

Évaluation des risques de sulfato-réduction en rizière au moyen d'un critère microbiologique mesurable *in situ*

Vincent A. JACQ et Pierre Armand ROGER
*Laboratoire de Microbiologie du Sol,
ORSTOM, B.P. 1386, Dakar, Sénégal.*

RÉSUMÉ

Le logarithme du rapport entre le nombre de bactéries sulfato-réductrices (B.S.R.) et de bactéries sulfo-oxydantes (B.S.O.) dans un sol de rizière constitue un critère d'appréciation des risques de toxicité par sulfato-réduction. La détermination de cette valeur présente l'avantage, par rapport au dosage des sulfures, de pouvoir être effectuée *in situ*. La valeur $\log B.S.R./B.S.O. = 2$ constitue un seuil au-delà duquel les phénomènes de mortalité du riz par sulfato-réduction commencent à se manifester.

MOTS-CLÉS : Sulfato-réduction — Mesures *in situ* — Bactéries sulfato-réductrices — Bactéries sulfo-oxydantes — Rizière — Sulfures.

INTRODUCTION

Le riz en sol inondé est sensible aux sulfures d'origine microbienne qui s'accumulent dans la sphère et la rizosphère. Le terme « Sulfato-réduction » est utilisé pour caractériser ce phénomène dont les symptômes, les mécanismes et les conséquences agronomiques, parfois très préjudiciables, ont été décrits par ailleurs (JACQ, 1975). La quantification logique de la sulfato-réduction consiste en un dosage des sulfures (JACQ, 1977); toutefois, cette technique qui nécessite le prélèvement et le traitement immédiat au laboratoire d'un grand nombre d'échantillons, ne peut être utilisée au champ.

Un test microbiologique d'évaluation des risques de sulfato-réduction est décrit. Il consistera en un double dénombrement, *in situ*, des bactéries sulfato-réductrices (B.S.R.) et sulfo-oxydantes (B.S.O.) suivant les techniques

ABSTRACT

In situ evaluation of sulphide toxicity in paddy fields using a microbiological test.

The logarithm of the ratio between the number of sulphur reducing bacteria (S.R.B.) and the number of sulphur oxidizing bacteria (S.O.B.) enumerated in the same sample, indicates the risk of toxicity by sulphide accumulated in paddy field.

*Death of rice plants occurs at values higher than $\log S.R.B./S.O.B. = 2$. The determination of $\log S.R.B./S.O.B.$ is easily realisable by *in situ* enumeration technics.*

KEY WORDS: Sulphate reducing process — *In situ* measurements — Sulphate reducing bacteria — Sulphate oxidizing bacteria — Paddy field — Sulphides.

de terrain mises au point par Mouraret et Baldensperger (1977, 1979). Ce test, établi sur des essais en microparcelles, a ensuite été vérifié au champ.

1. MÉTHODES ET TECHNIQUES

Les données expérimentales utilisées regroupent les résultats obtenus, au cours de deux cycles culturaux consécutifs, sur cinq dispositifs expérimentaux constitués chacun de 15 à 20 microparcelles de 1 m². Trois sols et deux variétés de riz ont été utilisés; les prélèvements, de 10 à 15 g de sol frais, ont été effectués avec une périodicité de 10 jours environ. Pour chaque traitement, 6 à 9 échantillons ont été prélevés simultanément; chaque échantillon a donné lieu aux mesures suivantes :

- mesure de l'humidité,
- dosage des sulfures totaux suivant la méthode de Chaudhry et Cornfield (1966),

— dénombrement des B.S.R. et B.S.O. suivant les méthode de Mouraret et Baldensperger (1977, 1979), à partir de la même suspension-dilution.

Parallèlement nous avons noté l'état des graines et plantes suivant des critères de dépérissement précédemment décrits (Jacq, 1977).

L'étude statistique des données a été effectuée sur calculatrice Hewlett Packard HP 97 en utilisant des programmes permettant :

1° La détermination indirecte des lois de répartition des données par l'étude de la liaison moyenne-variance et le choix de la transformation à appliquer à ces données pour les normaliser (Roger et coll., 1978);

2° Le calcul du coefficient de corrélation linéaire et des paramètres de la droite de régression (Programme « Curve-Fitting »; Hewlett Packard).

2. RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

2.1. LOI DE RÉPARTITION DES VARIABLES

La liaison moyenne-variance a été étudiée sur les densités de B.S.R., de B.S.O. et sur les sulfures totaux.

Rappelons que l'existence d'une corrélation entre moyenne et variance indique que la distribution de la variable ne suit pas une loi normale. La pente b de la droite de régression moyenne-variance (droite de Taylor, 1961) permet de déterminer une transformation qui normalise les données. Une pente voisine de 2 traduit une loi de répartition log-normale (Frontier, 1973).

Les résultats sont regroupés au tableau 1; ils montrent que les populations bactériennes sont distribuées suivant une loi log-normale alors que la répartition des sulfures

suit une loi intermédiaire entre une loi de Poisson ($b = 1$) et une loi log-normale. La valeur de la pente ($b = 1,686$) permet cependant, en première approximation, d'assimiler cette distribution à une distribution log-normale (Roger et coll., 1979).

D'autre part, le fait que cette valeur soit inférieure à celle trouvée pour les B.S.R. produisant ces sulfures, montre qu'il n'existe pas une proportionalité rigoureuse entre le nombre de B.S.R. et les sulfures produits. Ceci traduit l'existence de « facteurs d'homogénéisation » (Frontier, 1973), notamment les actions biologiques et physico-chimiques susceptibles de réoxyder une partie des sulfures produits (*Thiobacillus* sp, exsudation d'oxygène par les racines du riz, etc.).

La répartition des trois variables suivant des lois log-normales ou assimilables à des lois log-normales, indique enfin que les tests statistiques paramétriques, en particulier le calcul d'un intervalle de confiance, ne pourront être appliqués à ces données qu'après normalisation par la transformation logarithmique.

2.2. CORRÉLATION « SULFURES × FLORE DU CYCLE DU SOUFRE »

Les facteurs biotiques qui régissent la concentration instantanée des sulfures (S) dans la spermosphère et la rhizosphère du riz sont :

— la densité des microorganismes producteurs de sulfures,

— la densité des bactéries qui réoxydent ces sulfures produits (B.S.O.) essentiellement *Thiobacillus* sp. dont l'activité pourrait être favorisée par l'oxygène exsudé au niveau des racines du riz (Armstrong, 1969).

TABLEAU I

Etude de la liaison moyenne-variance. N = nombre de groupes étudiés; n = nombre de répétitions dans chaque groupe; r = coefficient de corrélation; b = pente de la droite de régression moyenne-variance.

| Variable | Unité | N | n | r | Niveau de signification | b |
|--|-------------------------------|----|-----|------|-------------------------|---------------|
| Bactéries Sulfato-réductrices (B.S.R.) | Nombre par gramme de sol sec. | 12 | 6 | 0,99 | ≥ 0,01 | 1,996 |
| <i>Thiobacillus denitrificans</i> (B.S.O.) | Nombre par gramme de sol sec | 16 | 6 | 0,99 | ≥ 0,01 | 1,901 |
| Sulfures | p.p.m. | 39 | 6-9 | 0,95 | ≥ 0,01 | 1,686 |
| $\log \frac{\text{B.S.R.}}{\text{B.S.O.}}$ (dénombrements dans le même échantillon) | | 30 | 6 | 0,17 | n.s. | Pas de droite |

TABLEAU II

Etude des corrélations entre les concentrations en sulfures et les populations microbiennes. N = nombre de groupes étudiés; r = coefficient de corrélation.

B.S.R. = nombre de bactéries sulfato-réductrices par gramme de sol; B.S.O. = nombre de bactéries sulfo-oxydantes (*Thiobacillus denitrificans*) par gramme de sol; S = p.p.m. de sulfures; n.s. = non significatif.

