Nitrification dans un système expérimental modélisé

Ginette Simon-Sylvestre, Raoul Calvet

► To cite this version:

Ginette Simon-Sylvestre, Raoul Calvet. Nitrification dans un système expérimental modélisé. *Agronomie*, 1987, 7 (5), pp.303-312. hal-00884995

HAL Id: hal-00884995

<https://hal.science/hal-00884995>

Submitted on 1 Jan 1987

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Nitrification dans un système expérimental modélisé

Ginette SIMON-SYLVESTRE (*) & Raoul CALVET (**)

(*) I.N.R.A., Station de Science du Sol, Centre de Recherches de Versailles, F 78000 Versailles

(**) I.N.R.A., Laboratoire des Sols, I.N.A. Paris-Grignon, Centre de Recherches de Paris-Grignon, F 78850 Thiverval-Grignon

RÉSUMÉ

La mise au point d'une technique simple, pour l'étude de la nitrification dans un milieu poreux modèle, permet d'envisager de faire varier assez facilement les conditions d'expérimentation et d'approfondir ainsi nos connaissances sur ce processus biologique.

Les résultats antérieurs de plusieurs chercheurs, à savoir l'influence néfaste des ions ammonium sur la nitrification, sont retrouvés dans une première application de ce modèle.

Il apparaît également dans une autre expérimentation, réalisée en présence d'une phase solide adsorbante (argile), que seuls les cations NH_4^+ désorbés peuvent être oxydés, en quantité variable suivant la nature de l'argile, et que la toxicité d'une substance xénobiotique ajoutée est modifiée par suite de son adsorption, elle-même dépendante de l'argile présente. On a également pu montrer que des argiles (montmorillonite, illite) pouvaient modifier les caractéristiques cinétiques de la nitrification.

Mots clés additionnels : *Ammonium, nitrification, nitrification, montmorillonite, illite, substance xénobiotique, propamocarbe.*

SUMMARY

Nitrification in an experimental model system.

A simple method has been developed for studying nitrification in a model porous medium. It allowed experimental conditions to be varied rather easily and led to a better understanding of this biological process. Earlier results from several authors, especially the detrimental influence of ammonium ions on nitrification, were confirmed in the first application of the model. Another experiment carried out in the presence of a solid adsorbing phase (clay) showed that only desorbed NH_4^+ cations were oxidized, in varying quantities according to the nature of the clay, and that the toxicity of a xenobiotic substance added to the medium was modified owing to its adsorption, which in turn depended on the nature of the clay. An effect of added clay (montmorillonite, illite) on the dynamics of nitrification was also shown.

Additional key words : *Ammonium, nitrification, nitrification, montmorillonite, illite, xenobiotic substance, propamocarbe.*

I. INTRODUCTION

La nitrification a fait l'objet de nombreuses recherches le plus souvent réalisées au laboratoire sur des échantillons de terre. Ce sont notamment les travaux de SEIFERT (1964), CAMPBELL *et al.* (1974), DANCER & PETERSON (1974), MARSH & GREAVES (1979), NAKOS (1980)... pour n'en citer que quelques-uns. Ces recherches ont, en général, concerné l'ensemble des processus de minéralisation et de nitrification et ont permis une approche globale sans toujours conduire à des informations sur les phénomènes élémentaires composants et sur leurs différentes étapes.

Par ailleurs, des éléments de connaissance plus approfondis ont été obtenus avec des études sur le

comportement des bactéries nitrifiantes en cultures pures ou dans des milieux moins complexes que le sol (LAUDELOUT *et al.*, 1974 ; FAURIE, 1980 ; McLAREN, 1980...).

Entre ces deux situations se situent des travaux comme ceux de GOLBERG & GAINES (1955). Ils se rapportent à des milieux liquides aérés, ensemencés par des extraits aqueux de sol et éventuellement additionnés de minéraux argileux.

Ce bref rappel montre qu'il n'existe pas de voie expérimentale unique pour étudier les biotransformations dans les sols. Comme pour tous les processus pédologiques, la compréhension de celles-ci nécessite l'acquisition de connaissances sur la nature de facteurs qui les contrôlent et sur les modalités de leur

intervention. Il est donc utile d'étudier ces facteurs séparément tout en se plaçant dans des conditions qui présentent le plus d'analogies avec le sol en place. L'usage de modèles expérimentaux est une façon assez commode d'atteindre au moins partiellement cet objectif.

Une modélisation expérimentale simple est proposée dans cette publication. Elle est basée sur un milieu modèle qui possède deux caractéristiques fondamentales : c'est un milieu poreux et sa microflore provient d'inoculum constitué par des extraits aqueux de terre.

