

# LES SUCRES DANS LE SOL ET LEUR DOSAGE GLOBAL

par

G. BACHELIER\*

*Après une rapide revue de l'aspect qualitatif et quantitatif des divers hydrates de carbone existant dans les sols, tant sous forme de constituants de la matière organique que sous forme de sucres libres, l'auteur envisage leur action possible sur la structure et le métabolisme des sols. Des diverses méthodes de dosage global des sucres, seules les méthodes colorimétriques à l'anthrone et à l'orcinol paraissent actuellement à retenir pour les sols. La méthode à l'orcinol, moins connue que celle à l'anthrone est à utiliser avec le disque colorimétrique Lovibond.*

## PLAN

- Importance des hydrates de carbone dans les sols.
- Substances humiques et sucres libres de quelques sols.
- Action des hydrates de carbone sur la structure des sols.
- Action des hydrates de carbone en tant que source énergétique.
- Dosage global des sucres réducteurs.
- Méthode colorimétrique à l'orcinol.
- Conclusions.

## IMPORTANCE DES HYDRATES DE CARBONE DANS LES SOLS

L'étude qualitative des hydrates de carbone présents dans les sols s'est avérée jusqu'ici assez décevante, du fait que les mêmes sucres se retrouvent dans des sols très différents et qu'inversement, les divers types de sols ne paraissent pas posséder un ensemble caractéristique de sucres. Les différences observées dépendent surtout de la nature des litières : une litière de conifères peut ainsi différer d'une litière de feuillus par une teneur plus faible en xylose et plus riche en arabinose et mannose (SOWDEN et IVARSON, 1962 b) ; les tourbes renfermeraient essentiellement du glucose (GUPTA et SOWDEN, 1963). Dans la plupart des sols, les sucres, ainsi que les acides aminés de base, apparaissent simplement comme les constituants obligatoires de la vie. Seule, celle-ci par

---

\* Maître de Recherches O.R.S.T.O.M. Services Scientifiques Centraux, Bondy.

ses représentants, peut contribuer à déterminer le milieu, dont tout à la fois d'ailleurs elle dépend.

Presque tous les sucres en C5 et C6 se rencontrent dans les extraits de sols : ribose, arabinose et xylose pour les pentoses ; glucose, galactose, mannose et fructose pour les hexoses. Certains auteurs y signalent aussi des sucres aminés (dérivant vraisemblablement en grande partie de l'hydrolyse des chitines) ou des sucres méthylés, tel par exemple le rhamnose (methyl aldopentose). Des dérivés de la cellulose (cellotriose et cellobiose) peuvent encore y être facilement trouvés (ROBERT, 1964). Enfin les acides uroniques (\*) sont toujours présents dans les extraits de sol. Rappelons que les acides uroniques (du type  $\text{COOH}-(\text{CHOH})_4-\text{CHO}$ ) dans la série des dérivés d'hexoses participent à la formation d'osides colloïdaux très importants, telles les pectines, les hemicelluloses et les mucus bactériens, qui sont signalés par de nombreux auteurs comme ayant une action favorable sur l'agrégation du sol. L'action des acides uroniques, liés à des protéines, peut être aussi très efficace.

Les hydrates de carbone constituent en moyenne 5 à 15 % de la matière organique des sols :

GRAVELAND et LYNCH (1961), étudiant des sols plus ou moins halomorphes (terre franche classique (orthic loam), solonetz solodisé et solod), ont ainsi trouvé que dans les extraits de ces sols (extraction par NaOH 0,5 N après un éventuel prétraitement à HF-HCl N), le carbone des hydrates de carbone représente 6,4 à 7,2 % du carbone organique total dans les horizons A1 et 11,7 à 12,9 % dans les horizons B. Le carbone des acides uroniques passe de son côté de 0,82 - 1,23 % du carbone organique total dans les horizons A1 à 1,83 - 3,29 % dans les horizons B2. En valeurs absolues, les polysaccharides et les acides uroniques diminuent comme le carbone total avec la profondeur, mais leur pourcentage au sein du carbone total tend à augmenter par suite de l'évolution plus poussée des substances organiques.

SOWDEN et IVARSON (1962 a) ont trouvé dans divers hydrolysats de sols que les sucres constituaient 7 à 10 % du carbone total, ou 12 à 14 % en y ajoutant les acides uroniques et les hexosamines.

GUPTA et SOWDEN (1963), analysant des fumiers et des tourbes à 64-92 % de matières organiques, ont trouvé que 6 à 7 % de ces matières organiques étaient constitués par des sucres.

ACTON, PAUL et RENNIE (1963), dans divers sols canadiens, ont trouvé par dosage à l'anthrone de leurs hydrolysats, une teneur de 10 à 15 % d'hydrates de carbone dans la matière organique de ces sols. Un prétraitement des sols à l'alcali dilué augmentait l'extraction des hydrates de carbone.

GUPTA, SOWDEN et STOBBE (1963), toujours par hydrolyse acide des sols, ont trouvé que les hydrates de carbone constituaient 16,1 % de la matière organique de divers horizons supérieurs de podzols, 16,4 % de la matière organique d'un sol gris forestier (gray wooded soil), 5,9 % de la matière organique de l'horizon B d'un sol noir et 5 % de la matière organique de l'horizon C de ce même sol. En général, le glucose dominait et constituait par exemple 42 à 54 % des hydrates de carbone des horizons supérieurs des sols podzoliques. Quatre à sept sucres de haut Rf constituaient de leur côté 6 à 13 % des sucres totaux.

En ce qui concerne l'importance du glucose au sein des hydrates de carbone, GUPTA et SOWDEN (1964) ont montré que la cellulose isolée de différents sols par le réactif de SCHWEITZER donnait à l'hydrolyse une quantité de glucose équivalente à 65-82 % de son poids. Cette cellulose constituait 0,3 à 1,9 % de la matière organique totale des sols étudiés, son pourcentage étant plus élevé dans les sols podzoliques que dans les sols bruns forestiers. Il semble donc, d'après ces auteurs, que la cellulose pourrait être à l'origine de 20 à 40 % du glucose total présent dans les hydrolysats de sols.

---

\* Les acides uroniques jadis dosés par décarboxylation tendent maintenant à être dosés par la méthode colorimétrique au carbazole jugée plus valable (LYNCH, HEARNS et COTNOIR, 1957), (DUBACH et LYNCH, 1959), (IVARSON et SOWDEN, 1962).