| Corrélations | Spermosphère | | | Rhizosphère jeune | | | Rhizosphère âgée | | |
|---|--------------|-------|------------------------|-------------------|-------|------------------------|------------------|-------|------------------------|
| | N | r | Seuil de signification | N | r | Seuil de signification | N | r | Seuil de signification |
| B.S.R. × S | 47 | 0,406 | > 0,01 | 84 | 0,087 | n.s. | 15 | 0,110 | n.s. |
| log B.S.R. × log S | 47 | 0,533 | > 0,01 | 84 | 0,552 | > 0,01 | 15 | 0,680 | > 0,01 |
| log B.S.R. × S | 47 | 0,582 | > 0,01 | 84 | 0,462 | > 0,01 | 15 | 0,740 | > 0,01 |
| $\log \frac{\text{B.S.R.}}{\text{B.S.O.}} \times S$ | 47 | 0,856 | > 0,01 | 84 | 0,657 | > 0,01 | 15 | 0,770 | > 0,01 |
| $\log \frac{\text{B.S.R.}}{\text{B.S.O.}} \times S$ (avec S < 1) | 18 | 0,220 | n.s. | 50 | 0,228 | n.s. | 15 | 0,330 | n.s. |
| $\log \frac{\text{B.S.R.}}{\text{B.S.O.}} \times S$ (avec S ≥ 1) | 29 | 0,781 | > 0,01 | 34 | 0,683 | > 0,01 | 15 | 0,820 | > 0,01 |

Cette exsudation, nulle lors de la germination de la graine, est en rapport avec l'âge de la plante. Nous avons donc cherché les corrélations existant entre les concentrations en sulfures et les populations bactériennes précédentes; l'influence de la plante a été prise en compte en considérant séparément les résultats concernant la spermosphère, la rhizosphère des jeunes plantes (âge < 45 j.) et celle des plantes plus âgées.

Dans les sols étudiés nous avons constaté que les populations de *T. thiooxydans* varient peu au cours du cycle cultural, contrairement à celles de *T. denitrificans* qui seules ont été retenues au cours de cette étude. Le 45^e jour constitue approximativement la limite d'une première phase de mortalité par sulfato-réduction dans les systèmes expérimentaux analysés (Jacq, 1977).

Les résultats (tabl. II) montrent que :

— la corrélation « BSR* × S** » n'est significative que dans le cas de la spermosphère;

— une corrélation significative, quel que soit l'âge de la plante est obtenue après transformation logarithmique du nombre de B.S.R. (corrélation « log B.S.R. × S » et « log B.S.R. × log S »). La transformation logarithmique de S n'augmente pas la corrél-

lation et ferait exprimer les résultats dans une unité d'emploi peu pratique; elle a donc été abandonnée;

— le niveau de signification est fortement augmenté par la prise en compte du nombre de B.S.O.* (corrélation « log B.S.R./B.S.O. × S »);

— aux faibles teneurs en sulfures (< 1 p.p.m.) la corrélation n'est pas significative. Ce fait n'est pas surprenant en raison de l'imprécision des résultats en-dessous d'un seuil où une réoxydation relative importante peut avoir lieu entre le prélèvement et la mesure.

L'ensemble des résultats indique donc que la corrélation la plus significative est obtenue entre le logarithme du rapport des populations bactériennes (log B.S.R./B.S.O.) exprimées en nombre de germes par gramme de sol et la concentration en sulfures exprimée en p.p.m.

2.3. ÉTUDE DE LA RÉGRESSION « log B.S.R./B.S.O. × S »

Les résultats (fig. 1) montrent qu'il existe une relation linéaire entre log B.S.R./B.S.O. et S aux différents stades végétatifs du riz. Toutefois la pente de la droite

* Exprimé en nombre de bactéries.g⁻¹ sol sec.

** Exprimé en p.p.m. du sol sec.

* Exprimé en nombre de bactéries.g⁻¹ sol sec.

