

Nature des matières organiques associées aux fractions argileuses d'un sol ferrallitique

Christian FELLER, Claire FRANCOIS, Geneviève VILLEMEN, Jean-Marie PORTAL,
François TOUTAIN et Jean-Louis MOREL

Résumé – Afin d'étudier la nature et l'origine possible (végétale, microbienne) des matières organiques (MO) associées aux fractions argileuses d'un sol ferrallitique (horizon Ap) cultivé en canne à sucre depuis plus de 20 ans, on compare les caractéristiques ultrastructurales (MET) et chimiques (teneurs en C, N et sucre) de ces fractions à celles des apports végétaux au sol (feuilles, racines et exsudats de canne à sucre) et des MO associées aux fractions sableuses et limoneuses. Les résultats opposent les MO associées aux sables et limons grossiers et héritées des débris végétaux aux MO associées aux argiles dont le caractère amorphe très marqué est discuté en relation avec une origine bactérienne ou végétale (exsudats).

Nature of organic matter associated with clayey fractions of a ferrallitic soil

Abstract – The study concerned the Ap horizon (0-20 cm) of a ferrallitic soil cultivated with sugarcane for over 20 years. To determine the nature and the possible origin of organic matter (OM) associated with soil clayey fractions, we compare their ultrastructure (TEM) and chemical composition (C, N and sugar contents) with those of plant materials added to the soil by culture (leaves, roots and root exudates) and to other particle-size fractions. It appears that: (i) OM associated with sand and coarse silt fractions are with inherited from plant debris whereas (ii) OM associated with clay is essentially in an amorphous form. The origin of this fraction (bacterial material and/or root exudates) is discussed.

Abridged English Version – Organic matter (OM) plays an important role in soil properties, especially for ferrallitic soils. Therefore a good knowledge of their different organic pools is necessary. In the past 20 years, numerous studies have demonstrated the relevance of size and density fractionation techniques in separation of functionally different soil organic compartments. From these previous results it appears that OM associated with sand and coarse silt (20-2,000 μm fractions) consists of more or less humified plant debris (C/N > 15). Whereas OM associated with clay is a more amorphous fraction with lower C/N ratio (≤ 10), and represents about 50% of the total soil OM. The objectives of this study were to determine the nature and possibly the origin (vegetal or microbial) of the OM associated with clays in the Ap horizon of a ferrallitic soil cultivated with sugarcane for over 20 years.

Transmission electron microscopy (TEM) and chemical analysis (C, N, sugars) were used to compare the characteristics of the organo-clay fractions with those of the other size-fractions and the plant materials (leaves, roots and root exudates) added by the culture. The results showed that:

- roots and leaves have very high C/N (>80) and xylose/mannose XYL/MAN (>20) ratios, whereas these values are lower (about 22 and 2.6) for the root exudates (Table);
- OM associated with sand and coarse silt fractions (20-2,000 μm) presenting a large C/N ratio (19.0), is essentially inherited from plant debris but has lower XYL/MAN ratio than roots and leaves (Table);
- OM associated with clays includes little plant or plant-cell debris and has (Table) low C/N and XYL/MAN ratios (9.1 and 0.4 respectively). Three main forms of OM were

Note présentée par Georges PÉDRO.

observed: (i) structured OM from microbial origin (*Photo 1*), (ii) structured OM from indeterminate origin (*Photo 2*) and (iii) amorphous OM (*Photo 3*) which was impregnating the clay matrix.

TEM observations of the clay fraction following its treatment with boiling water (*Photos 4, 5, 6*) indicate that hot water has solubilized: (i) the amorphous OM fractions (compare *Photos 3* and *6*), (ii) the microbial mucigel causing the disappearance of extracellular polysaccharide PSe (compare *Photos 1* and *4*). The hot water-solubilized fraction (EC 0-2) (*Photo 7*) represents 15% of the clay fraction OM. It contains polysaccharide groups, has (Table) a low C/N ratio (8.2) and a very low XYL/MAN ratio (0.03). Based on its morphological aspect and its chemical characteristics the EC 0-2 fraction could be considered essentially from microbial origin, those derived from the plant materials being very different. Nonetheless, direct participation of root exudates could not be excluded.

