les germes protéolytiques et ammonifiants sont présents en plus grande quantité que dans la colonne I, en raison, peut-être, de la présence de nombreux sous-produits de la décomposition anaérobie. Leur nombre est généralement comparable à celui de la colonne IV.

A cause des conditions anaérobies, les germes nitreux et nitriques sont présents en très faible quantité. Les dénitrificateurs le sont aussi en raison de l'absence de substrat (nitrates).

4.3.7 Remarques générales

En général, le nombre de fixateurs aérobies et anaérobies que nous avons retrouvé est faible comparé à certaines valeurs citées dans la littérature scientifique. Ainsi, le nombre d'Azotobacter varie de 0 à 130 individus par gramme de sol, tandis qu'on cite des chiffres de 0-20,000 (Winogradsky, 1926), de 10-700 (Meiklejohn, 1956), de 1600-18,000 (Brown et al, 1962), de

100-1000 (Lockhead et Thexton, 1936), de 10-8000 (Gonick et Reuszer, 1949) et de 2500-11,000 (Augier, 1956). Le nombre de Clostridium retrouvé dans le sol s'échelonne de 32 à 2800 individus par gramme de sol, tandis qu'Augier (1957) citait des valeurs allant de 0 à 10^5 individus par gramme de sol.

Le nombre peu élevé de fixateurs peut s'expliquer en partie par la présence dans le sol de matière organique dont le rapport C/N est peu élevé. Comme nous l'avons dit précédemment, il existe une forte compétition entre les diverses espèces bactériennes dans le sol. Chaque espèce a développé des caractéristiques qui lui sont particulières afin de survivre dans ce milieu compétitif. Ainsi, certains types de bactéries se spécialisent dans l'utilisation de substrats non disponibles aux autres, c'est le cas des fixateurs qui peuvent utiliser l'azote moléculaire dans un milieu privé d'une quantité suffisante d'azote assimilable. D'autres espèces se spécialisent dans l'utilisation d'un substrat en présence d'espèces aussi capables de l'assimiler; plusieurs espèces hétérotrophes doivent leur survie à la rapidité avec laquelle elles peuvent assimiler un substrat. Un rapport C/N peu élevé de la matière organique favorise les espèces hétérotrophes à croissance rapide beaucoup plus que les fixateurs qui ne peuvent utiliser le substrat à la même vitesse. Si la matière organique avait un rapport C/N suffisamment élevé pour que l'azote devienne le facteur limitant la croissance des hétérotrophes, alors la croissance des fixateurs serait probablement favorisée par rapport à celle des hétérotrophes.

Les hétérotrophes étant favorisés par un rapport C/N peu élevé, il n'est pas étonnant de voir des quantités aussi élevées de ces germes dans le sol inondé. Ces germes se développent rapidement après l'inondation du sol, car elle rend disponible une grande quantité de matière organique.

Par suite d'une utilisation initiale vigoureuse, la quantité de matière organique diminue, entraînant une diminution du nombre de germes ammonifiants et protéolytiques.

La réponse des ferments nitreux et nitriques à la présence d'azote ammoniacal n'est pas aussi rapide que celle des germes ammonifiants et protéolytiques à la présence de matière organique. Ceci serait dû au fait que les nitrificateurs ne sont pas habituellement présents en nombre élevé dans le sol. Il existe un délai durant lequel les nitrificateurs se multiplient pour atteindre un niveau de population suffisamment élevé pour que leur influence soit mesurable (apparition de nitrates). Après cette période de développement, le nombre de nitrificateurs varie selon l'abondance d'azote ammoniacal, atteignant des valeurs de 10^6 individus par gramme de sol pour Nitrobacter et 18,000 individus par gramme de sol pour Nitrosomonas. Le nombre de germes nitreux est toujours plus élevé que le nombre de germes nitriques, ce qu'a déjà observé Laurent (1971). Des nombres moins élevés sont mesurés dans les colonnes VI et VII, où leur activité, mesurée par la production de nitrates, est nulle.

Le nombre de dénitrificateurs est en général très élevé dans le sol. Il diminue en raison de l'absence des nitrates. De plus, bien que tolérants à la présence d'une faible quantité d'oxygène, les dénitrificateurs sont affectés par l'exposition du sol à l'air dans les colonnes III et IV.

4.4 Etude du sol

Tel que nous l'avons dit précédemment, nous avons calculé par séchage à 550°C ce que nous appellerons le contenu en matière organique du sol. Les résultats sont présentés dans le tableau 21.

TABLEAU 21: Pourcentage de matière organique volatile à 550°C et pourcentage d'azote total contenus dans le sol des différentes colonnes.

Identification de l'échantillon		% de matière organique volatile à 550°C	% azote total
Colonne I	No 1	8.45	0.33
	No 2	8.96	
Colonne II	No 1	7.46	0.28
	No 2	8.53	
Colonne III	No 1	9.75	0.30
	No 2	8.79	
Colonne IV	No 1	8.32	0.26
	No 2	7.94	
Colonne V	No 1	8.93	0.34
	No 2	8.44	
Colonne VI	No 1	8.91	0.34
	No 2	8.83	
Colonne VII	No 1	7.18	0.28
	No 2	7.34	
Colonne VIII	No 1	8.28	0.31
	No 2	8.13	
Témoin	No 1	7.80	0.29
	No 2	8.04	

La variation est peu importante entre les différentes colonnes. On remarque que le pourcentage en matière organique est un peu moins élevé dans la colonne II que dans la colonne I, dans la colonne IV que dans la colonne III et dans la colonne VII que dans la colonne VIII. Les colonnes V et VI présentent des valeurs similaires.

Si l'on examine maintenant les résultats des analyses chimiques effectuées sur le sol (tableau 21), on observe la même progression que celle décrite dans le paragraphe précédent. Cependant, ici encore, les différences sont peu marquées.

En somme, les résultats des analyses du sol sont peu concluants sauf dans le cas des colonnes III et IV où elles indiquent une différence plus marquée. Les variations sont très faibles. Il faudrait avoir un nombre plus élevé de données qui nous permettrait d'effectuer des tests statistiques et de déterminer ainsi les différences significatives.