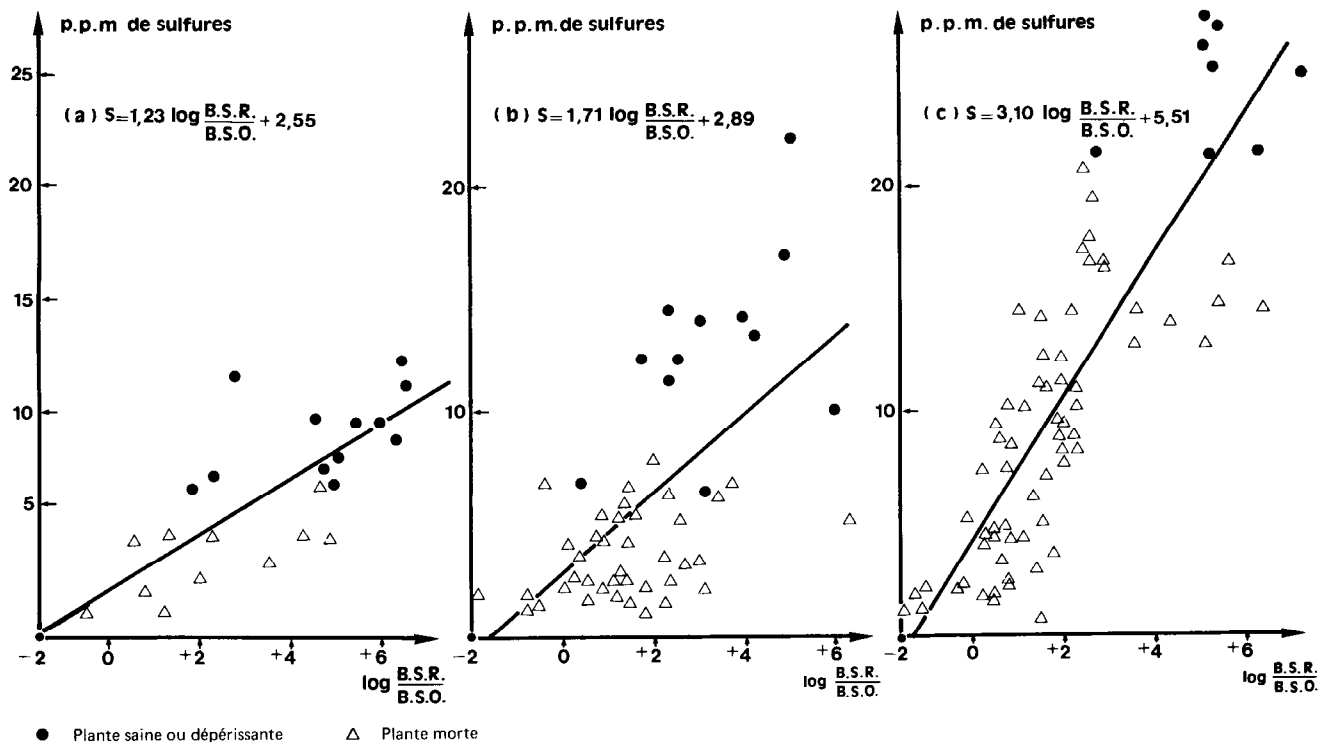


FIG. 1. — Etude de la corrélation « log B.S.R./B.S.O. × S ».