I. INTRODUCTION. — La matière organique (MO) joue un rôle majeur dans les propriétés des sols ferrallitiques [1]. Aussi, une bonne connaissance des différents compartiments organiques du sol est-elle indispensable. La MO des sols est constituée de débris figurés d'origine identifiable (végétale, animale ou microbienne) de tailles souvent supérieures à 5 μm , de débris non reconnaissables (tailles variables) et de MO non figurées localisées dans des micropores ou associées aux argiles [2]. De simples fractionnements granulométriques des sols dans l'eau ([3] à [6]) permettent déjà de séparer les débris figurés (fraction 20-2 000 μm) des MO associées aux limons fins (2-20 μm) et aux argiles (0-2 μm). Cette dernière fraction représente généralement plus de 50 % de la MO totale du sol [6]. Si les données de la littérature concernant ses caractéristiques chimiques sont relativement nombreuses, très peu de travaux, par contre, concernent l'identification morphologique des différentes formes de MO qui la constituent.

Aussi l'objectif de cette publication est de préciser, par des observations microscopiques (MET) et des déterminations chimiques (C, N, sucres), la nature et éventuellement l'origine (végétale, microbienne) des MO associées aux argiles d'un sol ferrallitique cultivé en canne à sucre depuis plus de 20 ans. On compare les caractéristiques de la fraction (0-2 μm) à celles des restitutions végétales au sol (feuilles, racines, exsudats racinaires) et à celles des autres fractions organiques du sol.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES. — *Les végétaux.* — Des feuilles et racines de canne à sucre à maturité (Var. B 5992) sont prélevées au champ, lavées à H_2O , séchées à 50° et broyées. Les exsudats racinaires de la même variété sont obtenus en laboratoire : des segments de tige (5 cm) encadrant un bourgeon sont plongés verticalement dans H_2O et laissés à incuber à 22°C pendant 8 jours, jusqu'à l'émergence des racines. Les exsudats formant des gouttelettes à l'extrémité des radicelles sont prélevés par succion sous vide selon une technique identique à celle utilisée pour le maïs [7]. La stérilité du milieu n'a pas été contrôlée au cours de la préparation. Deux lots d'exsudats (1 et 2) ont été recueillis à partir de deux lots de tiges coupées à des dates et sur des parcelles différentes.

Le sol. — L'échantillon étudié (0-2 mm) provient de l'horizon Ap d'un sol ferrallitique argileux faiblement désaturé, cultivé en canne à sucre depuis plus de 20 ans [8] [pH-eau = 5,7; 0-20 μm % = 64; MO % = 4,8; C/N = 10,8; S/T (pH 7) = 48 %].

Le fractionnement granulométrique de la MO est effectué selon une méthode mettant en œuvre une dispersion préalable du sol par une résine sodique en milieu aqueux [6].

Une fraction 20-2000 μm est d'abord séparée par tamisage à 20 μm et les fractions limoneuses fines (2-20 μm) et argileuses (0-2 μm) sont extraites par sédimentation. Dans ces conditions relativement peu agressives, la dispersion du sol est excellente jusqu'à 20 μm et satisfaisante jusqu'à 2 μm (84 % de la quantité d'argile obtenue après destruction de la MO par H_2O_2). L'altération des débris végétaux et leur transfert dans les fractions inférieures à 20 μm est limitée (pas d'utilisation d'ultrasons ou de billes, tamisages à 20 μm). Le pH de la suspension se situe autour de la neutralité, ce qui limite la solubilisation de la MO pendant le fractionnement ($\leq 4\%$ de la MO totale).

Une extraction de la fraction 0-2 μm (séchée à 50°) est faite par l'eau (4 g éch./200 ml H_2O) à ébullition sous reflux pendant 16 h. Après floculation des argiles (par SrCl_2) et centrifugation, le surnageant est lyophilisé. Le lyophilisat est nommé EC0-2 (extrait « Eau chaude de la fraction 0-2 μm »).