4.5 Discussion

Nous avons suivi en laboratoire l'évolution d'un sol soumis à une inondation. Ce sol présentait des caractéristiques particulières auxquelles sont reliés intimement certains des phénomènes observés. Ainsi, le rapport C/N peu élevé du sol a facilité les processus de minéralisation qui auraient été plus lents dans un sol recouvert de débris organiques récents. De plus, les essais en laboratoire ne peuvent reproduire la totalité des conditions naturelles telles que la durée des périodes d'ensoleillement, les variations de la température et la présence d'algues. Indépendamment de ces aspects spéciaux, il est vraisemblable que le comportement du sol que nous avons employé puisse être généralisé, au moins partiellement. Plusieurs des con-

séquences de l'inondation du sol semblent de nature suffisamment universelle pour permettre une telle généralisation.

Nous tentons de dégager les traits principaux mis en relief par cette étude en confrontant les résultats des analyses chimiques et microbiologiques et des tests statistiques. Il faut cependant se rappeler que les tests statistiques ont été effectués sur un nombre restreint de données. De plus, plusieurs des analyses ont été effectuées avant qu'un état stationnaire ne soit atteint. Il est donc impossible de comparer les résultats du test d'égalité des moyennes pris séparément; les seules égalités significatives entre les moyennes de deux séries dont nous tenons compte sont celles où il existe également une corrélation significative.

Nous utilisons les résultats obtenus pour la colonne I comme base de référence pour la discussion des phénomènes reliés à l'inondation d'un sol sous les autres conditions expérimentales.

Suite à l'inondation du sol, on assiste dans la colonne I à une importante mise en solution de matière organique. Cette mise en solution serait due à deux phénomènes distincts. Le premier est un phénomène physique qui consiste dans la libération de matière organique modifiée par l'assèchement du sol et son inondation subséquente. Le deuxième phénomène met en cause l'activité bactérienne; les microorganismes possèdent la faculté de s'attaquer à des polymères insolubles et de les dissocier surtout par hydrolyse en unités dont certaines sont solubles.

Cette matière organique a un rapport C/N peu élevé, ce qui favoriserait la minéralisation aux dépens de l'assimilation. Une grande quantité d'azote ammoniacal se trouverait ainsi rapidement libérée durant les 20 pre-

miers jours par l'intermédiaire des bactéries ammonifiantes. Aux jours 1 et 6, le nombre de bactéries ammonifiantes était d'ailleurs supérieur aux limites de détection de la méthode d'énumération utilisée. La présence de matière organique au rapport C/N peu élevé favoriserait également le développement d'espèces protéolytiques, dont le nombre s'accroît entre les jours 0 et 20. Ces espèces hétérotrophes sont favorisées dans la compétition pour le substrat par rapport aux fixateurs aérobies et anaérobies, qui ne sont jamais présents en nombre élevé dans le sol d'aucune des colonnes.

Une vingtaine de jours après l'inondation du sol, la matière organique facile à métaboliser serait pratiquement épuisée. On assiste alors à une régression du nombre de bactéries ammonifiantes et protéolytiques. La présence d'azote ammoniacal en grande quantité favoriserait le développement des ferments nitreux dont nous avons mesuré le nombre maximal au jour 20. On note d'ailleurs une augmentation de la concentration des nitrites entre les jours 20 et 36. Cette augmentation favoriserait à son tour le développement des germes nitriques; on observe une légère augmentation de la concentration des nitrates entre les jours 20 et 43. Ces deux types de bactéries aérobies trouveraient des conditions favorables dans la couche superficielle du sol.

L'augmentation des concentrations des nitrites et des nitrates n'est pas suffisamment élevée pour expliquer la diminution de la concentration de l'azote ammoniacal entre les jours 20 et 43. Il semble que les nitrates soient immédiatement dénitrifiés dans la couche inférieure du sol. D'ailleurs, le nombre de dénitrificateurs augmente vers le jour 20, ce qui coïncide avec la diminution rapide d'azote ammoniacal.

Après le jour 43, on assiste à une stabilisation des concentrations des paramètres azotés et de la matière organique. La matière organique qui demeure en solution est probablement constituée d'une part de la fraction difficile à métaboliser et, d'autre part, des résidus organiques résistants.

Dans la colonne II, la présence de l'eau polluée ne semble pas entraîner de changements importants dans les processus bactériens. L'examen des résultats chimiques et microbiologiques révèle, comme dans la colonne I, une ammonification active suivie de la nitrification de l'azote ammoniacal. Tout comme dans la colonne I, les ammonificateurs et les germes protéolytiques sont présents en nombre élevé dès le jour 1 et leur densité ne diminue que vers les derniers jours. De plus, les ferments nitreux et nitriques se retrouvent en plus grande quantité vers le 45e jour. Il semble cependant que la minéralisation de la matière organique s'effectue plus rapidement que dans la colonne I, peut-être en raison de la présence dans l'eau polluée de bactéries acclimatées.

Il semble également que l'addition, après chaque prélèvement d'eau polluée contenant une plus grande concentration d'azote ammoniacal que la solution aqueuse de la colonne, entraîne une stimulation passagère de l'activité bactérienne (en particulier des ammonificateurs) entre les jours 36 et 64. L'azote ammoniacal disparaît rapidement de la solution entre les additions, tandis que les concentrations des nitrites et des nitrates augmentent. On n'assiste pas à une période stationnaire après le 43e jour comme dans la colonne I. Il semble donc que le substrat organique soit le facteur limitant l'activité bactérienne dans la colonne I puisque l'addition dans la colonne II d'eau polluée renfermant une certaine quantité de substrat

organique nuit à la création d'un état stationnaire dans la colonne II après le 43^e jour.