L'objet de cette publication est de décrire ce modèle et d'illustrer son utilisation par l'observation, sur la nitrification, des effets de deux facteurs : la concentration en ions NH_4^+ et la présence d'une phase adsorbante. L'intérêt de cette dernière étude réside dans le fait que l'adsorption peut intervenir dans une biotransformation de deux manières différentes : elle peut soustraire un substrat à l'action de la microflore ou diminuer l'effet toxique d'une substance xénobiotique ajoutée au milieu (pesticide, par exemple).

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

A. Réalisation du modèle expérimental

Le modèle expérimental est très simple ; il est constitué par un sable ensemencé et additionné d'une solution nutritive.

Le sable siliceux utilisé est un sable de Fontainebleau de granulométrie comprise entre 0,080 et 0,180 mm, préalablement lavé à l'acide chlorhydrique, rincé avec de l'eau désionisée et séché.

L'ensemencement biologique est effectué avec un extrait aqueux (*) de terre préparé à partir d'un limon argileux de la région de Dijon, connu pour l'activité importante de ses bactéries nitrifiantes (SIMON-SYLVESTRE & BEAUMONT, 1982a) et mis en incubation 10 jours auparavant en présence de sulfate d'ammonium. Les caractéristiques essentielles de ce limon ont été données dans cette même publication.

L'étude est réalisée dans des flacons de 250 ml, à large ouverture, fermés avec un film de polyéthylène perméable aux gaz (oxygène, gaz carbonique) et contenant chacun 100 g de sable ensemencés avec 5 ml d'extrait aqueux de terre.

Pour satisfaire les exigences physicochimiques et nutritionnelles des bactéries de la nitrification, il est nécessaire d'ajouter dans chaque flacon :

- 12,5 ml de solution nutritive de WINOGRADSKY (POCHON & TARDIEUX, 1962) ;
- 0,250 g de carbonate de calcium, source de carbone pour ces bactéries autotrophes ;
- une quantité d'eau de chaux diluée au cinquième suffisante pour amener le pH du milieu aux environs de 7,7-7,8 (POCHON & DE BARJAC, 1958).

(*) Préparation de l'extrait aqueux de terre ou inoculum :

- agitation pendant 30 mn d'une masse de terre humide équivalente à 10 g de terre séchée à l'air avec 100 ml d'eau déminéralisée ;
- décantation pendant 30 mn ;
- prélèvement du liquide surnageant supposé renfermer un échantillon représentatif de la microflore généralement présente dans le sol.

Selon l'expérience réalisée, les ions ammonium sont apportés en solution ou adsorbés sur une argile (montmorillonite, illite).

Le mélange sableux est ensuite humidifié jusqu'à une teneur finale en eau de 0,29 g d'eau par gramme de sable avant d'être mis à incuber à 25 °C. Cette teneur en eau et cette température correspondent aux conditions optimales de la nitrification pour la terre étudiée (SIMON-SYLVESTRE, 1975, résultats présentés à une réunion du Groupe de travail I.N.R.A. « Pesticides/Sols »).

B. Etude de l'influence de la concentration des ions NH_4^+ en solution

Les ions ammonium sont apportés par une solution de sulfate d'ammonium et les mélanges sableux reçoivent des quantités d'azote variant de 0 à 50 mg pour 100 g de sable sec.

Les flacons « témoin » contiennent le sable, seul ou enrichi avec de l'azote ammoniacal, et additionné de l'extrait aqueux stérilisé (1 h à 130 °C).

Après des durées variables d'incubation, l'azote minéral est extrait par agitation du mélange sableux par une solution de chlorure de calcium N, dans le rapport

$$\frac{\text{masse de sable}}{\text{volume de solution}} = \frac{100 \text{ g}}{500 \text{ ml}}$$

Après filtration, la solution d'extraction est ensuite analysée pour déterminer les quantités :

- d'azote ammoniacal (distillation en présence de magnésie) ;
- d'azote total (distillation en présence de magnésie après réduction des azotes nitreux et nitrique par l'alliage Dewarda) ;
- d'azote nitreux (colorimétrie, réactif de Lombard, 1913).

La quantité d'azote nitrique formée est calculée à partir des trois déterminations précédentes.

Toutes les extractions et les analyses sont réalisées en double exemplaire.

Les ordres de grandeur des coefficients de variation correspondant aux analyses effectuées sont de 1 p. 100 pour l'azote ammoniacal et l'azote minéral total et de 3 à 13 p. 100 pour l'azote nitreux (SIMON-SYLVESTRE, 1979).

C. Etude de l'influence d'une phase solide adsorbante

Deux argiles sont utilisées dans cette expérience :

- une montmorillonite du Wyoming dont la formule structurale est la suivante :

(GAULTIER, 1978) ;

- une illite du Puy-en-Velay dont la formule structurale établie à partir de l'échantillon sous sa forme calcique peut s'écrire :

(TESSIER, 1975).