De fortes quantités de sucres peuvent parfois être liées aux substances humiques.

JOHNSTON (1961) a ainsi trouvé dans un limon (silt-loam) 3,6 fois plus de glucose et 3,3 fois plus de galactose dans les hydrolysats de la fraction acides humiques que dans les extraits à l'éthanol de la fraction dite des acides fulviques, et dans un limon sableux respectivement 1,5 et 3,3 fois plus.

Cette dominance des sucres dans les acides humiques est quand même relativement rare, et d'une manière générale la fraction acides fulviques renferme plus d'oses que la fraction acides humiques.

ACTON, PAUL et RENNIE (1963) trouvent ainsi dans un sol noir (orthic black soil) pour l'horizon supérieur 36,4 % des polysaccharides dans les "acides fulviques" et seulement 9,1 % dans les acides humiques, et pour l'horizon lessivé sous-jacent respectivement 22,2 % et 7,4 %. Ces mêmes auteurs, dans un sol brun foncé, trouvent encore 27,1 % des polysaccharides dans les acides fulviques contre 4,2 % dans les acides humiques. Le reste des polysaccharides demeure dans la fraction insoluble en milieu alcalin et hydrolysable par HCl. Cette fraction renferme à côté d'holosides (osides colloïdaux et hétérosides : mucoprotéines, chitine), des protéines simples et conjuguées, certains acides humiques liés aux argiles, des corps gras et des tanins. Il est à noter que cette fraction souvent appelée "humin" par les auteurs de langue anglaise (et notamment par ACTON, PAUL et RENNIE) ne correspond pas à notre définition de l'humine. L'humine, pour nous, avec les composés ligneux, les cires, les résines (et divers produits de réaction formés au cours de l'hydrolyse acide) réunit les composants non hydrolysables par HCl 6N de la fraction insoluble en milieu alcalin, et ne rentre donc pas dans la définition de l'"humin", puisque non facilement hydrolysable.

GAPONENKOV et SHATSMAN (1965) ont montré que les acides uroniques constituaient des unités structurales au sein des molécules complexes d'acides humiques et fulviques extraits de divers sols : chernozem, sol gris foncé forestier et solonetz. Ces mêmes auteurs ont aussi constaté que les acides uroniques constituaient 9,5 % en poids sec d'une culture microbienne de *Bacillus sub-mesentericus* et 15,6 % en poids sec d'une culture de *Bacillus polymyxa*.

Plus que les hydrates de carbone extraits par hydrolyse acide de la matière organique des sols, ce sont généralement les hydrates de carbone des extraits alcooliques ou aqueux qui intéressent les pédologues. Ces sucres constituent en effet les "sucres libres" du sol et sont tout à la fois produits de dégradation des débris végétaux et produits du métabolisme des sols, substances énergétiques de la vie microbienne et agents actifs de la structure.

GUPTA et SOWDEN (1963) dans un extrait à l'éthanol 80 % (éaporé sous vide à 40°, repris par l'eau, centrifugé et chromatographié) ont trouvé que dans un podzol les divers sucres constituaient 0,025 % de la matière organique, le glucose représentant 41 % des sucres extraits. Cette teneur en sucres libres nous paraît faible et doit être due à la méthode même d'extraction et de dosage.

ALVSAKER et MICHELSEN (1957), dans des extraits à l'eau froide d'un horizon F d'un sol sous forêt de pins, ont trouvé que les divers sucres ainsi extraits représentaient 0,4 % de la matière organique sèche, dont 0,22 % pour le seul glucose.

Personnellement, compte-tenu du sujet de nos recherches et des résultats des divers modes d'extraction à l'eau, nous avons choisi de faire nos extractions de substances réductrices et de sucres libres à l'eau distillée chaude avec bain-marie de 3 heures et demie à 70° (cf. technique en fin d'article).

Suivent ici quelques-uns des résultats que nous avons ainsi obtenus sur des sols de France et d'Outre-Mer.

## SUBSTANCES HUMIQUES ET SUCRES LIBRES DE QUELQUES SOLS

Plusieurs observations générales peuvent être dégagées du tableau 1 :

- Le Carbone des hydrates de carbone solubilisés à l'eau distillée chaude constitue en moyenne de 0,6 à 2 % du Carbone total des sols.
- Le Carbone des hydrates de carbone solubilisés à l'eau distillée chaude est toujours inférieur au carbone des acides fulviques, et ce carbone des acides fulviques est lui-même très nettement infé-

Tableau 1- SUBSTANCES HUMIQUES ET SUCRES LIBRES DE QUELQUES SOLS

	C total %	en % du C total					C du CO <sub>2</sub> en 7 jours à 30° (Q.M.) (*)
		soluble pyro Na M/10		soluble eau 70°, 3 H <sub>2</sub>			
		C des acides humiques	C des acides fulviques	C réducteur	C des hydrates de carbone		
<b>SOL DE CÔTE D'IVOIRE</b>							
Sol rouge ferrallitique (sablo-limoneux)							
Yapo 11 (0-5 cm)	2.50	10.1	13.5	1.9	0.9	1.2	
12 (10-40 cm)	0.83	5.5	27.6	0.9	0.4	1.0	
<b>SOLS DU SÉNÉGAL</b>							
Sol ferrugineux tropical lessivé (sableux) CD 90 (0-10 cm)	0.48	15.4	5.4	2.0	1.1	2.1	
(sablo-argileux) 91 (20-30 cm)	0.30			1.4	1.0	2.7	
(argilo-sableux) 92 (50 cm)	0.22			1.3	0.6	1.0	
Sol ferrugineux tropical peu lessivé (sableux) BAD 11 (0-2 cm)	0.49	8.6 ↑	8.4 ↑	3.5 ↓	2.4 ↓	6.0	
(= Sol Dior) 12 (2-10 cm)	0.26	13.5	9.6	3.1 ↓	1.9 ↓	2.8	
13 (10-20 cm)	0.15	22.7	14.7	1.6 ↓	1.3 ↓	3.7	
14 (40-50 cm)	0.14	38.6	16.4	1.1 ↓	0.8 ↓	2.5	
Vertisol (argilo-sableux) BAV 21 (0-10 cm)	0.62	25.6	4.2	1.4	1.0 ↓	2.4 ↓	
22 (30-40 cm)	0.80	41.1	4.3	1.0	0.6 ↓	1.6 ↓	
23 (90-100 cm)	0.21			1.5	0.8 ↓	5.4 ↓	
24 (120-130 cm)	0.16			1.3	1.2 ↑	5.4 ↑	
25 (150-160 cm)	0.15			1.1	1.3 ↓	6.6 ↓	
Sol hydromorphe à pseudo-gley (sableux) CCB 310 (0-5 cm)	0.86	9.1	7.2	2.5	1.5	2.4	
311 (30-50 cm)	0.12	29.0	17.0	1.5	1.7	2.5	
<b>SOLS DE FRANCE</b>							
Sol brun calcaire (sablo-argileux) B (0-20 cm)	1.07	8.3	7.7	1.9	0.9	2.7	
Mors de podzol V63 7 (2-7 cm)	10.41	4.5	3.4	2.4	1.3	0.9	
V63 9 (2-7 cm)	11.84	10.9	8.3	4.1	2.1	1.1	
Moder acide de sol podzolique V63 6 (2-7 cm)	2.16	13.9	5.1	3.9	2.1	1.9	
Sol à hydromorphie temporaire intensément colonisé par les vers de terre (limono-argileux) V63 5 (0-10 cm)	4.22	6.3	12.0	4.3	3.5	2.4	
(*) Q.M. = quotient de minéralisation = $\frac{C \text{ du } CO_2}{C \text{ total}} \times 100$ .							