Les valeurs pour la conductivité, de même que les concentrations des ortho-phosphates et des phosphates totaux sont plus élevées dans la colonne II que dans la colonne I. L'eau polluée exerce donc une influence au niveau de ces paramètres, influence qui ne se manifeste qu'initialement pour les ortho-phosphates et les phosphates totaux qui sont rapidement adsorbés au sol. En ce qui concerne la conductivité, on note un coefficient de corrélation positif significativement différent de 0 et une différence significative entre les moyennes pour les deux séries.

Il est difficile de comparer les résultats obtenus pour la colonne III avec ceux des autres colonnes en raison du lessivage initial auquel fut soumis le sol. De plus, le test de signification du coefficient de corrélation n'a révélé aucune corrélation significative entre les séries pour les colonnes I et III.

Les résultats des analyses chimiques et microbiologiques suggèrent que le lessivage initial a dépourvu le sol d'une grande partie de sa matière organique. Cette dernière a pu être minéralisée en grande partie durant cette période. Il resterait donc moins de substrat au jour 0 dans le sol de la colonne III qu'il n'y en avait dans les autres colonnes au même jour. D'ailleurs, le nombre de germes protéolytiques et d'ammonificateurs est élevé au jour 0. Il est comparable à ceux enregistrés au jour 20 dans la colonne I. Il semble que les microorganismes aient atteint ces populations grâce à l'abondance du substrat durant la période initiale d'inondation. Ce substrat et les produits de la minéralisation auraient été entraînés en partie par l'eau du lessivage initial.

D'autre part, les meilleures conditions d'aération régnant dans la colonne III durant les périodes d'assèchement ont permis à la microflore nitrifiante de se développer abondamment. Le nombre de germes nitreux au jour 46 est d'ailleurs supérieur à celui mesuré dans la colonne I au jour 66. L'examen des courbes pour les paramètres azotés (figure 11) révèle la présence de nitrates en quantité plus grande et la disparition plus rapide de l'azote ammoniacal que dans la colonne I. Finalement, la meilleure aération semble ralentir l'activité des dénitrificateurs puisque la concentration des nitrates demeure élevée jusqu'au dernier jour.

Les mêmes limitations s'imposent pour la discussion des résultats obtenus pour la colonne IV que pour la colonne III.

On remarque d'abord que la concentration d'azote ammoniacal augmente jusqu'au jour 37, alors qu'elle diminuait dès le début dans la colonne III. On peut invoquer deux raisons principales pour ce phénomène. Tout d'abord, il y aurait plus de substrat dans la colonne IV que dans la colonne III. Ce substrat peut provenir en partie de l'eau polluée. Les analyses chimiques indiquent d'ailleurs une concentration plus élevée de carbone et d'azote organique dans la colonne IV que dans la colonne III. Ensuite, il semble que la nitrification soit moins active dans la colonne IV que dans la colonne III. La production de nitrites ne débute que vers le jour 40 alors que le nombre de germes nitreux est élevé. Nous ne pouvons expliquer pourquoi les processus bactériens sont ainsi modifiés dans la colonne IV, mais nous doutons que cette différence provienne seulement de l'eau polluée.

Les processus bactériens dans la colonne V sont très affectés par la basse température. La concentration d'azote ammoniacal augmente lente-

ment du début à la fin de l'expérience. Cette augmentation est beaucoup moins rapide que dans la colonne I et la concentration d'azote ammoniacal en solution est plus faible. Il semble que l'ammonification se produise au ralenti sous l'effet de la basse température.

La mise en solution de la matière organique s'effectue également beaucoup plus lentement, ce qui indique qu'elle est attribuable en partie à des processus bactériens (dépolymérisation). La minéralisation est également ralentie, de même que la nitrification.

D'autre part, les principaux groupes bactériens sont présents en quantité comparable et parfois plus élevée que celle mesurée dans la colonne I. La basse température n'élimine donc pas les espèces bactériennes. Les bactéries sont présentes dans le sol mais leur activité est considérablement réduite.

On remarque également que les ortho-phosphates et les phosphates totaux sont présents en plus grande quantité que dans la colonne I. La raison en est peut-être que le métabolisme bactérien opérant au ralenti, la demande en phosphore est moins grande que dans la colonne I.

L'examen des résultats des analyses chimiques suggère une similitude entre les processus bactériens impliqués dans les colonnes V et VI. Il semble se produire le même ralentissement en raison de la basse température. L'influence de l'eau polluée sur les processus bactériens serait donc négligeable quand ces derniers sont très ralentis.

On remarque une différence pour la conductivité, les ortho-phosphates et les phosphates totaux. Cette différence est attribuable à l'eau polluée qui renferme une concentration plus élevée d'ortho-phosphates, de phos-

phates totaux et d'ions. On remarque une corrélation négative significative entre les séries pour les deux colonnes pour les ortho-phosphates. Dans la colonne V, une petite quantité d'ortho-phosphates est mise en solution du sol. Ces ortho-phosphates seraient peu nécessaires au métabolisme bactérien opérant au ralenti. Par contre, dans l'eau polluée de la colonne VI, on retrouve une forte concentration d'ortho-phosphates. Ils seraient rapidement adsorbés au sol par un phénomène physique.

Dans la colonne VII, l'anaérobiose de l'atmosphère de la colonne entraîne la disparition de la couche superficielle oxydée. Les processus bactériens en sont affectés puisque les bactéries sont ordinairement présentes en nombre plus élevé dans la couche superficielle que dans les couches sous-jacentes. Cette différence se manifeste au niveau des résultats des analyses chimiques et microbiologiques.

Le processus bactérien de dépolymérisation hydrolytique ne semble pas affecté par l'anaérobiose. La matière organique rendue disponible serait minéralisée par les bactéries anaérobies. Ces bactéries dégradent la matière organique de façon moins complète que les bactéries aérobies. La quantité de sous-produits de la minéralisation serait donc plus importante.

Cette abondance de substrat favoriserait les bactéries ammonifiantes. On retrouve en solution une quantité plus grande d'azote ammoniacal que dans la colonne I. De plus, le nombre d'ammonificateurs y est plus élevé au jour 66.