Ces deux argiles ont été saturées en ions ammonium selon le mode opératoire suivant :

- saturation réalisée par quatre traitements avec une solution de chlorure d'ammonium 2 N ;
- élimination des sels en excès par lavages et centrifugations successifs puis par dialyse dans de l'eau désionisée.

Les quantités d'ammonium présentes sur les argiles, déterminées par la méthode Kjeldahl, sont :

- pour la montmorillonite 87,2 m.eq./100 g⁻¹,
- et pour l'illite 28,6 m.eq./100 g⁻¹,
- pour des capacités d'échanges cationiques respectives, déduites des formules structurales de : 94 et 30 m.eq./100 g⁻¹.

Les écarts observés peuvent être dus à une saturation incomplète par NH₄⁺, ou à une insuffisance de l'extraction par la méthode Kjeldahl.

Pour étudier l'influence du type d'argile sur la cinétique de nitrification à quantité d'ions ammonium donnée (aux environs de 15 mg d'ions ammonium pour 100 g de sable), des masses différentes d'argiles ont été utilisées, soit 3,35 g pour l'illite et 1,25 g pour la montmorillonite.

Les teneurs en eau des mélanges sable-argile sont alors respectivement de 0,324 g et de 0,345 g d'eau par gramme de mélange pour la montmorillonite et l'illite.

Le procédé expérimental employé dans ce cas diffère de celui utilisé pour les ions NH₄⁺ en solution, uniquement au niveau de l'extraction des mélanges — toujours en 2 exemplaires — effectuée avec de l'eau déminéralisée à la place d'une solution de chlorure de calcium pour éviter le déplacement de l'ammonium échangeable. La comparaison reste cependant possible avec les résultats obtenus pour le sable seul puisque ce dernier n'ayant pas de pouvoir de rétention, l'extraction de l'azote minéral avec de l'eau aurait conduit à la même valeur.

Dans le cadre de l'étude de l'adsorption d'une substance xénobiotique, nous avons ajouté dans le milieu modèle un fongicide, le propamocarbe*, dérivé de l'acide carbamique. Ce produit a été utilisé en solution, à une seule concentration correspondant à 10 fois la dose normale calculée pour une épaisseur de sol de 25 cm. Cette concentration peut toutefois être fréquemment rencontrée au champ dans la couche superficielle du sol.

III. RÉSULTATS ET DISCUSSION

A. Fonctionnement du modèle expérimental

1. Allure générale de la cinétique de nitrification

La figure 1 donne un exemple de la cinétique de nitrification dans le milieu modèle utilisé. Les variations concomitantes du pH de l'extrait aqueux sont indiquées dans le tableau 1. Ces résultats permettent de décrire 3 phases :

TABEAU 1

Variations du pH de l'extrait aqueux au cours de l'incubation.
Variation in the pH of the aqueous extract during incubation.

Durée d'incubation en jours	pH de l'extrait aqueux
0	7,77
6	7,82
10	7,76
15	7,31
20	7,12
27	6,83
35	6,73
45	6,78
62	6,91

Figure 1

Cinétique de la nitrification en milieu sableux (Sable de Fontainebleau, inoculum provenant de la terre de Dijon conservée 18 mois séchée à l'air et incubée 10 jours) :

- NO₃ + NO₂
- - - NO₂.

Dynamics of nitrification in a sandy medium (sand from the Fontainebleau area, inoculum from air-dried soil of the Dijon area stored for 18 months and incubated for 10 days) :

- NO₃ + NO₂
- - - NO₂.

a) dans une 1^{re} phase, la transformation de l'ammonium est très réduite. Cette phase de latence, d'une durée approximative de 15 jours, est probablement due à l'adaptation des bactéries à leur nouvel environnement ;

b) la 2^e phase (entre 14 et 29 jours) se caractérise par une nitrification rapide et une nitratisation très limitée et correspond, ici, à la transformation de 84 p. 100 des ions NH_4^+ apportés. Elle s'accompagne d'un abaissement notable du pH de l'extrait aqueux (tabl. 1) ;

c) la 3^e phase (au-delà de 29 jours), quant à elle, est surtout marquée par le développement de la nitratisation qui s'ajoute à la nitrification des ions NH_4^+ restants. La nitrification est terminée après 79 jours d'incubation.

L'accumulation temporaire de nitrites est intéressante à noter et rappelle des observations faites sur des sols calcaires par DROUINEAU *et al.* (1948) et plus récemment par FAURIE (1980).