Caractérisations chimiques des MO. Les teneurs en C et N des fractions solides et solubles sont déterminées respectivement à l'aide des analyseurs élémentaires Carlo Erba « CHN 1106 » et « TCM Carlo 400 ». La concentration en sucres neutres totaux est déterminée selon Dubois et coll. [9] et l'identification des hexoses et pentoses est faite par chromatographie en phase gazeuse [10] après hydrolyse H_2SO_4 0,5 M à reflux pendant 6 h.

Observations en microscopie électronique à transmission (MET). — Les différentes fractions de MO ont été fixées selon [11]. Les MO à caractère polyosidique sont révélées par la technique de Thiery [12]. Le microscope utilisé est un JEOL 100C. Des comptages statistiques des différentes formes de MO sont effectués sur la fraction argileuse. Les grilles d'observation sont divisées en mailles de 20 μm et 10 mailles sont observées à raison de 12 lectures par maille (agrandissement 16 500) selon une direction imposée. 120 champs sont donc observés par traitement (avant et après extraction à l'eau chaude).

III. RÉSULTATS. — 1. *Observation au MET de la fraction argileuse.* — (a) *Avant traitement à l'eau chaude.* — On identifie (pl.) :

- des bactéries isolées (b) ou en colonies (cb) (*photo 1*) avec leurs polyosides intracellulaires (PSi) et extracellulaires (PSe);
- des débris figurés non reconnaissables (MO_f) (*photo 2*);
- des matières organiques non figurées (MO_{nf}) imprégnant la matrice argileuse (*photo 3*) et à caractère « amorphe » et polyosidique bien marqués. Cette dernière forme de MO, appelée par simplification « MO amorphe », est déjà visible dans les coupes d'agrégats naturels du sol avant fractionnement.

Enfin, il faut souligner que certaines MO non figurées, intimement liées aux argiles, et non révélées par la réaction de Thiery, peuvent ne pas être visibles en MET, même si elles sont présentes en quantité notable.

Ainsi, par rapport aux autres fractions granulométriques (sables et limons) où la MO se présente essentiellement sous forme de débris végétaux et fongiques [8], la MO associée aux argiles apparaît très différente, avec un caractère végétal figuré peu marqué et la présence de MO amorphe.

(b) *Après traitement à l'eau chaude.* — De nouvelles observations en MET ont été faites sur le culot après extraction (*photos 4, 5 et 6*) ainsi que sur l'extrait lyophilisé (*photo 7*, fraction EC0-2). La comparaison des *photos 3 et 6* indique qu'une grande partie de la « MO amorphe » est soluble dans H_2O à ébullition, alors que les colonies bactériennes (*photo 4*) ou les débris végétaux figurés (MO_f) (*photo 5*) sont encore très

TABLEAU

Caractéristiques chimiques des différents échantillons (plante, sol, fractions granulométriques) étudiés.
Chemical determinations of the different samples (plant, soil, and size-fractions) studied.

Échantillon	Carbone		C/N	Sucres (*)									XYL/ MAN
	mg/g éch.	% C total éch.		RHA	FUC	RIB	ARA	XYL	MAN	GAL	GLC	Somme	
				g/100 g somme des sucres dosés									
<i>Canne à sucre</i>													
Feuille	450,8	100,0	81,0	0,8	0,0	0,0	12,1	72,8	1,7	2,4	10,3	100,0	43
Racine	450,7	100,0	137,0	0,0	0,0	0,0	16,4	61,5	2,8	5,9	13,4	100,0	22
<i>Exsudat</i>													
(1)	473,5	100,0	26,8	2,2	1,3	0,0	14,2	36,9	10,9	12,6	21,9	100,0	3,4
(2)	429,4	100,0	18,8	2,6	0,5	0,7	13,0	25,6	14,5	14,3	28,8	100,0	1,8
<i>Sol non fractionné</i> .	21,8	100,0	12,0	6,7	0,0	1,8	14,4	16,9	17,6	15,6	27,0	100,0	1,0
<i>Fraction (µm)</i>													
20-2000	15,7	18,6	18,8	1,8	0,9	0,3	14,2	35,6	12,0	13,2	22,0	100,0	3,0
2-20	29,5	31,4	12,7	6,1	0,0	1,1	12,3	14,9	17,7	14,3	33,7	100,0	0,8
0-2	20,1	46,8	9,1	7,6	1,1	2,9	14,2	9,4	21,5	17,3	25,8	100,0	0,4
EC 0-2	ND	5,0	8,2	0,0	5,7	0,0	21,8	0,8	27,1	20,1	24,5	100,0	0,03