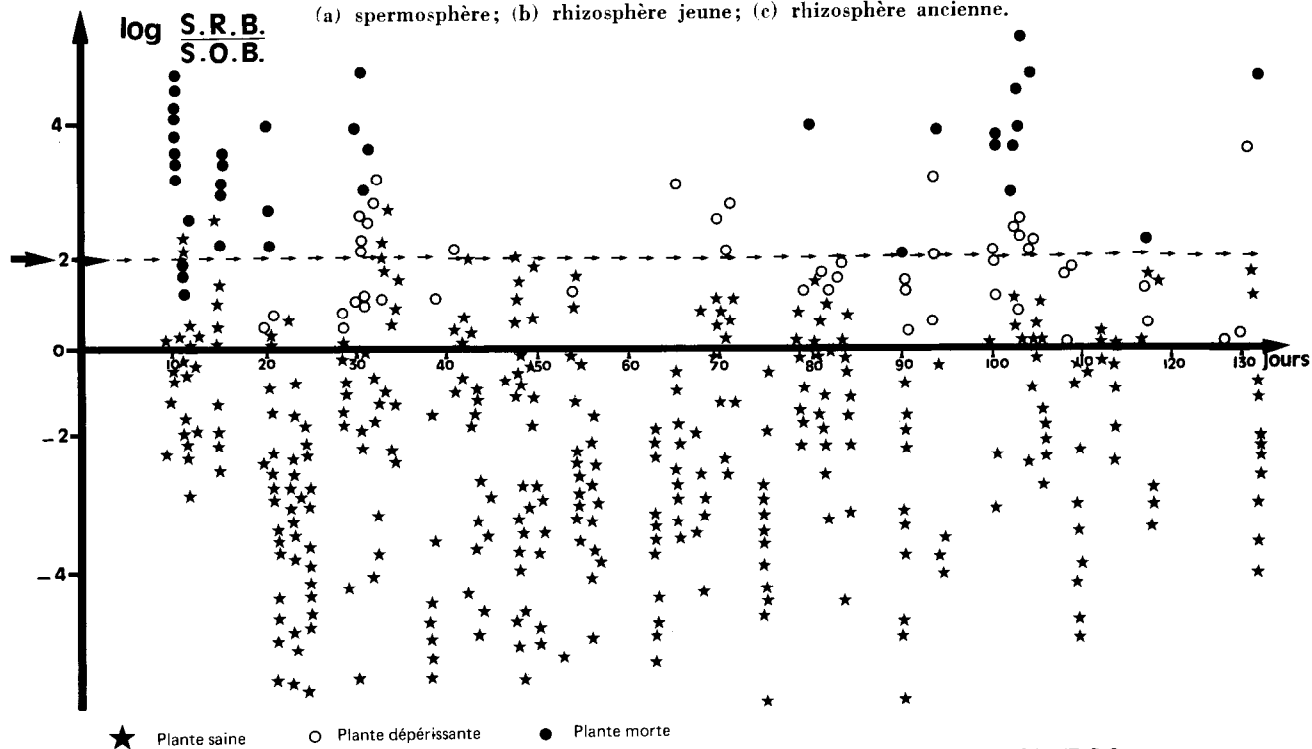


FIG. 2. — Etat des plants de riz en fonction de leur âge et de la valeur « log B.S.R./B.S.O. ». Spermophère (0-20 jours) et rhizosphère (20 jours et plus).

de régression varie avec l'âge de la plante, il est donc illusoire de chercher une relation linéaire de la forme $S = f [\log \text{B.S.R./B.S.O.}]$, valable pendant toute la durée du cycle cultural. Par contre une représentation graphique laissant intervenir la valeur de $\log \text{B.S.R./B.S.O.}$, l'âge de la plante, et sa réaction à la sulfato-réduction (fig. 2) montre clairement que la valeur $\log \text{B.S.R./B.S.O.} \approx 2$ constitue un seuil indépendant de l'âge de la plante en dessous duquel on ne constate

pas de mortalité. De même la valeur $\log \text{B.S.R./B.S.O.} = 0$ constitue un seuil en dessous duquel on n'observe pas de dépérissement de la plante lié à la sulfato-réduction.

2.4. VÉRIFICATION AU CHAMP

La méthode a été testée sur le terrain dans 18 rizières de Casamance. Les résultats (tabl. III) vérifient

TABLEAU III

Détermination *in situ* de la valeur $\log \text{B.S.R./B.S.O.}$ et observations agronomiques.

c.p. = casier rizicole paysan; c.e. = casier rizicole de station expérimentale; r.m. = rizière de mangrove, cultivée en billons.

| Localisation et type de rizière | Observations au champ | | | | $\log \frac{\text{B.S.R.}}{\text{B.S.O.}}$ | forme de sulfato-réduction |
|---------------------------------|------------------------|---------------------|-------------------------|------------------------------|--|--|
| | eau de submersion (cm) | âge ou stade du riz | SFe sur les racines | accidents culturaux | | |
| Sinedone ; c.p. | 20-25 | 4 semaines | très net | 70 % morts | 5,53 | rhizosphérique sur jeunes plants |
| Djibelor ; P 37 ; c.e.r.m. | 5-20 | 4 semaines | horizon. (5-10 cm) noir | 80 % morts | 4,48 | idem |
| Samine ; c.p. | 40 | grains laiteux | net | manquants et panicules vides | 2,93 | rhizosphérique en fin de cycle |
| Djibelor ; P Nord ; c.e. | 50-60 | 12 semaines | très net | 10-20 % morts | 2,47 | rhizosphérique |
| Fassan ; c.p. | 5-10 | 6 semaines | net | croissance irrégulière | 2,38 | rhizosphérique sur jeunes plants |
| Nyassia ; c.e. | 15-20 | 2-3 semaines | net | croissance irrégulière | 1,34 | idem |
| Brin ; r.m. | 10-20 | 7-8 semaines | rare | néant | 0,71 | néant |
| Djibelor ; E 13 ; c.e. | 25-30 | 12 semaines | rare | néant | 0,48 | néant |
| Goudomp ; c.p. | 10-15 | repiquage | rare | 30 % morts (au repiquage) | 0,17 | mortalité non due à la sulfato-réduction |
| Djibelor ; P 29 ; c.e. | 20-25 | 7 semaines | rare | néant | - 0,07 | néant |
| Nyambalang ; 2 ; r.m. | 40 | floraison | rare | néant | - 0,10 | néant |
| Nyambalang ; 1 ; c.p. | 10 | 2-3 semaines | néant | néant | - 0,40 | néant |
| Djibelor ; P 14 ; c.e. | 20 | 14 semaines | rare | néant | - 0,80 | néant |
| Tanaff ; 2 ; c.p. | 10-15 | 10-12 semaines | néant | néant | - 1,19 | néant |
| Tanaff ; 1 ; c.p. | 5 | 4 semaines | néant | néant | - 1,54 | néant |
| Kaour ; c.p. | humide | pépinière | néant | néant | - 3,40 | néant |
| Djibelor ; E 3 ; c.e. | 20 | 8 semaines | néant | néant | - 4,04 | néant |
| Djibelor ; E 8 ; c.e. | 15 | 7 semaines | néant | néant | - 5,15 | néant |