Cette accumulation peut s'expliquer de deux façons :

— elle peut provenir d'un déséquilibre entre les populations de *Nitrobacter* et de *Nitrosomonas*, accentué par la présence d'ions ammonium, comme le suggère FAURIE (1980) à la suite d'études de nitrification réalisées par percolation de sol ;

— elle peut également être la conséquence de différences entre les constantes de vitesse des réactions enzymatiques, l'étape la plus lente — ici, la nitratisation — déterminant la vitesse du processus global au cours des 2 premières phases.

Il importe de souligner cette analogie de comportement entre le milieu modèle et les sols calcaires, laquelle ouvre des perspectives intéressantes d'utilisation du procédé expérimental décrit ci-dessus.

Il apparaît, en outre, que la modélisation expérimentale utilisée permet de séparer convenablement les 2 étapes de la nitrification.

2. Facteurs influençant le fonctionnement du modèle expérimental

Le fonctionnement du modèle expérimental, du moins tel qu'il apparaît au travers de la nitrification, dépend de plusieurs facteurs biologiques, physiques et chimiques. Ces derniers sont maîtrisés par le contrôle de la composition des solutions nutritives apportées. En revanche, les 2 premiers le sont plus difficilement et nécessitent des remarques complémentaires.

a) Facteurs biologiques

L'intérêt de la modélisation proposée provient du fait qu'elle ne repose pas sur une culture de souches pures ; elle met en jeu, au contraire, une microflore dont la composition est, certes, différente de celle qui existe naturellement dans le sol, tout en présentant avec elle un certain nombre d'analogies. Cela est dû à l'ensemencement qui est réalisé avec une partie des germes microbiens du sol, ceux-là mêmes qui se trouvent dans l'extrait aqueux ajouté. En conséquence, le fonctionnement microbiologique du modèle dépend de la nature, de la durée de conservation et de la durée d'incubation de la terre servant à préparer l'inoculum.

Les figures 2, 3 et 4 illustrent l'effet de ces différents facteurs sur la vitesse de nitrification. Cette influence dépend de la qualité de l'inoculum, elle-même en relation directe avec les propriétés de la terre utilisée pour le préparer. Les meilleurs résultats sont obtenus avec une terre :

— présentant une nitrification active : à ce sujet, le limon de Dijon est supérieur à la terre argilo-calcaire de Mandelieu qui ne permet l'obtention que de nitrites dans les conditions utilisées (SIMON-SYLVESTRE, 1982b),

— séchée à l'air et conservée au laboratoire le moins longtemps possible,

— et, pour un temps de conservation donné, incubée suffisamment longtemps pour que les bactéries de la nitrification puissent reprendre une activité normale, ce qui est en accord avec des résultats antérieurs (SIMON-SYLVESTRE & BEAUMONT, 1982a).

b) Facteurs physiques

Si le contrôle de la température ne pose pas de difficultés particulières, les contrôles de la pression partielle du gaz carbonique, de la pression partielle de l'oxygène et de la teneur en eau sont très difficiles à obtenir. En fait, le gaz carbonique n'est pas souvent mesuré et, l'oxygène et l'eau sont, en général, fixés simultanément. D'ailleurs, dans la plupart des études menées par incubation de terres ou de matériaux, on ne contrôle pas la teneur en eau volumique du milieu. Ce faisant, on suppose que l'eau est uniformément répartie et que la phase gazeuse, elle aussi uniforme, est en équilibre avec l'atmosphère. Cette façon de procéder n'est pas entièrement satisfaisante car elle ne permet pas de définir rigoureusement l'état physique de l'eau. Elle reste cependant très utilisée en raison de sa simplicité. Le point le plus important dans ces conditions est l'homogénéité de la répartition de l'eau dans le milieu. La figure 5 en donne une illustration. Dans un sable grossier, de 1 à 3 mm, les forces capillaires ne sont pas suffisantes pour maintenir l'eau dans les espaces inter-grains et celle-ci s'accumule dans le fond des flacons d'incubation où elle crée un milieu saturé en eau, très anaérobie, donc peu favorable à la nitrification.

B. Influence sur la nitrification de la concentration en NH_4^+

Ce facteur a déjà fait l'objet d'observations sur des terres mais l'évaluation précise de son influence n'est pas facile en raison des phénomènes d'échange de cations. L'intérêt du type de modèle proposé est, ici, d'éviter l'intervention de ceux-là pour étudier le seul rôle de la variation de la concentration en cations NH_4^+ .

La figure 6 représente les cinétiques de nitrification obtenues avec différentes concentrations C_i de NH_4^+ .

Leur allure dépend beaucoup de la concentration initiale (C_i) en cations NH_4^+ . Deux remarques peuvent être faites :

— La production d'azote minéral est d'autant plus retardée que la concentration C_i est élevée.