L'anaérobiose entraînerait également la modification des processus de nitrification. Les bactéries nitrifiantes étant des aérobies strictes, elles ne peuvent être actives dans la colonne VII. La faible activité des

bactéries nitrifiantes explique pourquoi la concentration d'azote ammoniacal en solution ne diminue pas comme dans la colonne I. On retrouve d'ailleurs moins de ferments nitreux et nitriques dans la colonne VII que dans la colonne I, tandis que la concentration de nitrites et de nitrates en solution est inférieure. En raison de l'absence de ces composés, la dénitrification serait également peu active.

Les concentrations d'ortho-phosphates et de phosphates totaux sont plus élevées que dans la colonne I. L'anaérobiose favoriserait la mise en solution de certains ions tels l'ion ferreux avec une libération concomitante de phosphates. En aérobiose, l'ion ferrique forme un composé insoluble avec les phosphates.

L'influence de l'eau polluée serait restreinte en anaérobiose. Les analyses chimiques nous permettent de supposer la même séquelle pour les processus bactériens dans la colonne VIII que dans la colonne VII. De plus, le test de signification du coefficient de corrélation indique une corrélation positive significative entre les séries pour l'azote ammoniacal pour les colonnes VII et VIII. Il en va de même pour l'azote organique, le carbone organique, le pH et la conductivité. Sauf pour ce dernier paramètre, les moyennes des séries pour tous les autres ne sont pas significativement différentes de celles pour la colonne VII. Les colonnes VII et VIII sont donc celles où l'influence de l'eau polluée se manifeste le moins, probablement en raison de l'influence déterminante de l'anaérobiose sur les processus bactériens.

Dans toutes les colonnes, la fixation de l'azote moléculaire semble peu importante. Les analyses du sol ne nous ont pas permis de faire un bi-

lan de l'azote au début et à la fin de l'expérience, ce qui nous aurait conduits à une approximation de l'intensité des processus bactériens de fixation.

SOMMAIRE

Le but de cette expérience était l'étude du comportement de la microflore tellurique active dans le cycle de l'azote dans un sol inondé.

Des colonnes de type Winogradsky ont été utilisées pour cette étude. Chaque colonne renfermait environ deux (2) kilogrammes de sol inondé avec un litre et demi (1.5) d'eau. L'eau percolait à travers le sol, puis était dirigée vers la surface d'où elle commençait un nouveau cycle.

En tout, huit colonnes ont été utilisées, chacune étant soumise à des conditions différentes qui sont décrites ici:

<u>Colonne</u>	<u>Type d'eau</u>	<u>Conditions</u>
I	Eau pure	Température: 20°C
II	Eau polluée	Température: 20°C
III	Eau pure	Alternance inondation-sécheresse
IV	Eau polluée	Alternance inondation-sécheresse
V	Eau pure	Température: 4°C
VI	Eau polluée	Température: 4°C
VII	Eau pure	Anaérobiose
VIII	Eau polluée	Anaérobiose

L'eau de chacune des colonnes était analysée à intervalles réguliers pour les paramètres suivants: pH, conductivité, azote ammoniacal, nitrites, nitrates, azote organique, azote total, ortho-phosphates, phosphates totaux inorganiques, carbone organique et carbone inorganique. Des échantillons de sol étaient également prélevés pour la détermination du nombre

des espèces bactériennes suivantes: fixateurs aérobies, fixateurs anaérobies, germes protéolytiques, ammonificateurs, ferments nitreux, ferments nitriques et dénitrificateurs.

En général, les résultats des analyses chimiques et microbiologiques nous ont permis de suivre l'évolution temporelle de l'activité microbienne dans le sol inondé. Nous donnons ici notre interprétation des résultats.

Dans les colonnes I et II, on a observé une libération intense de matière organique suite à l'inondation du sol, ce qui a favorisé la croissance rapide des germes protéolytiques et des ammonificateurs. L'azote ammoniacal produit était utilisé par les ferments nitreux et nitriques présents dans la couche superficielle oxydée. Les nitrates formés étaient entraînés par l'eau vers les couches sous-jacentes réduites où ils étaient transformés en produits gazeux par les bactéries dénitrifiantes. Un équilibre s'est créé entre les différents processus bactériens environ trente (30) jours après le début de l'expérience.

Dans les colonnes III et IV, l'oxygénation était meilleure durant les périodes d'assèchement, ce qui a favorisé la croissance des ferments nitreux et nitriques. Par contre, la dénitrification était ralentie par suite de la présence d'oxygène.

A 4°C, tous les processus étaient ralentis dans les colonnes V et VI. La matière organique était dégradée beaucoup plus lentement par les ammonificateurs et les germes protéolytiques. Aucune activité des ferments nitreux et nitriques n'a été décelée. Par le fait même les dénitrificateurs étaient également inactifs.

En anaérobiose, la décomposition de la matière organique ne s'effectuait pas de la même manière que dans les colonnes où la couche superficielle de sol demeurait aérobie. Les sous-produits de la fermentation étaient plus nombreux que ceux de la décomposition aérobie, et peu étaient sous forme gazeuse. Il se produisait donc une accumulation de sous-produits organiques dans l'eau des colonnes VII et VIII, accumulation favorisée par l'absence de nitrificateurs dans des conditions anaérobies.

En général, l'eau polluée a exercé peu d'effet sur les processus bactériens du sol. On n'a noté aucune différence importante entre les colonnes où le seul facteur de variation était l'eau polluée. Ce fait était particulièrement évident dans les colonnes VII et VIII où l'anaérobiose exerçait une influence prépondérante sur les processus microbiologiques.

Le modèle utilisé nous a permis de suivre l'évolution temporelle de l'activité microbienne. Ce modèle offre de nombreuses possibilités qu'il serait intéressant d'exploiter.