rieur au carbone des acides humiques, à deux exceptions près : celle des sols ferrallitiques, où il est bien connu que les acides fulviques dominent généralement les acides humiques, et celle du sol intensément travaillé par les vers de terre, où se manifestent les substances organiques des excréta de vers.

- Le Carbone des hydrates de carbone solubilisés à l'eau distillée chaude constitue généralement plus de la moitié des éléments réducteurs, solubilisés dans les mêmes conditions et dosés par man-ganimétrie.
- Le Carbone des hydrates de carbone solubilisés à l'eau distillée chaude correspond généralement à la moitié du carbone minéralisable en 7 jours à 30°, mais dans le vertisol et le sol brun calcaire il correspond à moins de la moitié de ce carbone minéralisable et dans les horizons organiques des podzols et du sol podzolique il est supérieur à ce carbone minéralisable.

Si nous considérons maintenant séparément les divers sols, il est intéressant de noter que :

- Dans le sol ferrallitique de Côte d'Ivoire, alors que les acides fulviques, dépassant les acides humiques, constituent 13,5 % du carbone total en surface et 27,6 % à 10-40 cm, les hydrates de carbone solubles à l'eau distillée chaude ne constituent respectivement que 0,9 à 0,4 % de ce carbone total. Le quotient de minéralisation du carbone demeurant par ailleurs en dessous de 1,5 en surface et étant égal à 1 à 10-40 cm, les acides fulviques de ce sol apparaissent essentiellement comme des substances préhumiques non polycondensées et relativement stables, ce qui est généralement le cas dans les sols ferrallitiques (BACHELIER, 1963 a).
- Dans le sol Dior très sableux, alors que la matière organique apparaît de plus en plus humifiée en profondeur, les hydrates de carbone en saison sèche sont proportionnellement plus abondants en surface où ils s'accumulent, attendant une humidité suffisante pour se minéraliser ; le quotient de minéralisation très élevé à la surface de ce sol (Q.M.=6,0 dans les deux premiers centimètres) indique une minéralisation intense mais temporaire de la matière organique.
- Dans le vertisol, les acides humiques énergiquement bloqués par le calcium constituent le quart du carbone total dans les dix premiers centimètres et les 4/10 dans les horizons sous-jacents. Les hydrates de carbone, parallèlement à la respiration du sol, diminuent régulièrement avec la profondeur, mais constituent une part de plus en plus importante du carbone total. Dans les horizons profonds des vertisols, la matière organique est en effet facilement minéralisable, mais, par suite des conditions de compacité et d'anaérobiose qui apparaissent en saison des pluies, cette matière organique ne peut se minéraliser qu'en saison sèche après fissuration du sol ; ce que confirme le quotient de minéralisation qui est ici de 5,4 à 125 cm et de 6,6 à 155 cm avec des sucres libres constituant moins de 25 % du carbone minéralisé sous forme de CO<sub>2</sub> en sept jours à 30°.
- Dans les mors de podzol et le moder acide de sol podzolique, la teneur en carbone est naturellement importante, 10 % de ce carbone est transformé en acides humiques, 5 % se retrouvent dans les acides fulviques et 2 % dans les hydrates de carbone. Bien que dans ces sols les teneurs en hydrates de carbone soient élevées, la respiration y demeure cependant relativement faible (Q.M. de 1,9 dans le moder acide et de 0,9 - 1,1 dans les mors de podzol). Les matières organiques, tout en subissant une lente humification acide, libèrent normalement des hydrates de carbone, mais ceux-ci, pour diverses raisons encore discutées, voient leur minéralisation bactérienne freinée.
- Dans le sol argileux intensément colonisé par les vers, la litière feuillue recouvrant ce sol, par suite de l'hydromorphie temporaire, aurait du mal à disparaître et un gley apparaîtrait rapidement, si les vers ne participaient pas activement à l'aération de ce sol et à la décomposition de ses débris végétaux. Toutefois, les substances organiques dilacérées et prédigérées dans les excréta des vers s'humifient difficilement en milieu humide. Les substances préhumiques demeurent dans la fraction des acides fulviques, fraction qui est deux fois plus importante que celle des acides humiques et constitue 12 % du carbone total. Les hydrates de carbone libérés par le travail de digestion des vers sont très importants (3,5 % du carbone total), et donnent au sol un fort quotient de minéralisation de 2,4 ; toutefois la respiration de ce sol reste freinée par l'hydromorphie et une vie micro-bienne réduite, aussi les sucres libres tendent-ils à s'accumuler et constituent-ils 150 % du carbone minéralisé sous forme de CO<sub>2</sub> en sept jours à 30°.

## ACTION DES HYDRATES DE CARBONE SUR LA STRUCTURE DES SOLS

La formation des agrégats dans le sol est au départ d'ordre physico-chimique et dépend notamment de la granulométrie, de la nature des argiles, de la saturation du complexe colloïdal, ou encore du fer libre dans le cas des sols ferrallitiques ; mais le faciès de ces agrégats, leur disposition structurale, et surtout leur stabilité, dépendent essentiellement de la vie du sol, de sa teneur en hydrates de carbone, et plus particulièrement des polysaccharides issus des gommes et mucus bactériens (\*) (ceux des *Azotobacter* et des *Rhizobium* sont notamment très efficaces).