— La vitesse maximum de transformation atteinte à des temps différents a approximativement la même valeur quand $C_i > 100$ ppm.

Figure 2

Influence de la nature de la terre utilisée pour l'inoculum sur la cinétique de la nitrification en milieu sableux (Sable de Fontainebleau, terres conservées 29 mois séchées à l'air et incubées 10 jours) :

— Dijon (limono-argileuse)

— — — Mandelieu (argilo-calcaire).

Influence of soil type used for inoculum on nitrification dynamics in a sandy medium (sand from the Fontainebleau area, air-dried soils stored for 29 months and incubated for 10 days) :

— Dijon (loame clay)

— — — Mandelieu (clayey calcareous soil).

Figure 3

Influence de la durée de conservation de la terre utilisée pour l'inoculum sur la cinétique de la nitrification en milieu sableux (Sable de Fontainebleau, inoculum provenant de la terre de Dijon conservée séchée à l'air pendant des temps variables et incubée 10 jours).

Influence of time of storage of the soil used for inoculum on nitrification dynamics in a sandy medium (sand from the Fontainebleau area, inoculum from air-dried soil of the Dijon area stored for times variable and incubated for 10 days).

Figure 4

Influence de la durée d'incubation de la terre utilisée pour l'inoculum sur la cinétique de la nitrification en milieu sableux (Sable de Fontainebleau, inoculum provenant de la terre de Dijon conservée 18 mois séchée à l'air).

Influence of incubation time of the soil used for the inoculum on nitrification dynamics in a sandy medium (sand from the Fontainebleau area, inoculum from air-dried soil of the Dijon area stored for 18 months).

Figure 5

Influence de la granulométrie du sable utilisé sur la cinétique de la nitrification (Inoculum provenant de la terre de Dijon conservée 18 mois séchée à l'air et incubée 10 jours) :

- Sable de Fontainebleau compris entre 0,080 et 0,180 mm
 - - - Sable compris entre 0,5 et 1 mm
 - . - Sable compris entre 1 et 3 mm (sable grossier).

Influence of sand-grain size used on nitrification dynamics (inoculum from air-dried soil of the Dijon area stored for 18 months and incubated for 10 days) :

- Sand from the Fontainebleau area, between 0.080 and 0.180 mm
 - - - Sand between 0.5 and 1 mm
 - . - Sand between 1 and 3 mm (coarse sand).

Figure 6

Influence de la concentration en ions ammonium du milieu sur la cinétique de la nitrification en milieu sableux (Sable de Fontainebleau, inoculum provenant de la terre de Dijon conservée 28 mois séchée à l'air et incubée 10 jours) :

- 50 ppm $N NH_4^+$
 + - + - + 100 ppm $N NH_4^+$
 - - - 150 ppm $N NH_4^+$
 - . - 250 ppm $N NH_4^+$
 - . . - . 500 ppm $N NH_4^+$

Influence of ammonium concentration (in the medium) on nitrification dynamics in a sandy medium (sand from the Fontainebleau area, inoculum from air-dried soil of the Dijon area, stored for 28 months and incubated for 30 days) :

- 50 ppm $N NH_4^+$
 + - + - + 100 ppm $N NH_4^+$
 - - - 150 ppm $N NH_4^+$
 - . - 250 ppm $N NH_4^+$
 - . . - . 500 ppm $N NH_4^+$

Bien que l'analyse fine des cinétiques ne soit pas l'objet de cette publication, l'interprétation de ces résultats doit prendre en compte l'existence de 2 transformations successives avec des ions nitreux comme composés intermédiaires. La variation en fonction du temps de leur quantité dans le milieu est donc une information particulièrement utile. La figure 7 représente ce type de variations pour plusieurs valeurs de C_i . Il ressort des diagrammes que les ions nitreux s'accumulent d'autant plus et d'autant plus longtemps

que la concentration C_i est plus grande. Ces résultats indiquent donc que c'est la nitratisation qui est affectée par la présence d'ions ammonium et confirment des observations qui avaient été faites par d'autres auteurs (COURT *et al.*, 1962 ; BEZDICEK *et al.*, 1971 ; FAURIE, 1972 ; ASHWORTH & FLINT, 1974). Un argument supplémentaire allant dans le même sens est fourni par la figure 8 qui montre que dans un milieu donné, les nitrites seuls sont plus rapidement oxydés en nitrates que lorsqu'ils sont en présence d'ammonium.