BIBLIOGRAPHIE

- ABD-EL-MALEK, Y, et ISHAC, V.Z., 1962, "Abundance of Azotobacter in Egyptian Soils", Abstr. VIII Intern. Congr. Microbiol., Montréal: 57.
- ABICHANDANI, C.T. et PATNAIK, S., 1955, "Mineralizing Action of Lime on Soil Nitrogen in Waterlogged Rice Soils", Int. Rice Commn Newsp 13: 11-13.
- ACHARYA, C.N., 1935, "Studies on the Anaerobic Decomposition of Plant Materials. III. Comparison of the Course of Decomposition Under Anaerobic, Aerobic and Partially Aerobic Conditions", Biochem. J. 29: 1116-11120.
- ALEXANDER, M., 1961, "Introduction to Soil Microbiology", Ed., John Wiley and Sons, Inc., New-York.
- ALEXANDER, M., 1964, "Biochemical Ecology of Soil Microorganisms", A. Rev. Microbiol. 18: 217-252.
- ANDERSON, G.R. et JORDAN, J.V., 1961, "Boron: a Non-essential Growth Factor for Azotobacter chroococcum", Soil Sci. 92: 113-116.
- ARMSTRONG, F.A.J., STERNS, C.R. et STRICKLAND, J.D.H., 1967, "Measurement of Upwelling and Subsequent Biological Process by Means of Technicon Autoanalyser", Deep Sea Res. 14: 381-389.
- AUGIER, J., 1956, "A propos de la numération des Azotobacter en milieu liquide", Annl's Inst. Pasteur, Paris 91: 759-765.

- AUGIER, J., 1957, "A propos de la fixation biologique de l'azote atmosphérique et de la numération de Clostridium fixateurs dans les sols", *Annls Inst. Pasteur, Paris* 92: 817-824.
- AZIM, M.A. et ROBERTS, E.R., 1956, "Studies in the Biological Fixation of Nitrogen. VI. Inhibition in Azotobacter vinelandii by Nitrite", *Biochim. biophys. Acta* 21: 308-312.
- BAILLIE, A., HODGKISS, W. et NORRIS, J.R., 1962, "Flagellation of Azotobacter spp. as Demonstrated by Electron Microscopy", *J. Appl. Bact.* 25: 116-119.
- BASAK, M.N., DUTT, T. et NAG, D.K., 1957, "Effect of Mixed Forms of Nitrogen on Yield", *J. Indian Soc. Soil Sci.* 5: 55-63.
- BECKING, J.H., 1962, "Species Differences in Molybdenum and Vanadium Requirements and Combined Nitrogen Utilisation by Azotobacteriaceae", *Pl. Soil* 16: 171-201.
- BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology, 1957, Ed., Breed, R.S., Murray, R.G.D. et Smith, N.R., Baillièrre, Tindall et Cox, Londres.
- BOLLAG, J.M., ORCUTT, M.L., BOLLAG, G., 1970, "Denitrification by Isolated Soil Bacteria Under Various Environmental Conditions", *Proc. Soil Sci. Soc. Am.* 34: 875-879.
- BOLLETER, W.T., BUSHMAN, C.J. et TIDEWELL, P.N., 1961, "Spectrophotometric Determination of Ammonia as Indophenol", *Analyt. Chem.* 33: 592-594.
- BREMNER, J.M., 1960, "Determination of Nitrogen in Soil by the Kjeldahl Method", *J. Agric. Sci.* 55: 1-23.

- BREMNER, J.M. et SHAW, K., 1958, "Denitrification in Soil. I. Methods of Investigation", J. Agric. Sci. 51: 22.
- BROWN, M.E., BURLINGHAM, S.K. et JACKSON, R.M., 1962, "Studies on Azotobacter Species in Soil. I. Comparison of Media and Techniques for Counting Azotobacter in Soil", Pl. Soil 17: 309-319.
- BULLA, L.A., GILMOUR, C.M. et BOLLEN, W.B., 1970, "Non-biological Reduction of Nitrite in Soil", Nature, Lond. 225: 664.
- BUSWELL, M.M., SHIOTA, T., LAWRENCE, N. et METER, I.V., 1954, "Laboratory Studies on the Kinetics of the Growth of Nitrosomonas with Relation to the Nitrification Phase of the BOD Test", Appl. Microbiol. 2: 21-25.
- CAMPBELL, N.L.R. et LEES, H., 1965, "The Nitrogen Cycle", dans "Soil Biochemistry", McLaren, D., et Peterson, G.H., ed: 196 pages.
- CAMPBELL, P.G., BOBEE, B., CAILLE, A., DEMALSY, P., DEMALSY, M.J., SASSEVILLE, J.L. et VISSER, S.A., 1974, "Prévision de la qualité de l'eau d'un réservoir d'alimentation: étude de l'influence du décapage des sols", Conférence présentée à l'ACFAS, Montréal, 13 mai 1974: 107 pages.
- CASTELL, C.H. et MAPPLEBECK, E.G., 1956, "A Note on the Production of Nitrite from Hydroxylamine by Some Heterotrophic Bacteria", J. Fish, Res. Bd Can. 13: 201-206.
- CAWSE, P.A. et SHELDON, D., 1972, "Rapid Reduction of Nitrate in Soil Re-moistened After Air-drying", J. Agric. Sci., Camb. 78: 405-412.

- CLARK, F.E., 1967a, "Bacteria in Soil", dans "Soil Biology", Burges, A. et Raw, F., éd., Londres et New York: 532 pages.
- CLARK, F.E., 1967b, "The Growth of Bacteria in Soil", dans "The Ecology of Soil Bacteria", Gray, T. et Parkinson, D., éd., Liverpool: 441-457.
- COPPIER, O. et DE BARJAC, H., 1952, *Annls Inst. Pasteur, Paris* 83: 118.
(Cité dans "Pochon et Tardieux, 1962")
- COREY, J.C., NIELSEN, D.R. et KIRKHAM, D., 1967, "Miscible Displacement of Nitrate Through Soil Columns", *Proc. Soil Sci. Soc. Am.* 31: 497-501.
- DE BARJAC, H., 1952, *Annls Inst. Pasteur, Paris* 83: 207. (Cité dans "Pochon et Tardieux, 1962")
- DELWICHE, C.C., 1970, "The Nitrogen Cycle", *Scient. Am.* 223 (3): 136-146.
- DOXTADER, K.G. et ALEXANDER, M., 1966, "Nitrification by Heterotrophic Soil Microorganisms", *Proc. Soil Sci. Soc. Am.* 30 (3): 351-355.
- EYLAR, O.R. et SCHMIDT, E.L., 1959, "A Survey of Heterotrophic Microorganisms from Soil for Ability to Form Nitrite and Nitrate", *J. gen. Microbiol.* 20: 473-481.
- FEDERAL WATER POLLUTION CONTROL ADMINISTRATION, 1969, "Methods for Chemical Analysis of Water and Wastewater".
- FEUILLADE, J., 1970, "Evolution des caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques précédant la stagnation estivale dans un lac de barrage", *Ann. hydrobiol.* 1 (1): 7-41.