Il est connu que les racines, et plus particulièrement le dense chevelu radiculaire des graminées, favorise aussi la structuration des sols, non seulement par l'action mécanique et enrobante des racines et des radicelles, mais surtout par les produits résultant du métabolisme de la microflore des rhizosphères. WEBLEY, DUFF, BACON, et autres (1965) ont ainsi montré que diverses bactéries demeurant à la surface des racines de ray-grass étaient susceptibles de produire un abondant matériel muqueux renfermant des fructosanes (\*\*).

Il est à noter que l'amélioration de la structure par les racines s'accompagne obligatoirement d'une amélioration de la structure par la faune, et vice-versa, car si la faune dépend du milieu, elle contribue aussi et simultanément à le déterminer. Par son activité, elle améliore les conditions physico-chimiques du sol et, par sa fragmentation et sa prédigestion des débris végétaux, y favorise une vie microbienne plus intense, au bénéfice des qualités structurales des sols, et donc en fin de compte des plantes (BACHELIER 1963 b, VAN DER DRIFT 1965).

Les myceliums des champignons peuvent consolider la structure des sols, soit directement par la résistance mécanique de leurs filaments, soit indirectement par l'intermédiaire des bactéries mycophages sécrétrices de gommes. Ils semblent plus particulièrement efficaces dans la stabilisation de la structure des sols sableux (BOND et HARRIS, 1964).

Les molécules des substances agrégatives sont surtout, comme les polysaccharides et les polyuronides, de type linéaire, et renferment de nombreux groupements hydroxyles OH susceptibles de s'unir à l'H des particules argileuses. Les acides humiques, colloïdes de structure moléculaire plus sphérique, s'avèrent moins agrégatifs (FIELDER, 1957). Les substances humiques, bien que demeurant des facteurs essentiels du bon équilibre des sols, ne sont plus en effet actuellement considérées comme responsables premiers de la structure. MARTIN (1963), THOMANN (1963), COMBEAU et QUANTIN (1964) ont ainsi observé que la stabilité structurale de sols ferrallitiques et de vertisols d'Afrique apparaissait plus liée aux matières organiques non humifiées qu'aux substances humiques. Cependant, si dans les podzols les substances humiques s'avèrent même des agents d'altération, dans les chernozems et les autres sols calcaires, ces substances, (alors de nature plus complexe et énergiquement flocculées par le calcium) y déterminent une structure très stable. Dans la plupart des sols, l'action possible des substances humiques sur la structure dépend en grande partie de leur teneur en hydrates de carbone.

Les expériences de MEHTA, STREULI, MULLER et autres (1960) ou de GREENLAND, LINDSTROM et QUIRK (1962) indiquent d'ailleurs une évolution dans les facteurs de la stabilité structurale des agrégats au cours du temps. Basées sur l'oxydation des polysaccharides du sol par un périodate, suivie ou non d'une hydrolyse acide, ces expériences ont montré que si les polysaccharides étaient bien en grande partie responsables de la stabilité des jeunes agrégats (sols cultivés et sols sous prairies récentes), d'autres matériaux, comme les acides humiques et les substances de type humine ou même dérivées de lignine, maintenaient et même renforçaient les vieux agrégats (sols sous anciennes prairies) ; cela, pour autant que le sol demeurant suffisamment organique, le cycle

---

\* Les gommes microbiennes sont habituellement dosées par la technique de FORSYTH, qui consiste à flocculer par l'acétone les gommes présentes dans la fraction des acides fulviques (RENNIE, TRUOG, ALLEN, 1954) (CHESTERS, ATTOE, ALLEN, 1957). Les essais que nous avons pu faire de cette technique ne nous ont pas encouragés à l'utiliser.

\*\* Un osane est un anhydride interne d'ose résultant de l'élimination d'une molécule d'eau entre l'oxyhydrile de la fonction pseudo-aldéhydrique et une fonction alcool.

humine ou même dérivées de lignine, maintenaient et même renforçaient les vieux agrégats (sols sous anciennes prairies) ; cela, pour autant que le sol demeurant suffisamment organique, le cycle humique y soit maintenu constant, et surtout en présence de  $\text{CaCO}_3$  libre et à l'action floculante énergique (sols bruns calcaires, rendzines). MONNIER (1965), étudiant l'action des matières organiques sur la stabilité structurale des sols, a confirmé cette action successive des corps microbiens, des substances préhumiques et de l'humus stable au cours de la dégradation des débris végétaux dans les sols.

L'importance relative des différents facteurs (généralement interdépendants) de la structure et de la stabilité des sols varie donc avec les divers équilibres pédo-biodynamiques et leur âge, mais, en dernière analyse, on en revient presque toujours aux hydrates de carbone et plus particulièrement, pour la formation des jeunes agrégats, aux produits de sécrétion de la microflore.

Divers travaux importants sont à citer à ce sujet :

SHRIKHANDE (1933, 1936), étudiant la décomposition de divers matériaux d'origine végétale, a recherché les meilleures conditions de développement de la microflore participant à cette décomposition, et il a pu observer que la viscosité du milieu, mesurée par un test physique d'adhésivité, dépendait essentiellement du mucus produit par la microflore. Tous apports ou modifications du milieu contribuant dans le sol à favoriser la décomposition des débris végétaux y favorisent aussi l'agrégation et la stabilité structurale par l'intermédiaire des produits du métabolisme de la microflore. L'acidité, comme une trop faible aérobieuse du sol, sont par contre des facteurs qui contrecarrent l'accroissement de la viscosité durant les fermentations. ACTON, RENNIE et PAUL (1963) ont aussi montré qu'un trop fort apport d'azote accompagnant une addition de paille pouvait freiner fortement l'amélioration de la structure.

CHESTERS, ATTOE et ALLEN (1957), recherchant l'importance relative des différents facteurs pouvant contribuer à l'agrégation des sols, ont trouvé que les gommes microbiennes constituaient le facteur le plus important pour l'agrégation des sols et que l'action agrégative des matières organiques dépendait très largement de leurs teneurs en gommes. Dans les sols étudiés par ces auteurs, le fer libre contribuait surtout à la formation des petits agrégats et l'effet de l'argile ne se manifestait que dans les sols à plus de 30 % d'argile.