Figure 7

Influence de la concentration en ions ammonium du milieu sur la variation de la quantité d'ions nitreux en milieu sableux (Sable de Fontainebleau, inoculum provenant de la terre de Dijon conservée 28 mois séchée à l'air et incubée 10 jours) :

— 50 ppm N NH_4^+
 - - - 250 ppm N NH_4^+
 - . - . - 500 ppm N NH_4^+

Influence of ammonium concentration (in the medium) on the variation of nitrous ion level in a sandy medium (sand from the Fontainebleau area, inoculum from air-dried soil of the Dijon area stored for 28 months and incubated for 10 days) :

— 50 ppm N NH_4^+
 - - - 250 ppm N NH_4^+
 - . - . - 500 ppm N NH_4^+

Figure 8

Evolution des nitrites en milieu sableux (Sable de Fontainebleau, inoculum provenant de la terre de Dijon conservée 28 mois séchée à l'air et incubée 10 jours) :

— nitrites formés à partir de sulfate d'ammonium
 - - - nitrites provenant de nitrite de potassium.

Formation of nitrite in a sandy medium (sand from the Fontainebleau area, inoculum from air-dried soil of the Dijon area stored 28 months and incubated for 10 days) :

— nitrites formed from ammonium sulphate
 - - - nitrites supplied through potassium nitrite.

C. Influence d'une phase solide adsorbante

Un autre intérêt du milieu modèle proposé est de donner la possibilité d'introduire d'autres constituants solides pour en étudier les effets de façon contrôlée. Compte tenu du rôle important des phénomènes d'adsorption dans les sols, il nous a semblé opportun d'illustrer l'utilisation du modèle expérimental pour mettre en évidence certains aspects de l'influence d'une phase adsorbante. Pour cela, et guidés par un souci de simplicité, nous avons choisi 2 argiles minéralogiquement pures, 1 montmorillonite et 1 illite.

1. Influence de l'adsorption d'un substrat

La figure 9 représente les cinétiques de nitrification en l'absence et en présence d'argile. Il apparaît que la phase solide adsorbante a 3 effets visibles sur les diagrammes :

— le 1^{er} concerne la biodisponibilité des ions NH_4^+ . Une fraction de ces ions, de l'ordre de 70-75 p. 100 subit une nitrification dont la vitesse est voisine de celle qui peut être observée dans le sable seul (les 21 premiers jours). Elle correspond aux cations NH_4^+ qui se sont échangés au moment de la préparation du

Figure 9

Influence de la présence d'argile sur la cinétique de la nitrification en milieu sableux (Sable de Fontainebleau, inoculum provenant de la terre de Dijon conservée 28 mois séchée à l'air et incubée 10 jours) :

— — — sable + 15 mg N NH_4^+
 ——— sable + montmorillonite NH_4^+
 - - - - - sable + illite NH_4^+ .

Influence of the addition of clay on nitrification dynamics in a sandy medium (sand from the Fontainebleau area, inoculum from air-dried soil of the Dijon area stored 28 months and incubated for 10 days) :

— — — sand + 15 mg N NH_4^+
 ——— sand + montmorillonite NH_4^+
 - - - - - sand + illite NH_4^+ .

milieu par suite de l'addition de la solution nutritive. Ces ions se sont trouvés, par conséquent, immédiatement disponibles et absorbables par les bactéries. Une autre fraction, correspondant à 25-30 p. 100 des ions NH_4^+ , semble, en revanche, nitrifier très lentement. Etant donné que l'ammonium apporté dans le milieu est uniquement sous la forme de cations compensateurs des argiles, cette fraction concerne des ions adsorbés dont l'échange est très lent dans les conditions utilisées. Cela peut être dû à des forces de rétention plus fortes et le fait que l'effet observé soit plus marqué avec l'illite va dans ce sens (rôle des substitutions isomorphiques localisées dans la couche tétraédrique). On peut aussi penser que la composition ionique du milieu ne permet pas un échange rapide ;

— le 2^e effet relevé avec la montmorillonite se rapporte à la diminution de la période de latence et ne paraît pas pouvoir être expliqué facilement. Il est toutefois intéressant de signaler que des modifications d'activité microbienne ont été attribuées à des interactions entre des corps bactériens et des particules d'argile (STOTZKY, 1966 ; STOTZKY & REM, 1966 ; FILIP, 1973 ; HATTORI, 1973) ;

— le 3^e effet observable sur la figure 10 se manifeste par une vitesse de nitratisation plus élevée en présence d'argile. Alors que les nitrites sont dosables dans le milieu pendant plus de 60 jours avec le sable pur, ils ne le sont plus que pendant 30 jours. Par ailleurs, cet effet, lui aussi affecté par la nature de l'argile, ne peut être que constaté mais pas encore facilement expliqué.