(*) RHA = rhamnose; FUC = fucose; RIB = ribose; ARA = arabinose; XYL = xylose; MAN = mannose; GAL = galactose; ND = non déterminé.

Les valeurs égales à 0 signifient inférieures à 1 %.

marqués par la réaction de Thiery. On constatera toutefois, dans le cas des colonies bactériennes (*photo 4*), que seuls les polysaccharides intracellulaires (PSi) sont encore visibles alors que les polysaccharides extracellulaires (PSe) semblent avoir été extraits. La fraction solubilisée EC0-2 (*photo 7*) présente bien le même type de marquage par la réaction de Thiery que la fraction MOnf (*photo 3*).

L'étude statistique sur 120 champs observés montre que :

- avant extraction à l'eau chaude, 19 champs ont un marquage positif à la réaction de Thiery, 12 sous forme de MOnf et 7 sous forme de MOF;
- après extraction à l'eau chaude, 7 champs seulement ont un marquage positif à la réaction de Thiery et pratiquement en totalité sous forme de MOF.

Les différences hautement significatives entre les deux traitements (risque de 1 %), permet de conclure à une solubilisation importante de MO amorphe (MOnf) par H₂O chaude. Il n'est toutefois pas possible d'attribuer à la fraction EC0-2 (*photo 7*) une seule origine de type « MO amorphe », d'autres formes ayant pu être aussi partiellement extraites.

2. *Caractéristiques chimiques des échantillons.* — (a) *Feuilles, racines et exsudats racinaires de canne à sucre* (tableau). — Les rapports C/N des feuilles et racines sont très élevés (supérieurs à 80), ceux des exsudats plus faibles (de 19 à 27). Les pourcentages relatifs en sucres font apparaître que les feuilles et racines ont des teneurs élevées en xylose (XYL) et faibles en rhamnose (RHA), fucose (FUC), ribose (RIB), mannose (MAN) et galactose (GAL). Les faibles teneurs en glucose (GLC) sont dues à une hydrolyse incomplète de la cellulose, compte tenu de la méthode utilisée (sans pré-traitement H₂SO₄ 12 M à froid [13]. L'utilisation du rapport XYL/MAN préconisée par Murayama [14] pour l'étude de la décomposition des débris végétaux, et donc distinguer dans les sols ou fractions de sol, l'héritage végétal des néosynthèses microbiennes, apparaît bien justifié

ici, compte tenu des très faibles teneurs en MAN des feuilles et racines ⁽¹⁾. Les deux lots d'exsudats ont des teneurs en XYL (25,6 et 36,9 %) moyennes à élevées, mais avec de fortes variations. Les teneurs en MAN (11 et 15 %) sont nettement plus fortes que celles des feuilles et racines et les rapports XYL/MAN sont donc plus faibles (1,0 et 1,8).

(b) *Les fractions granulométriques du sol.* — Le rapport C/N élevé (18,6) pour la fraction 20-2000 μm diminue avec la taille des fractions et il est inférieur à 10 pour la fraction 0-2 μm . Les teneurs relatives en XYL diminuent fortement des fractions 20-2000 μm (35,6 %) aux fractions argileuses (9,4 %). Les variations sont inverses pour le mannose et le rapport XYL/MAN diminue donc fortement de la fraction 20-2000 μm (3,0) à la fraction 0-2 μm (0,4).

(c) *L'extrait à l'eau chaude EC 0-2.* — Le carbone de cette fraction représente 15 % du carbone total de la fraction 0-2 μm et 5 % du carbone total du sol. Ses rapports C/N (8,2) et XYL/MAN (0,03) faibles, sont proches de ceux de la fraction argileuse dont elle est issue. La teneur en MAN de cette fraction est la plus élevée de tous les échantillons analysés et la teneur en XYL la plus faible.