GREENLAND, LINDSTROM et QUIRK (1961), GADGIL (1963), étudiant l'agrégation de sols situés sous jeunes et vieux pâturages, ont montré que si les polysaccharides étaient responsables de la stabilité structurale des sols situés sous jeunes pâturages, ce devait être par contre les racines et les myceliums de champignon qui jouaient le rôle principal dans la stabilité structurale des sols situés sous vieux pâturages. Nous avons vu plus haut que les substances humiques renfermant des hydrates de carbone devaient aussi jouer un rôle dans le maintien de la stabilité des vieux agrégats.

Enfin, WATSON et STOJANOVIC (1965), travaillant sur un limon stérilisé à la vapeur et reensemencé par différents microorganismes, avec ou sans apport de glucose et de nitrate d'ammonium ont constaté que l'augmentation de l'agrégation était en rapport avec l'augmentation du carbone des hydrates de carbone (dosés par l'anthrone) et du carbone des acides uroniques (dosés par dégagement de  $\text{CO}_2$  en milieu acide). La fraction des polysaccharides détruite par oxydation au périodate de Na n'est apparue responsable que du tiers de l'agrégation des échantillons à culture bactérienne pure et que du cinquième seulement de l'agrégation des échantillons à culture bactérienne mixte.

En ce qui concerne les produits de sécrétion des *Azotobacter* et des *Rhizobium* :

RENNIE, TRUOG et ALLEN (1954) ont souligné l'effet agrégatif des polysaccharides synthétisés par *Agrobacterium radiobacter*. L'addition de seulement 20 mg de ce mucus à 100 g de limon sableux y détermine une augmentation de 50 % des agrégats de diamètre supérieur à 1/10 de millimètre. Là aussi, ces auteurs ont noté l'effet positif qu'ont, à côté de l'apport de résidus de plantes broyées, les pH proches de la neutralité et les fortes teneurs en phosphore ou en potassium assimilables. Ils ont aussi observé une augmentation du pourcentage des agrégats stables au printemps et en été, suivie d'une rapide diminution en automne.

GUPTA et SEN (1962), ensemencant de leur côté par diverses souches de rhizobium un sol stérile enrichi en saccharose,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  et  $\text{CaCO}_3$ , ont pu constater un accroissement du taux d'agrégation de 83 % avec les isolats de pois, de 59 % avec les isolats de *Cicer arietinum* et de 41 % avec les isolats de *Trigonella foenum graecum* : l'agrégation, fait curieux, ne semblait pas liée à la quantité de gomme produite par les isolats.

CLAPP, DAVIS et VAUGAMAN (1962), puis DAVIS et HEALD (1964), étudiant la formation de gels entre argiles minérales et polysaccharides rhizobiens, ont montré que la plupart de ces derniers étaient aussi actifs que le krillium dans la formation des gels et l'amélioration de la stabilité structurale des agrégats après leur dessiccation.

Personnellement, mélangeant intimement le mucus de colonies d'*Azotobacter* à un sol rouge ferrallitique placé ensuite en incubation à 30° pendant une semaine, nous avons pu constater une augmentation significative des agrégats de ce sol (tant après prétraitement à l'alcool qu'après prétraitement au benzène) et une augmentation nette de sa stabilité structurale (ls passant de 2,54 à 1,92).

## ACTION DES HYDRATES DE CARBONE EN TANT QUE SOURCE ÉNERGÉTIQUE

L'expérience montre que le dégagement de gaz carbonique des sols est étroitement lié à leur teneur en "sucres libres". Un extrait aqueux de sol, concentré par lyophilisation et utilisé pour humidifier un autre échantillon de sol, accroît le carbone minéralisable de ce dernier d'une valeur proportionnelle au carbone des hydrates de carbone présent dans l'extrait. Cette augmentation du carbone minéralisable est proportionnelle, mais non égale, au carbone des hydrates de carbone apporté, car l'équilibre dynamique du sol étant modifié par un apport énergétique, son métabolisme propre tend en contrepartie à diminuer. Ainsi, 100 g d'un échantillon de sol brun calcaire, qui dégage en laboratoire (en sept jours et à 30°) 102 mg de  $\text{CO}_2$ , en dégage 122 mg (soit 5,4 mg de carbone en plus), s'il est humidifié par un extrait aqueux de ce même sol renfermant 20,5 mg de carbone réducteur et 9,6 mg de carbone d'hydrates de carbone.

A côté de leur rôle d'aliments énergétiques de la microflore, les hydrates de carbone peuvent aussi avoir dans le sol une action spécifique sur une fonction bactérienne définie et participer ainsi directement au déterminisme de l'équilibre dynamique des sols.

SASSON et DASTE (1963) ont ainsi montré que, dans les sols arides du Maroc, les *Azotobacter* offraient en été une période de dormance dont ils étaient tirés par les premières pluies et l'apport de substances énergétiques issues des matières organiques en décomposition. SASSON (1965) n'a pas trouvé de relation entre les *Azotobacter* et la microflore cellulolytique, mais ROUQUEROL (1965) a noté que ni la cellulose, ni les hémicelluloses, ni les substances humiques ne peuvent être directement attaquées par les *Azotobacter*, qui utilisent comme substances énergétiques des corps beaucoup moins complexes, et principalement des glucides simples (hexoses et diosides). Dans les sols de rizière étudiés par cet auteur, la fixation d'azote, qui varie au cours de l'année, s'accroît en fonction de l'apport des substances énergétiques que constituent les hydrates de carbone.

La décomposition des hydrates de carbone par les microorganismes du sol produit divers acides organiques qui, bien que n'ayant en milieu aérobie qu'une existence très limitée, participent cependant activement au métabolisme des sols et en influencent fortement la fertilité. Certains de ces acides, et notamment l'acide citrique, peuvent ainsi libérer le phosphore des phosphates de calcium, d'aluminium et de fer insolubles (QUASTEL, 1965).

Les hydrates de carbone, même à très faible concentration, peuvent encore dans le sol participer à d'importantes fonctions physiologiques et par là favoriser la croissance de certaines plantes (BROWN, ROBINSON, JOHNSON, 1950).

## DOSAGE GLOBAL DES SUCRES RÉDUCTEURS

Le dosage des sucres réducteurs s'effectue habituellement par réduction en milieu alcalin d'une solution d'ions cuivriques en ions cuivreux qui précipitent. Ces derniers peuvent être déterminés :

- par la méthode de BERTRAND dans le cas de solutions assez riches en sucres (10 mg au minimum dans les 20 ml de la prise d'essai) : les ions cuivreux sont traités par une solution acide de sulfate ferrique ; le cuivre se dissout à l'état de  $\text{CuSO}_4$ , tandis qu'une proportion correspondante de sel ferrique passe à l'état de sel ferreux, qu'on dose par le permanganate de potassium.