2. Influence de l'adsorption d'une substance xénobiotique

Le propamocarbe, utilisé dans le cadre de cette étude, présente un double intérêt : il a une action dépressive marquée sur la vitesse de nitrification (SIMON-SYLVESTRE & BEAUMONT, 1982a), et il est fortement adsorbé sur les argiles par échange de cations (CALVET, 1982).

% Azote ammoniacal (en solution ou adsorbé) présents sous forme de NO_2

Figure 10

Influence de la présence d'argile sur la variation de la quantité d'ions nitreux en milieu sableux (Sable de Fontainebleau, inoculum provenant de la terre de Dijon conservée 28 mois séchée à l'air et incubée 10 jours) :

— — — sable + 15 mg N NH_4^+
 ——— sable + montmorillonite NH_4^+
 - - - - - sable + illite NH_4^+ .

Influence of the addition of clay on variation in nitrous ion level in a sandy medium (sand from the Fontainebleau area, inoculum from air-dried soil of the Dijon area stored 28 months and incubated for 10 days) :

— — — sand + 15 mg N NH_4^+
 ——— sand + montmorillonite NH_4^+
 - - - - - sand + illite NH_4^+ .

La figure 11 illustre l'influence de l'adsorption, laquelle en soustrayant au milieu une partie du fongicide, diminue son action toxique vis-à-vis des bactéries de la nitrification. Cette diminution est plus importante avec la montmorillonite, ce qui s'explique par la plus grande capacité d'adsorption de cette argile à l'égard de la molécule de propamocarbe. Celle-là a un effet toxique plus grand dans le milieu contenant l'illite.

Figure 11

Influence du propamocarbe sur la cinétique de la nitrification en milieu sableux, en présence d'argile (Sable de Fontainebleau, inoculum provenant de la terre de Dijon conservée 28 mois séchée à l'air et incubée 10 jours) :

— sable + montmorillonite NH_4^+
 - - - sable + montmorillonite NH_4^+ + propamocarbe
 - - - sable + illite NH_4^+
 - - - sable + illite NH_4^+ + propamocarbe.

Influence of propamocarb on nitrification dynamics, in a sandy medium, in the presence of a clay (sand from the Fontainebleau area, inoculum from air-dried soil of the Dijon are stored 28 months and incubated for 10 days) :

— sand + montmorillonite NH_4^+
 - - - sand + montmorillonite NH_4^+ + propamocarb
 - - - sand + illite NH_4^+
 - - - sand + illite NH_4^+ + propamocarb.

IV. CONCLUSION

Ce mémoire avait pour objectif de présenter un modèle expérimental destiné à l'étude des biotransformations dans un milieu poreux. La préparation de celui-là et sa manipulation sont simples ; il est aisé d'en fixer la constitution et de vérifier son fonctionnement. Une réserve doit toutefois être faite au sujet de l'état hydrique du milieu dont le contrôle nécessite encore des progrès pour avoir une définition rigoureuse, sur le plan énergétique, des conditions dans lesquelles la microflore est placée.

Ce modèle permet d'étudier l'influence de différents facteurs : une illustration en est donnée à propos de la concentration en ions ammonium de la solution et de la présence d'une phase adsorbante.

Pour le premier de ces deux facteurs, les observations antérieures de plusieurs chercheurs ont ainsi été confirmées de façon très claire.

Pour le second facteur, en revanche, 2 effets particuliers ont été observés, et cela de manière non ambi-

guë. Dans un milieu de composition ionique donnée, seuls les cations NH_4^+ désorbés peuvent être transformés et les quantités concernées dépendent de la nature minéralogique des argiles. Par ailleurs, on a très nettement vu le rôle de l'adsorption dans la manifestation de l'effet toxique d'une substance xénobiotique.

Ces 2 exemples permettent de mettre en évidence un des multiples aspects de la biodisponibilité en montrant notamment que l'absorption d'une substance ne peut avoir lieu que si elle est en solution dans l'eau. Toutefois, des effets se rapportant au temps de latence et à la vitesse de nitrification demeurent encore inexpliqués.

Outre son intérêt pour étudier séparément l'influence de différents facteurs, la modélisation proposée permet d'entrevoir la possibilité d'utiliser des gammes de milieux modèles pour repérer et mieux identifier le fonctionnement de sols différents.

Reçu le 24 janvier 1984.
 Accepté le 17 février 1987.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ashworth J., Flint R. C., 1974. Delayed nitrification and controlled recovery of aqueous ammonia injected under grass. *J. Agric. Sci. Camb.*, **83**, 327-333.

Bezdicsek D. F., Mac Gregor J. M., Martin W. P., 1971. The influence of soil fertilizer geometry on nitrification and nitrite accumulation. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **35**, 997-1002.

Calvet R., 1982. Détermination des quantités de pesticides adsorbés par des terres en suspension dans l'eau. Comptes rendus Travaux, A.T.P. Pesticides-Sols I.N.R.A. 25 p.