- FEUILLADE, J., et LAURENT, M., 1969, "Essai d'une méthode d'investigation pour l'étude du cycle de l'azote dans les étangs", Rech. Hydrobiol. contin. 1: 5-21.
- FEWSON, C.A. et NICHOLAS, D.J.D., 1961, "Nitrate Reductase from Pseudomonas aeruginosa", Biochim. biophys. Acta 49: 335-349.
- FLORENZANO, G. et BALLONI, W., 1965, "Quelques souches de bactéries fixatrices d'azote aérobies acido-tolérantes", Annls Inst. Pasteur, Paris 109: 133-135.
- FOGG, C.E., 1956, "Nitrogen Fixation by Photosynthetic Organisms", A. Rev. Pl. Physiol. 7: 51-70.
- FOGG, C.E. et WOLFE, M., 1954, "The Nitrogen Metabolism of the Blue-green Algae (Myxophyceae)", dans "Symposium on Autotrophic Microorganisms", Cambridge University Press, Londres 4: 99-125.
- GEST, H. et KAMEN, M.D., 1949, "Photoproduction of Molecular Hydrogen by Rhodospirillum rubrum", Science, N.Y. 109: 558-559.
- GONICK, W.N. et REUSZER, H.W., 1949, "The Distribution of Azotobacter chroococcum and Azotobacter vinelandii in Colorado Soils and Surface Waters", Proc. Soil Sci. Soc. Am. 13: 251-257.
- HELLER, R., 1969, "Biologie végétale. Tome II. Nutrition et métabolisme", Masson, éd., Paris: 410-444.
- HIEL, S., DROZD, J.W. et POSTGATE, J.R., 1972, "Environmental Effects on the Growth of Nitrogen-fixing Bacteria", J. appl. Chem. Biotechnol. 22: 541-558.

- JACKSON, M.L., 1958, "Soil Chemical Analysis", Prentice Hall Inc., Englewood Cliffs, N.J., Publié par Constable and Company, Ltd, 10-12 Orange Street, W.C. 2: 498 pages.
- JANSSON, S.L., 1958, "Tracer Studies on Nitrogen Transformations in Soil with Special Attention to Mineralization-immobilization Relationships", Lantbr Högsk Annlr 24: 101-361.
- JANSSON, S.L., HALLAM, M.J. et BARTHOLOMEW, W.V., 1955, "Preferential Utilization of Ammonium over Nitrate by Microorganisms in the Decomposition of Oat Straw", Pl. Soil 6: 382-390.
- JENSEN, H.L., 1955, "Azotobacter macrocytogenes n. sp., a Nitrogen-fixing Bacterium Resistant to Acid Reaction", Acta Agric. Scand. 5: 280-294.
- JENSEN, H.L., 1965, "Non-symbiotic Nitrogen Fixation", dans "Soil Nitrogen", Bartholomew, W.V. et Clark, F.E., éd., Am. Soc. Agron., Inc., Madison, Wisconsin: 436-480.
- JENSEN, H.L. et SWABY, R.J., 1940, "Further Investigations on Nitrogen Fixing Bacteria in Soil", Proc. Linn. Soc. N.S.W. 65: 557-564.
- JENSEN, V., 1955, "The Azotobacter Flora of Some Danish Watercourses", Bot. Tidsskr. Copenhagen 52: 143-157.
- KAMEN, M.D. et GEST, H., 1949, "Evidence for a Nitrogenase System in the Photosynthetic Bacterium Rhodospirillum rubrum", Science, N.Y. 109: 560.

- KAMPHAKE, L.J., HANNAH, S.A. et COHEN, J.M., 1967, "Automated Analyses for Nitrate by Hydrazine Reduction", *Wat. Res.* 1: 206.
- KEENEY, D.R. et GARDNER, W.R., 1970, "The Dynamics of Nitrogen Transformations in the Soil", dans "Global Effects of Environmental Pollution, Singer, éd., Madison, Wisconsin: 96-103.
- LAJUDIE, J. et CHALVIGNAC, A., 1956, *Annls Inst. Pasteur, Paris* 90: 359. (Cité dans "Pochon et Tardieux, 1962")
- LARSEN, S. et GUNARY, D., 1962, "Ammonia Loss from Ammoniacal Fertilizers Applied to Calcareous Soils", *J. Sci. Fd Agric.* 13: 566-572.
- LAURENT, M., 1971, "La nitrification autotrophe et hétérotrophe dans les écosystèmes aquatiques", *Annls Inst. Pasteur, Paris* 121: 795-810.
- LEES, H., 1952, "The Biochemistry of the Nitrifying Organisms. 1. The Ammonia Oxidizing Systems of Nitrosomonas", *Biochem. J.* 52: 134-139.
- LEES, H., 1954, "The Biochemistry of the Nitrifying Bacteria", dans "Symposium on Autotrophic Microorganisms", Fry, B.A. et Peel, J.L.,  d., Cambridge University Press, Londres: 84-98.
- LEES, H., 1955, "Biochemistry of Autotrophic Bacteria"; Butterworth's Scientific Publications, Londres: 112 pages.
- LEES, H. et SIMPSON, J.R., 1957, "The Biochemistry of the Nitrifying Organisms. 5. Nitrite Oxidation by Nitrobacter", *Biochem. J.* 65: 297-305.
- LINDSTROM, E.S., LEWIS, S.M. et PINKSY, M.J., 1951, "Nitrogen Fixation and Hydrogenase in Bacterial Species", *J. Bact.* 61: 481-487.