IV. DISCUSSION ET CONCLUSIONS. — Les sols cultivés en canne à sucre présentent l'intérêt d'avoir porté une végétation *monospécifique* continue pendant de nombreuses années. On peut donc tenter de comparer la nature des MO du sol à celles restituées au sol par la culture : feuilles, racines et exsudats racinaires en particulier. Pour ces derniers, dans le cas de la canne à sucre, il ne semble exister aucune donnée à ce jour sur leur composition en sucre et les premiers résultats présentés ici (étude en cours) doivent être considérés avec prudence.

La comparaison des caractéristiques des apports végétaux avec celles des fractions granulométriques du sol fait apparaître que :

— Les MO associées à la fraction 20-2000 μm expriment bien leur caractère végétal figuré par leurs rapports C/N et XYL/MAN élevés en accord avec divers travaux de la littérature ([4], [15] à [18]).

— A l'opposé, les MO associées à la fraction argileuse, morphologiquement très différentes de celles des fractions 20-2000 μm , sont caractérisées par des rapports C/N et XYL/MAN faibles, ce qui serait bien en accord avec une origine partiellement microbienne ([14], [19], [20]). Toutefois, la fraction extraite à l'eau chaude (EC 0-2) rappelle par sa morphologie celle des exsudats trouvés dans la rhizosphère des plantes cultivées [21] et pourrait provenir d'une adsorption rapide sur les minéraux argileux des exsudats libérés au cours de la culture. Les caractéristiques chimiques des exsudats analysés dans ce travail ne permettent pas de trancher nettement ce débat sur l'origine de la fraction EC 0-2 puisqu'ils s'en différencient par leurs teneurs élevées en XYL mais s'en rapprochent par leurs teneurs moyennes à fortes en MAN et GAL. De même, les rapports XYL/MAN des exsudats sont intermédiaires entre ceux des feuilles et racines et celui de la fraction argileuse et de EC 0-2. Il est d'ailleurs probable qu'une grande partie de la fraction EC 0-2 résulte de l'action microbienne sur les produits de l'exsudation racinaire. Les travaux doivent se poursuivre dans cette direction.

⁽¹⁾ L'utilisation du rapport $(\text{MAN} + \text{GAL})/(\text{XYL} + \text{ARA})$ préconisée par divers auteurs ([4], [19]) conduirait aux mêmes interprétations dans notre travail.

Nous remercions vivement M^{me} A. M. Claude (E.N.S.A.I.A.) et M. J. L. Chotte pour leur participation à la préparation des exsudats, ainsi que M. T. Heulin pour son aide dans l'étude statistique.

3 4 5 6 7 8 9
10 11 12 13 14 15 16
17 18 19 20 21 22 23
24 25 26 27 28 29 30



1 2 3 4 5 6 7
8 9 10 11 12 13 14
15 16 17 18 19 20 21
22 23 24 25 26 27 28
29 30 31