- par la méthode de SOMOGYI qui permet de doser des quantités de sucres mille fois plus faibles que la méthode de BERTRAND : les ions cuivreux sont réoxydés par de l'iode pour donner de l'oxyde cuivrique, et l'iode restant est dosé par de l'hyposulfite de sodium.

HANOVER (1964) décrit en détail ces deux premières méthodes.

- par la méthode colorimétrique de NELSON (NELSON, 1944) qui, assez complexe dans ses réactions, utilise un réactif à base de molybdate d'ammonium et arséniate de sodium pour développer une coloration bleue proportionnelle à la quantité de sucres.

Seules les deux dernières méthodes seraient assez sensibles pour être utilisées au dosage des hydrates de carbone présents dans les sols, mais leur adaptation à ce dosage les rendrait assez longues et difficiles, aussi leur préfère-t-on les méthodes colorimétriques à l'anthrone ou à l'orcinol, réactifs qui colorent directement en milieu acide les solutions d'extraction. Ces méthodes sont très sensibles et permettent de doser les hydrates de carbone à partir de 10 millièmes de mg de glucose par ml de solution. Elles ont aussi surtout l'avantage d'être très simples à réaliser et de bien se prêter aux analyses de grande série, tout en demeurant assez précises.

- La méthode colorimétrique à l'anthrone (\*) de MORRIS (MORRIS, 1948) a été utilisée avec satisfaction par BRINK, DUBACH et LYNCH (1960) ou GRAVELAND et LYNCH (1961) sur des hydrolysats de matières organiques de sol, et par ROUQUEROL (1965) dans une étude sur l'apparition dans le sol de substances énergétiques de nature glucidique susceptibles de provoquer l'activité des *Azotobacter*. Il est à noter que ROUQUEROL prépare ses extraits de terre sans hydrolyse, mais en milieu alcoolique (5 g de sol pour 50 ml d'éthanol 50°, à 70°C pendant une demi-heure sur table secoueuse).

- La méthode colorimétrique à l'orcinol, moins connue que celle à l'anthrone, a une sensibilité un peu inférieure à celle-ci, mais l'usage du disque colorimétrique Lovibond, permet le dosage global des sucres réducteurs dans les laboratoires dépourvus de photocalorimètre valable. Ce disque colorimétrique offre l'avantage de rendre plus sûre une échelle qui, avec l'orcinol, porte à la fois sur une variation de couleur et une variation d'intensité de teinte (ainsi que le montrent les courbes d'absorption en U que l'on obtient au photocalorimètre).

TILLMANS et PHILIPPI (1929) ont utilisé ce dosage à l'orcinol pour l'étude de la teneur en hydrates de carbone des protéines les plus importantes, et notamment le dosage du sucre libre présent dans l'albumine.

De la méthode à l'orcinol, nous donnons ici le principe et une technique adaptée aux sols, pensant dans une prochaine note comparer cette méthode avec la méthode à l'anthrone.

---

\* L'anthrone est l'oxo-9 dihydro-10 anthracène, forme tautomère cétonique de l'anthranol.

## MÉTHODE COLORIMÉTRIQUE A L'ORCINOL

Alors que l'oxydation des oses en milieu alcalin conduit à un mélange complexe de corps réducteurs, elle donne naissance en milieu acide, d'une part à des dérivés aldéhydiques d'un hétéro-cyclique oxygéné (le furane), en particulier à du furfurole, et d'autre part à des méthylfurfuroles substitués (TIAN et ROCHE, 1950).

Ces dérivés du furane ont la propriété de se combiner au bain-marie à des diphénols (résorcinol et orcinol) ou à des triphénols (phloroglucine) en formant des pigments dont la coloration dépend du phénol et du glucide employés.

Avec l'orcinol (5 méthyl-résorcinol) on a une coloration qui va du jaune au rouge-orange pour les divers diosides, hexoses et pentoses issus de l'hydrolyse des polysaccharides. Xylose et arabinose, fructose et glucose, maltose, lactose et saccharose, ainsi qu'amidon et glycogène donnent cette réaction. Les molécules d'hydrates de carbone renfermant des groupes aminés, tels la glucosamine, ne donnent pas cette réaction. L'acide lactique, l'acide tartrique et l'acétone ne réagissent pas avec l'orcinol, mais l'aldéhyde benzoïque et l'aldéhyde formique donnent avec l'orcinol la même couleur que le sucre, et éventuellement pour l'aldéhyde formique un précipité brun-rouge.

### Technique utilisée

60 g de terre sèche et tamisée à 2 mm (ou un poids équivalent de terre humide dont on connaît l'humidité) sont placés dans une fiole cylindro-conique, que l'on remplit de 300 ml d'eau distillée, que l'on bouche et que l'on porte ensuite au bain-marie à 70° pendant 3 heures et demie avec agitations intermittentes. Pendant l'échauffement à 70° de l'eau des fioles, on débouche plusieurs fois ces dernières pour rétablir leur pression et éviter que leurs bouchons ne sautent.

Après une nuit de repos des fioles au frigidaire, on en centrifuge le contenu 10 minutes à 2000 tours/minute. On filtre la fraction liquide ainsi obtenue, et on l'utilise ensuite pour divers dosages, dont par exemple, en plus du dosage des hydrates de carbone par colorimétrie à l'orcinol, le dosage du carbone réducteur soluble (\*).

Pour le dosage des hydrates de carbone totaux par colorimétrie à l'orcinol (et à l'aide du disque colorimétrique Lovibond), 150 ml de la solution centrifugée et filtrée sont additionnés d'1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> au 1/2, puis concentrés sur plaque chauffante et sans ébullition à environ 20 ml. Après refroidissement, ces 20 ml sont ajustés à 25 ml (ou 50 ml, ou même encore plus, si cela est nécessaire, comme c'est souvent le cas avec les échantillons organiques).

Après filtration sur laine de verre de la solution ajustée, 1 ml du filtrat est additionné de 10 ml d'une solution d'acide sulfurique 66% en volume (552 ml d'acide sulfurique d = 1,83 amenés à 1000) à 0,2% d'orcinol. Après homogénéisation du mélange, on porte ce dernier au bain-marie bouillant pendant 12 minutes.