- LOCKHEAD, A.G. et THEXTON, R.H., 1936, "A Four-year Quantitative Study of Nitrogen-fixing Bacteria in Soils of Different Fertilizer treatment", Can. J. Res. 14: 166-177.
- MAGUE, T.H. et BURRIS, R.H., 1973, "Biological Nitrogen Fixation in the Great Lakes", Bioscience 23 (4): 236-239.
- MANSELL, R.S., KIRKHAM, D. et NIELSEN, D.R., 1970, "Nitrate and Detergent Recovery in Aerated Soil Columns", Proc. Soil Sci. Soc. Am. 34: 883-889.
- MEEK, B.D., GRASS, L.B., WILLARDSON, L.S. et MACKENZIE, A.J., 1970, "Nitrate Transformations in a Column with a Controlled Water Table", Proc. Soil Sci. Soc. Am. 34: 235-239.
- MEIKLEJOHN, J., 1956, "Preliminary Numbers of Nitrogen Fixers on Broadbalk Field", VI Congr. Internl. Sci. Sol, Paris 3: 243-248.
- MEIKLEJOHN, J., 1964, "Some Effects of Environment on Soil Bacteria", IV Internl. Congr. Soil Sci., Bucharest, Roumanie III.14.
- MICHOUSTINE, E.N., HAKIM, A., BAZLIEVITCH, S.D. et LEGG, J.O., 1965, "Le processus de la dénitrification et les pertes de l'azote par le sol", Annls Inst. Pasteur, Paris 109: 235-247.
- MITSUI, S., OZAKI, K. et MORSYANIC, M., 1954, "On the Volatilization of Ammonia Transformed from Urea", J. Sci. Soil Manure, Tokyo 25: 17-19.
- MOORE, A.W., 1966, "Non-symbiotic Nitrogen Fixation in Soil and Soil-plant Systems", Soils Fertil., Harpenden 29: 113-128.

- MORTENSON, L.E., 1962, "Inorganic Nitrogen Assimilation and Ammonia Incorporation", dans "The Bacteria (3)", Gunsalus, I.C., et Stanier, R.Y., éd., Academic Press, New-York: 119-166.
- MORTENSON, L.E., 1966, "Components of Cell-free Extracts of Clostridium pasteurianum Required for ATP-dependent Hydrogen Evolution from Dithionite and for Nitrogen Fixation", Biochim. biophys. Acta. 127: 18-25.
- MURPHEY, J. et RILEY, J.P., 1962, "A Modified Single Solution Method for the Determination of Phosphate in Natural Waters", Analytica chim. Acta, 27: 31-36.
- NASON, A. et TAKAHASHI, H., 1958, "Inorganic Nitrogen Metabolism", A. Rev. Microbiol. 12: 203-246.
- NELSON, D.W. et BREMNER, J.M., 1970, "Role of Soil Minerals and Metallic Cations in Nitrite Decomposition and Chemodenitrification in Soils", Soil Biol. Biochem. 2: 1-8.
- NELSON, D.W. et BREMNER, J.M., 1970, "Gaseous Products of Nitrite Decomposition in Soils", Soil Biol. Biochem. 2: 203-215.
- NELSON, L.B. et HAUCK, R.D., 1965, "Nitrogen Fertilizers: Progress and Problems", Agric. Sci. Rev. U.S.D.A. 3: 38-47.
- NICHOLAS, D.J.D., 1963, "The Metabolism of Inorganic Nitrogen and its Compounds in Microorganisms", Biol. Rev. 38: 530-568.
- NICHOLAS, D.J.D., FISHER, D.J., REDMOND, W.J. et WRIGHT, M.A., 1960, "Some Aspects of Hydrogenase Activity and Nitrogen Fixation in Azotobacter spp. and in Clostridium pasteurianum", J. gen. Microbiol. 22: 191-205.

- NICKELL, L.G. et BURKHOLDER, P.R., 1947, "Inhibition of Azotobacter by Soil Actinomycetes", J. Am. Soc. Agron. 39: 774-779.
- PAINTER, H.A., 1970, "A Review of Literature on Inorganic Nitrogen Metabolism in Microorganisms", Wat. Res. 4: 393-450.
- PARKER, C.A. et SCUTT, P.B., 1960, "The Effect of Oxygen on Nitrogen Fixation by Azotobacter", Biochem. biophys. Acta 38: 230-238.
- PARR, J.R., SMITH, S. et WILLIS, G.H., 1970, "Soil Anaerobiosis: 1. Effect of Selected Environment and Energy Sources on Respiratory Activity of Soil Microorganisms", Soil Sci. 110 (1): 37-43.
- PICHINOTY, R., 1965, "L'inhibition par l'oxygène de la dénitrification bactérienne", Annls Inst. Pasteur, Paris 109: 248-255.
- POCHON, J. et DE BARJAC, H., 1958, "Traité de microbiologie des sols", Dunod, éd., Paris: 71-173.
- POCHON, J. et TARDIEUX, P., 1962, "Techniques d'analyse en microbiologie du sol", Editions de la Tourelle, St-Mandée: 111 pages.
- QUASTEL, J.H., 1965, "Soil Metabolism", A. Rev. Pl. Physiol. 16: 217-240.
- QUASTEL, J.H. et SCHOLEFIELD, P.G., 1949, "Influence of Organic Nitrogen Compounds on Nitrification in Soil", Nature, Lond., 164: 1068-1072.
- QUASTEL, J.H., SCHOLEFIELD, P.G. et STEVENSON, J.W., 1952, "Oxidation of Pyruvic Acid Oxime by Soil Organisms", Biochem. J. 51: 278-284.
- QUISPEL, A., 1947, "The Influence of the Oxidation-reduction Potentiel of the Medium upon the Growth of Azotobacter", Antonie van Leeuwenhock J. 13: 33-43.