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] P. DE BOISSEZON, In *Les sols ferrallitiques*, IV, 1973, p. 9-66, I.D.T., n° 21, Boissezon et coll. éd., ORSTOM, Paris.
- [2] W. W. EMERSON, R. C. FOSTER et J. M. OADES, In *Interactions of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes*, S.S.S.A. Special Publication, n° 17, Madison, 1986, p. 521-548.
- [3] D. A. BREMNER et J. M. GENRICH, In *Workshop O.T.A.N., Soil colloids and their association to form soil aggregates*, Gand, 1985.
- [4] L. W. TURCHENEK et J. M. OADES, *Geoderma*, 21, 1979, p. 311-343.
- [5] H. TIESSEN et J. B. STEWART, *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 47, 1983, p. 509-514.
- [6] C. FELLER, G. BURTIN, B. GERARD et J. BALESDENT, *Science du Sol*, 1991 (sous presse).
- [7] J.-L. MOREL, M. MENCH et A. GUCKERT, *Biol. Fertil. Soils*, 1986, p. 29-34.
- [8] C. FRANÇOIS, *Thèse Doct.*, Univ. Nancy-I, 1988, 173 p.
- [9] M. DUBOIS, K. A. GILLES, J. K. HAMILTON, P. A. REBERS et F. SMITH, *Anal. Chem.*, 28, 1956, p. 350-356.
- [10] M. V. CHESHIRE, C. M. MUNDIE et H. SHEPHERD, *J. Soil Sci.*, 24, 1973, p. 54-68.
- [11] G. VILLEMEN et F. TOUTAIN, In *Micromorphologie des Sols*, 1987, p. 43-48.
- [12] J. P. THIERY, *J. Microsc.*, Paris, 6, 1967, p. 987-1017.
- [13] M. V. CHESHIRE, In *Nature and Origin of Carbohydrates in Soils*, Acad. Press, London, 1979, p. 69.
- [14] S. MURAYAMA, *Soil Sci. Plant Nutr.*, 30, 1984, p. 367-381.
- [15] M. V. CHESHIRE et C. M. MUNDIE, *J. Soil Sci.*, 32, 1981, p. 605-618.
- [16] S. MURAYAMA, M. V. CHESHIRE, C. M. MUNDIE, G. P. SPARLING et H. SHEPHERD, *J. Soil Food Agric.*, 30, 1979, p. 1025-1034.
- [17] D. C. WHITEHEAD, H. BUCHAN et R. D. HARTLEY, *Soil Biol. Biochem.*, 7, p. 65-71.
- [18] S. MURAYAMA, *J. Soil Sci.*, 31, 1980, p. 481-490.
- [19] M. V. CHESHIRE, B. T. CHRISTENSEN et L. H. SORENSEN, *J. Soil Sci.*, 41, 1990, p. 29-39.
- [20] E. BARRIUSO, F. ANDREUX et J. M. PORTAL, *C. R. Acad. Sci. Paris*, 300, série II, 1985, p. 827-830.
- [21] A. GUCKERT, H. BREISCH et O. REISINGER, *Soil Biol. Biochem.*, 7, 1975, p. 241-250.

C. F. : ORSTOM, c/o Centre de Pédologie biologique du C.N.R.S.,
U.P.R. 6831 associée à l'Université de Nancy-I,
B.P. n° 5, 54501 Vandœuvre-les-Nancy Cedex;

C. F., G. V., J.-M. P. et F. T. : Centre de Pédologie biologique du C.N.R.S.,
U.P.R. 6831 associée à l'Université de Nancy-I,
B.P. n° 5, 54501 Vandœuvre-les-Nancy Cedex;

J.-L. M. : E.N.S.A.I.A., B.P. n° 172, 54505 Vandœuvre-les-Nancy Cedex.

EXPLICATIONS DE LA PLANCHE

Titre : Ultrastructures des matières organiques dans la fraction 0-2 µm (après réaction de Thiery).

Title: Ultrastructural characteristics of organic matter in the 0-2 µm fraction (with Thiery reaction).

Photos : Avant extraction à H₂O à ébullition : photos 1, 2 et 3. Après extraction à H₂O à ébullition : photos 4, 5 et 6. Extrait (lyophilisé) à H₂O à ébullition : photo 7 (fraction EC0-2).

Photos: Before boiling water extraction: Photos 1, 2 and 3. After boiling water extraction: Photos 4, 5 and 6. Boiling water extract (lyophilized): Photo 7 (EC0-2 fraction).

Symboles : A=phylites; MOF=débris figurés non reconnaissables (origine végétale, animale ou fongique); MOnf=matière organique (« amorphe ») non figurée; b=bactéries isolées; cb=colonie bactérienne; PSi=polysaccharide intra-cellulaire; PSe=polysaccharide extra-cellulaire.

Abbreviations: A=clays; MOF=non-recognizable structured debris (plant, animal or fungi origin); MOnf=non-structured ("amorphous") organic matter; b=bacteria; cb=bacterial colony; PSi=intracellular polysaccharide; PSe=extracellular polysaccharide.