Campbell C. A., Stewart D. W., Nicholaichuk W., Biederbeck V. O., 1974. Effects of growing season, soil temperature, moisture and $\text{NH}_4\text{-N}$ on soil nitrogen. *Can. J. Soil Sci.*, **54**, 4, 403-412.

Court M. N., Stephen R. C., Waid J. S., 1962. Nitrite toxicity arising from the use of urea as a fertilizer. *Nature*, London, **194**, 1263-1265.

Dancer W. S., Peterson L. A., 1974. Nitrification rates of soil samples from different depths of a silt loam profile. *Com. in Soil Science and Plant analysis*, **5**, 4, 318.

Drouineau G., Gouny P., Lefevre G., 1948. Sur la nitrification dans les sols calcaires. *C. R. Acad. Sci.*, **1**, 226, 957-958.

Faurie Geneviève, 1972. Effet de l'apport d'argile à un sol sablo-calcaire sur la cinétique de la nitrification. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, **9**, 439-449.

Faurie Geneviève, 1980. Devenir de l'ammonium en sol calcaire. Nitrification et volatilisation de l'ammoniac. Thèse Doctorat d'Etat, Université Claude Bernard, Lyon I, 256 p.

Filip Z., 1973. Clay minerals as a factor influencing the biochemical activity of soil microorganisms. *Folia Microbiol.*, **18**, 56-74.

- Gaultier J. P.**, 1978. *Etude d'un mécanisme de fixation du potassium dans les sols : la réorganisation structurale de la montmorillonite. Application à la montmorillonite bionique K-Ca*. Thèse Ingénieur du Conservatoire National des Arts et Métiers (Paris), 90 p.
- Goldberg S. S., Gainey P. L.**, 1955. Role of surface phenomena in nitrification. *Soil Sci.*, **80**, 43-53.
- Hattori T.**, 1973. *Microbial life in the soil. An introduction*, p. 248-249, ed. Marcel Dekker. Inc. New York, 427 p.
- Laudelout H., Lambert R., Fripiat J. L., Pham M. L.**, 1974. Effet de la température sur la vitesse d'oxydation de l'ammonium en nitrate par des cultures mixtes nitrifiantes. *An. Microbiol. Inst. Pasteur*, **125 B**, 75-84.
- Lombard M.**, 1913. Une méthode pratique de dosage des nitrites dans les eaux potables. *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **13**, 304-309.
- Mc Laren A. D.**, 1980. Nitrification reactions in a column of soil with a flowing nutrient solution. *Folia microbiol.*, **25**, 86-89.
- Marsh J. A. P., Greaves M. P.**, 1979. The influence of temperature and moisture on the effects of the herbicide dalapon on nitrogen transformations in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **11**, 279-285.
- Nakos G.**, 1980. Effects of herbicides used in forestry on soil nitrification. *Soil Biol. Biochem.*, **12**, 517-519.
- Pochon J., Barjac Hélène de**, 1958. *Traité de Microbiologie des Sols*, 685 p., Ed. Dunod, Paris.
- Pochon J., Tardieux P.**, 1962. *Techniques d'analyses en Microbiologie des sols*, 105 p., Editions de la Tourelle, St-Mandé.
- Seifert J.**, 1964. Influence of the size of soil structural aggregates on the degree of nitrification. *Folia microbiol.*, **9**, 115-119.
- Simon-Sylvestre Ginette**, 1979. Effets de quelques pesticides sur la minéralisation de l'azote organique du sol, la nitrification et la cellulolyse. *Ann. agron.*, **30**, 3, 265-279.
- Simon-Sylvestre Ginette, Beaumont Andrée**, 1982a. La conservation des échantillons de sols. Les incidences sur un processus biologique, la nitrification en présence ou non d'un pesticide. *Agronomie*, **2**, 6, 525-532.
- Simon-Sylvestre Ginette, Beaumont Andrée**, 1982b. *Effet des pesticides sur la nitrification*. Comptes rendus Travaux, A.T.P. Pesticides-Sols I.N.R.A. 23 p.
- Stotzky G.**, 1966. Influence of clay minerals on microorganisms. II. Effect of various clay species, homoionic clays, and other particles on bacteria. *Can. J. Microb.*, **12**, 831-848.
- Stotzky G., Rem L.**, 1966. Influence of clay minerals on microorganisms. I. Montmorillonite and kaolinite on bacteria. *Can. J. Microb.*, **12**, 547-563.
- Tessier D.**, 1975. *Recherches expérimentales sur l'organisation des particules dans les argiles*. Thèse Ingénieur du Conservatoire National des Arts et Métiers (Paris), 226 p.