la validité du critère « log B.S.R./B.S.O. ». Aux valeurs supérieures à 2 de ce rapport correspondent des taux de mortalité qui augmentent avec la valeur du rapport. Entre 0 et 2 on observe un cas de croissance irrégulière lié à la sulfato-réduction. En dessous de 0 on n'observe pas de toxicité liée à la sulfato-réduction.

CONCLUSION

Le dosage des sulfures, en tant que mesure de l'intensité des processus de sulfato-réduction, est difficilement réalisable au champ. Par contre la numération, *in situ*, sur une même dilution de sol, de deux groupes bactériens du cycle du soufre (B.S.R. et B.S.O.) permet de calculer la valeur log B.S.R./B.S.O. qui fournit un excellent critère d'appréciation des risques de sulfato-réduction. Ce risque peut être apprécié quels que soient le sol, la variété ou l'âge du riz.

La valeur log B.S.R./B.S.O. donne également une image instantanée de l'état du cycle du soufre. Le cycle est en équilibre pour des valeurs proches de zéro, lorsque B.S.R. et B.S.O. sont en nombre équivalent. Le déséquilibre dans le sens de l'oxydation se traduit par des valeurs négatives et, dans le sens de la réduction, par des valeurs positives. La valeur log B.S.R./B.S.O. = 2 constitue un seuil au-delà duquel les phénomènes de mortalité du riz par sulfato-réduction commencent à se manifester.

Manuscrit reçu au Service des Publications de l'ORSTOM le 31 août 1978.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARMSTRONG (W.), 1969. — Rhizosphere oxidation in rice: an analysis of intervarietal differences in oxygen flux from the roots. *Physiol. Plant.*, 22 (2) : 296-303.
- CHAUDHRY (I.A.), CORNFIELD (A.H.), 1966. — Determination of sulphide in waterlogged soils. *Pl. Soil*, 25 : 474-479.
- FRONTIER (S.), 1973. — Etude statistique de la dispersion du zooplancton. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 12 : 229-262.
- JACQ (V.), 1975. — La sulfato-réduction en relation avec l'excrétion racinaire. *Soc. Bot. Fr. Coll. Rhizosphère* : 169-181.
- JACQ (V.), 1977. — Sensibilité du riz aux sulfures d'origine microbienne. *Cah. ORSTOM, sér. Biol.*, vol. XII, n° 2 : 97-99.
- MOURARET (M.), BALDENSPERGER (J.), 1977. — Use of membrane filters for the enumeration of autotrophic *Thiobacilli*. *Microb. Ecol.*, 3 : 345-357.
- MOURARET (M.), BALDENSPERGER (J.), 1979. — Use of membrane filters for the enumeration of sulfate reducing bacteria. *Microb. Ecol.*, in press.
- ROGER (P.A.), REYNAUD (P.A.), MONNIAUX (G.), 1978. — Normalisation des données et calcul de la précision des mesures en microbiologie du sol. *Cah. ORSTOM, sér. Biol.*, vol. XIII, n° 2, 171-180.
- ROGER (P.A.), GERMANI (G.), REYNAUD (P.A.), 1979. — Calcul de l'intervalle de confiance et comparaison de moyennes de dénombrement d'organismes telluriques. 1^{re} partie : application aux populations de nématodes phytoparasites. Sous presse.
- TAYLOR (D.P.), 1961. — Aggregation, variance, and the mean. *Nature (London)*, 189 : 732-735.