- RAKESTRAW, J.A. et ROBERTS, E.R., 1957, "Studies in the Biological Fixation of Nitrogen, IX. Inhibition of Fixation of Nitrogen in Azotobacter vinelandii by Azide and by Cyanate", Biochim. biophys. Acta 24: 555-563.
- RICE, W.A., et PAUL, E.A., 1972, "The Organisms and Biological Processes Involved in Asymbiotic Nitrogen Fixation in Waterlogged Soils Amended with Straw", Can. J. Microbiol. 18: 715-723.
- SCHMIDT-LORENZ, W. et RIPPEL-BALDES, A., 1957, "Wirkung des sauerstoff auf wachstum und stickstoffbindung von Azotobacter chroococcum", Beijk. Anch. Mikrobiol. 28: 45-68.
- SCHOLLHORN, R. et BURRIS, R.H., 1967, "Acetylene as a Competitive Inhibitor of Nitrogen Fixation", Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A. 58: 213-216.
- SHENDE, S.T., BALASUNDARAM, J.R., BHURAT, M.C. et ABHISWAR, S., 1968, "Fixation of Atmospheric Nitrogen by Phyllosphere Bacteria", Indian J. agric. Sci. 38 (2): 298-301.
- SHIORI, M. et MITSUI, S., 1935, J. Sci. Soil Manure, Tokyo 9: 261-268.
(Cité par "Mitsui et al., 1954")
- SIRCAR, S.S.G., DE, S.C. et BHOWMICK, H.D., 1940, "Microbial Decomposition of Plant Materials", Indian J. agric. Sci. 10: 119-157.
- STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTE WATER, 2e éd. 1965.
Publié par American Public Health Association, New-York: 205 pages.
- STEVENSON, F.J., 1959, "Carbon-nitrogen Relationships in Soil", Soil Sci. 88 (4): 201-208.

- STEYN, P.L. et DELWICHE, C.C., 1970, "Nitrogen Fixation by Non-symbiotic Microorganisms in Some California Soils", *Env. Sci. & Tech.* 4 (12): 1122-1128.
- STOTZKY, G. et GOOS, R.D., 1965, "Effect of High CO₂ and Low O₂ Tensions on the Soil Microbiota", *Can. J. Microbiol.* 11: 853-868.
- STRANDBERG, G.W. et WILSON, P.W., 1967, "Molecular Hydrogen and the pN₂ Function of Azotobacter", *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.* 58: 1404-1409.
- TUSNEEM, M.E. et PATRICK, W.H. Jr., 1971, "Nitrogen Transformations in Waterlogged Soils", Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College, Department of Agronomy 657: 1-75.
- VAN SCHREVEN, D.A., 1965, "Quelques aspects microbiologiques du métabolisme de l'azote dans le sol", *Annls Inst. Pasteur, Paris* 109: 10-49.
- VAN SLYKE, D.D. et HILLER, A., 1933, "Determination of Ammonia in Blood", *J. biol. Chem.* 102: 499-504.
- VERSTRAETE, W. et ALEXANDER, M., 1973, "Heterotrophic Nitrification in Samples of Natural Ecosystems", *Env. Sci. & Tech.* 7 (1): 39-49.
- VISSER, S.A. et MIDDLETON, D., 1969, "Investigation into the Influence of the Moisture Content of the Environment on the Occurrence of Soil Microorganisms in the Tropics", *Rev. Ecol. Biol. Sol* 2: 99-113.
- WALKER, C.G. et NICHOLAS, D.J.D., 1961a, "Nitrite Reductase from Pseudomonas aeruginosa", *Biochim. biophys. Acta* 49: 350-360.

- WALKER, C.G. et NICHOLAS, D.J.D., 1961b, "Hydroxylamine Reductase from Pseudomonas aeruginosa", Biochim. biophys. Acta 49: 361-368.
- WARING, S.A. et BREMNER, J.M., 1964, "Ammonium Production in Soil under Waterlogged Conditions as an Index of Nitrogen Availability", Nature, Lond. 201: 951-952.
- WIJLER, J. et DELWICHE, C.G., 1954, "Investigations on the Denitrifying Process in Soil", Pl. soil 5: 155.
- WILLIAMS, W.A., MIKKELSEN, D.S., MUELLER, K.E. et RUCKMAN, J.E., 1968, "Nitrogen Immobilization by Rice Straw Incorporated in Lowland Rice production", Pl. Soil 28: 49-60.
- WILSON, P.W., 1958, "Asymbiotic Nitrogen Fixation", dans "Ruhland's Handbook O. Pflanzenphysiol", Springer, éd., Berlin 8: 9-47.
- WINOGRADSKY, S., 1926, "Etude sur la microbiologie du sol. II. Sur les microbes fixateurs de l'azote", Annls Inst. Pasteur, Paris 40: 455-520.
- WINOGRADSKY, S. et WINOGRADSKY H., 1933, "Etude sur la microbiologie du sol. Nouvelles recherches sur les organismes de la nitrification", Annls Inst. Pasteur, Paris 50: 350-432.
- WINOGRADSKY, S. et ZIEMECKA, J., 1928, "Etudes sur la microbiologie du sol. III. Sur le pouvoir fixateur des terres", Annls Inst. Pasteur, Paris 42: 36-62.
- WOLDENDORP, J.W., 1962, "The Quantitative Influence of the Rhizosphere on Denitrification", Pl. Soil 17: 267-270.

- YAMANE, I., et SATO, K., 1967, "Effect of Temperature on the Decomposition of Organic Substances in Flooded Soil", Soil Pl. Fd, Tokyo 13 (4): 94-100.
- YOSHIDA, T. et ALEXANDER, M., 1970, "Nitrous Oxyde Formation by Nitrosomonas europaea and Heterotrophic Microorganisms", Proc. Soil Sci. Soc. Am. 34: 880-882.
- ZIEMECKA, J., 1932, "The Azotobacter Test of Soil Fertility Applied to the Classical Fields at Rothamsted", J. agri. Sci., Camb. 22: 797-810.