---

\* Dosage par manganimétrie du carbone réducteur soluble.

50 ml de la fraction liquide (ou moins si nécessaire, mais alors avec complément d'eau distillée à 50 ml) sont additionnés de 3 ml d'acide sulfurique pur et 20 ml de KMnO<sub>4</sub> environ N/10. On porte à ébullition et on maintient cette ébullition exactement 10 minutes sur une plaque chauffante dont la température doit demeurer constante tout au cours des dosages. Après ces dix minutes d'ébullition, on ajoute 20 ml d'acide oxalique N/10 exact et on titre l'acide oxalique en excès par le permanganate N/10.

A 1 ml de KMnO<sub>4</sub> N/10 exact correspond 0,3 mg de carbone réducteur ; deux essais à blanc sont nécessaires.

On laisse refroidir et on ajuste à 50 ml. Après nouveau refroidissement, le dosage est réalisé à l'aide du colorimètre et disque colorimétrique Lovibond gradué directement au millième de mg de glucose pour 10 ml de solution. (Il convient donc de multiplier par 5 les résultats pour les ramener à 50 ml).

Si la solution s'avère trop concentrée et dépasse la valeur maxima de la graduation du disque colorimétrique Lovibond, on a rapidement formation d'un précipité brun-rouge et, plutôt que de diluer la solution colorée, il faut diluer la solution d'extraction ajustée, en reprendre 1 ml et porter à son tour ce nouveau ml au bain-marie bouillant, après addition de 10 ml de la solution d'orcinol.

Les valeurs élevées de la graduation du disque sont contrôlées par une dilution au 1/2 de la solution de dosage.

Les résultats sont à plus ou moins 6 % près.

## CONCLUSIONS

Plus longtemps méconnus, car moins évidents, que les substances humiques, les hydrates de carbone ont repris dans ces dernières années une importance considérable en Pédologie.

Selon les sols et la profondeur des horizons, les hydrates de carbone et les acides uroniques constituent 10 à 15 % des matières organiques, avec environ 50 % de glucose, issu en grande partie de la dégradation de la cellulose.

Sous forme de sucres libres solubles, les hydrates de carbone constituent environ 0,5 à 2,5 % du carbone total des sols et correspondent en moyenne à la moitié du carbone minéralisable en sept jours à 30°C.

De nombreux mucus bactériens toujours plus ou moins riches en polysaccharides ont, comme notamment ceux des *Azotobacter* et des *Rhizobium*, une action très efficace dans l'agrégation première des sols, que vient ensuite stabiliser l'enrobement des agrégats par les mycéliums de champignons, les radicelles de graminées et les diverses colonies bactériennes. L'imbibition des agrégats par des acides humiques à grosse molécule, de type humine ou dérivés de lignine, achève leur consolidation, surtout en présence de cations flocculants comme le calcium.

A côté de leur action sur la structure des sols, les hydrates de carbone constituent un matériel énergétique et participent activement au métabolisme des sols, tant par eux-mêmes que par les acides organiques issus de leur décomposition.

Des différentes méthodes de dosage global des hydrates de carbone, seules les méthodes à l'anthrone et à l'orcinol paraissent actuellement mériter l'attention des Pédologues ; le disque Lovibond pour dosage des sucres par l'orcinol permet un dosage facile des hydrates de carbone du sol, avec une précision relative de + ou - 6 %. Une comparaison critique sera ultérieurement faite entre la méthode à l'orcinol et la méthode à l'anthrone.

## BIBLIOGRAPHIE

- ACTON (C.J.), PAUL (E.A.), RENNIE (D.A.) - 1963 - Measurement of the polysaccharide content of soils. *Canad. J. Soil Sci.*, 43, 141-150.
- ACTON (C.J.), RENNIE (D.A.), PAUL (E.A.) - 1963 - The relationship of polysaccharides to soil aggregation. *Canad. J. Soil Sci.*, 43, 201-209.
- ALVSAKER (E.), MICHELSEN (K.) - 1957 - Carbo-hydrates in a cold water extract of a pine forest soil. *Acta Chem. Scand.*, 11, 3, 1794-1795.
- BACHELIER (G.) - 1963 a - Influence du climat sur les processus pédobiologiques de l'humification et de la déshumification. *Pedobiologia*, 2, 153-163.
- BACHELIER (G.) - 1963 b - *La vie animale dans les sols*. O.R.S.T.O.M. (Paris), 279 p.
- BOND (R.D.), HARRIS (J.R.) - 1964 - The influence of the microflora on physical properties of soil. 1. Effects associated with filamentous algae and fungi. *Austr. J. Soil Res.*, 2, 111-122.
- BRINK (R.H.), DUBACH (Jr.P.), LYNCH (D.L.) - 1960 - Measurement of carbohydrates in soil hydrolyzates with anthrone. *Soil Science*, mars, 89, 3, 157-166.
- BROWN (R.), ROBINSON (E.), JOHNSON (A.W.) - 1950 - The effects of D-xyloketase and certain root exudates in extension growth. *Proc. Roy. Soc. (London)*, 136, 577-591.
- CHESTERS (G.), ATTOE (O.J.), ALLEN (O.N.) - 1957 - Soil aggregation in relation to various soil constituents. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 21, 3, 272-277.
- CLAPP (C.E.), DAVIS (R.J.), VAUGAMAN (S.H.) - 1962 - The effect of rhizobial polysaccharides on aggregate stability. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 26, 466-469.
- COMBEAU (A.), QUANTIN (P.) - 1964 - Observations sur les relations entre stabilité structurale et matière organique dans quelques sols d'Afrique Centrale. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Pédol.*, 11, 1, 3-11.
- DAVIS (R.J.), HEALD (W.R.) - 1964 - Formation of clay mineral-rhizobial polysaccharides gels and their measurement by torque viscosimetry. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 28, 2, 203-205.
- DUBACH (P.), LYNCH (D.L.) - 1959 - Comparison of the determination of "uronic acids" in soil extracts with carbazole and by decarboxylation. *Soil Sci.*, 87, 273-275.
- FIELDER (H.J.) - 1957 - Die Beeinflussung physikalischer Bodeneigenschaften durch anorganische und natürliche Bodenstruktur-Verbesserungsmittel. *Wiss. Z. Friedrich-Schiller Univ. math.-naturwiss Reihe*, 6, 3-4, 187-198.
- GADGIL (P.D.) - 1963 - Soil sections of grassland. *Soil Organisms* (North Holland Publ. Comp. éd., Amsterdam), 327-332.
- GAPONENKOV (T.K.), SHATSMAN (L.I.) - 1965 - Composition des acides humiques et fulviques de divers types de sols (en russe). *Agrokhimiya*, 7, 108-113.
- GRAVELAND (D.N.), LYNCH (D.L.) - 1961 - Distribution of uronides and polysaccharides in the profiles of a soil catena. *Soil Science*, 91, 3, 162-165.
- GREENLAND (D.J.), LINDSTROM (G.R.), QUIRK (J.P.) - 1961 - Role of polysaccharides in stabilization of natural soil aggregates. *Nature* (London), 191, 1283-1284.
- GREENLAND (D.J.), LINDSTROM (G.R.), QUIRK (J.P.) - 1962 - Organic materials which stabilize natural soil aggregates. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 26, 366-371.
- GUPTA (K.G.), SEN (A.) - 1962 - Aggregation of soil due to growth of *Rhizobium sp.* from some common cultivated legumes. *Soil Sci.*, 94, 5, 345-348.
- GUPTA (U.C.), SOWDEN (F.J.) - 1963 - Occurrence of free sugars in soil organic matter. *Soil Sci.*, 96, 3, 217-218.

- GUPTA (U.C.), SOWDEN (F.J.), STOBBE (P.C.) - 1963 - The characterization of carbohydrate constituents from different soil profiles. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 27, 4, 380-382.
- GUPTA (U.C.), SOWDEN (F.J.) - 1964 - Isolation and characterization of cellulose from soil organic matter. *Soil Sci.*, 97, 5, 328-333.
- HANOVER (P.) - 1964 - *Méthodes d'analyses utilisées au Laboratoire des glucides*. C.S.T.-Bondy, Publication O.R.S.T.O.M., Paris.
- IVARSON (K.C.), SOWDEN (F.J.) - 1962 - Methods for the analysis of carbohydrate material in soil. 1. Colorimetric determination of uronic acids, hexoses and pentoses. *Soil Sci.*, 94, 4, 245-250.
- JOHNSTON (H.H.) - 1961 - Common sugars found in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 25, 5, 415.
- LYNCH (D.L.), HEARNS (E.E.), COTNOIR (L.J.) - 1957 - The determination of Polyuronides in soils with Carbazole. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 21, 2, 160-162
- MARTIN (G.) - 1963 - Dégénération de la structure des sols sous culture mécanisée dans la vallée du Niari. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Pédol.*, 1, 2, 8-14.
- MEHTA (N.C.), STREULI (H.), MULLER (M.) *et al.* - 1960 - Role of polysaccharides in soil aggregation. *J. Sci. Food Agric.*, 11, 40-47.
- MONNIER (G.) - 1965 - *Action des matières organiques sur la stabilité structurale des Sols*. Thèse, (Fac. des Sci., Paris).
- MORRIS (D.L.) - 1948 - Quantitative determination of carbohydrates with Dreywood's Anthrone Reagent. *Science*, 5 mars, 107, 254-255.
- NELSON (N.) - 1944 - A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 153, 375-380.
- QUASTEL (J.H.) - 1965 - Soil metabolism. *Ann. Rev. of Plant Physiology*, 16, 217-240.
- RENNIE (D.A.), TRUOG (E.), ALLEN (O.N.) - 1954 - Soil aggregation as influenced by microbial gums, level of fertility and kind of crop. *Soil Sci. Soc. Proc.*, 18, 4, 399-403.
- ROBERT (Mme M.) - 1964 - Etude biologique des sols au cours de l'épreuve d'incubation. II. Glucides libres. *Ann. Inst. Pasteur*, 106, 5, 801-806.
- ROUQUEROL (T.) - 1965 - Recherche des glucides libres dans le sol. *Biol. du Sol (Bull. de l'Ass. Int. Sci. du Sol)*, 4, 18-20.
- SASSON (A.), DASTE (Ph.) - 1963 - Observations nouvelles concernant l'écologie de l'*Azotobacter* dans certains sols arides du Maroc. *C.R. Ac. Sci. (Paris)*, groupe 10, 257, 3516-3518.
- SASSON (A.) - 1965 - Observations nouvelles sur les relations entre l'*Azotobacter* et la microflore cellulolytique dans le sol. *Rev. d'Ecologie et de Biol. du Sol*, 2, 4, 511-518.
- SHRIKHANDE (J.G.) - 1933, 1936 - The production of mucus during the decomposition of plant materials. § 1 et 2 : *The Biochem. J.*, 1933, 27, 1551-1562 et 1563-1574. § 3 : *The Biochem. J.*, 1936, 30, 1789-1794.
- SOWDEN (F.J.), IVARSON (K.C.) - 1962 a - Methods for analysis of carbohydrate material in soil. 2. Use of cellulose column and paper chromatography for determination of the constituent sugars. *Soil Science*, 94, 5, 340-344.
- SOWDEN (F.J.), IVARSON (K.C.) - 1962 b - Decomposition of forest litters. 3. Changes in the carbohydrate constituents. *Plant and Soil*, XVI, 3, 389-400.
- THOMANN (Ch.) - 1963 - Quelques observations sur l'extraction de l'humus dans les sols ; méthode au pyrophosphate de sodium. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Pédol.*, 1, 3, 43-72.
- TIAN (A.), ROCHE (J.) - 1950 - *Chimie* (Collection du P.C.B.), Masson éd., Paris.
- TILLMANS (J.), PHILIPPI (K.) - 1929 - Über den Gehalt der wichtigsten Proteine der Nahrungsmittel and Kohlehydrat und über ein kolorimetrisches Verfahren zur quantitativen Bestimmung von stickstofffreiem Zucker in Eiweiss. *Biochem. Z.*, 215, 36-60.

- VAN DER DRIFT (J.) - 1965 - *The effects of animal activity in the litter layer* "Experimental Pedology" (Proc. 11th Easter School agric. Sci. Univ. Nottingham, 1964), 227-235.
- WATSON (J.H.), STOJANOVIC (B.J.) - 1965 - Synthesis and bonding of soil aggregates as affected by microflora and its metabolic products. *Soil Sci.*, 100, 57-62.
- WEBLEY (D.M.), DUFF (R.B.), BACON (J.S.D.) *et al.* - 1965 - A study of polysaccharide producing organisms occurring in the root region of certain pasture grasses. *J. Soil Sci.*, 16, 149-157.