

UNIVERSITÉ PARIS XII VAL DE MARNE

THÈSE

DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ PARIS XII

École Doctorale Science de la Vie et de la Santé

Titre

**Importance des relations « Résidus végétaux – Communautés microbiennes »
sur les processus de décomposition dans un sol ferrugineux tropical
(Sénégal) : effet de la disponibilité de l'azote**

Par

Saïdou Nourou SALL

Soutenue le 25 Novembre 2004

Jury :

Corinne	ROULAND	Professeur Université Paris XII	Examineur
Sylvie	RECOUS	Directeur de Recherche INRA	Examineur
Roel	MERCKX	Professeur Université de Leuven	Rapporteur
Christian	FELLER	Directeur de Recherche IRD	Rapporteur
Jean Luc	CHOTTE	Directeur de Recherche IRD	Directeur de Thèse

Remerciements

J'ai eu la chance en tant que Ingénieur recruté à l'IRD du Sénégal, d'effectuer parallèlement à mes obligations techniques, une thèse dans de bonnes conditions. Je remercie l'ensemble des autorités administratives et scientifiques de l'IRD pour le soutien apporté. Elles m'ont permis d'atteindre mes objectifs de chercheur par la formation continue.

Cette thèse a été réalisée au Laboratoire d'Ecologie Microbienne des Sols Tropicaux de l'UR IBIS Dakar. J'exprime ma profonde gratitude à Monsieur Jean Luc Chotte, Directeur de l'UR, Je le remercie de la confiance qu'il m'a accordé en dirigeant cette thèse. Malgré son emploi du temps très chargé, il m'a toujours encadré avec compétence et une patience légendaire. Sa manière d'appréhender et de décortiquer une question m'a été et me sera toujours profitable. Enfin, ses qualités scientifiques et humaines m'ont beaucoup marqué.

Mes remerciements vont à Monsieur Roel Merckx, Professeur à l'université de Leuven et à Monsieur Christian Feller, Directeur de recherche à l'IRD d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse. Merci également à Madame Corinne Lefèvre Rouland, Professeur à l'Université Paris XII et Madame Sylvie Recous, Directeur de recherche à l'INRA, qui dans leur domaines de compétences respectifs, ont porté un regard extérieur sur ce travail.

J'exprime une reconnaissance particulière à Dominique Masse qui a participé du début jusqu'à la fin au suivi critique de ce travail. Que sa disponibilité et sa compétence soient ici reconnues.

Je remercie encore Sylvie Recous Directeur de l'unité INRA d'agronomie Laon-Reims-Châlons, pour m'avoir accueilli en stage pour y effectuer une partie de ce travail. Merci également à Isabelle Bertrand, chargée de recherche INRA, qui a pris beaucoup de son temps pour m'encadrer durant le stage, et pour les nombreuses discussions scientifiques que nous avons eu durant tous mes séjours à Reims. Que l'ensemble du personnel de cette unité d'agronomie soit assuré de ma gratitude pour leur contribution à mon travail, leur accueil et leur gentillesse.

Mes remerciements vont aussi à Marc Pansu, pour m'avoir initié à la modélisation, à Bernard Barthès, Directeur du Laboratoire MOST, pour son accueil et sa bonne humeur quotidienne, à Laurent Thuriès, pour nos discussions sur les modèles, et l'ensemble du personnel de l'UR Séq C de l'IRD de Montpellier.

Mes remerciements aussi à Alain Brauman, Komi Assigbetsé, Aliou Guissé, Aminata Badiane, Yacine Ndour, Saliou Fall, Daouda Ndiaye, Michel Diouf, Hasna Founoune, Mariama Diallo pour leurs suggestions et critiques scientifiques apportées à ce travail

Cette thèse n'aurait pu se faire sans le soutien continu et efficace de tout le personnel du laboratoire IBIS (UR 083), aux qualités humaines fort appréciables, pour leur précieuse collaboration technique. Toute ma sympathie à Lamine Dieng, Mahécor Diouf, Oumar Faye, Moustapha Sané, Tidiane Badji, Amadou Diop, Mariama Gueye, Saliou Faye, Mme Gueye, Hyacinthe Tèndeng.

Mes sincères remerciements à Mme Suzanne Cohen, pour toutes les démarches administratives effectuées pendant ces années de thèse. Grand merci !

Merci également à l'ensemble du personnel de l'UR 40, des US 122 (Unité des Moyens Analytiques), US 07 (Jachère) pour leur appui technique et logistique.

Mes remerciements vont aussi aux Professeurs M. Diop Sall et Bocar S. Galledou et le Dr. Jean Lorquin qui m'ont initié à la recherche.

Enfin, à toutes les personnes qui m'ont entouré, conseillé et supporté et que je regretterai de ne pas avoir citées, j'exprime ici tous mes remerciements.

Je ne saurai oublier mes frères et sœurs, mes beaux-parents, mes belles-sœurs, beaux-frères et mes amis qui, de près ou de loin, par leur incessants encouragements et prières, ont pu dissiper mes doutes quand à la finalité de ces recherches.

A ma femme, je dirai simplement: merci pour ton Amour...

Je dédie cette thèse à mes bien aimés Père et Mère, décédés avant de voir le fruit de leurs sacrifices. Paix sur leur âme. Amin

SOMMAIRE

SOMMAIRE

CHAPITRE I : INTRODUCTION GENERALE 4

PREMIÈRE PARTIE: PROBLÉMATIQUE, OBJECTIFS ET PLAN DE LA THÈSE 4

I- PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS DU TRAVAIL DE THESE4

II- PLAN DE LA THESE7

DEUXIÈME PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 10

QUALITE BIOCHIMIQUE DES RESIDUS VEGETAUX11

LES ACTEURS MICROBIENS DU SOL.....15

DECOMPOSITION DES RESIDUS VEGETAUX17

1- *Influence des facteurs physiques*17

2- *Influence de la composition biochimique des substrats organiques*18

3- *Influence des populations microbiennes*.....20

CHAPITRE II : INFLUENCE DE LA NATURE DES INTRANTS ET LA DISPONIBILITÉ EN N SUR LA MINÉRALISATION DE C ET N..... 22

PREMIÈRE PARTIE : RÉPONSES RESPIRATOIRES PAR RAPPORT À DIFFÉRENTS TYPES D'APPORTS DE COMPOSÉS SIMPLES ET COMPLEXES..... 24

1. INTRODUCTION.....25

2. MATERIEL ET METHODES26

2.1. *Le sol*.....26

2.2. *Les traitements et l'incubation*.....26

2.3. *Les analyses*27

3. RESULTATS28

4. DISCUSSION30

5. CONCLUSION.....32

DEUXIÈME PARTIE: MICROBIAL ACTIVITIES DURING THE EARLY STAGE OF LABORATORY DECOMPOSITION OF TROPICAL LEAF LITTERS: THE EFFECT OF INTERACTIONS BETWEEN LITTER QUALITY AND EXOGENOUS INORGANIC NITROGEN 33

1. INTRODUCTION.....35

2. MATERIAL AND METHODS36

2.1. *Soil*36

2.2. *Plant litter materials*.....36

2.3. *Soil incubation*36

2.4. *Analytical procedures*37

2.4.1. *Litter quality analysis*37

2.4.2. *Microbial CO₂ respiration*.....37

2.4.3. *Soil inorganic N*.....38

2.4.4. *Microbial biomass*38

2.4.5. *Enzyme activities*.....38

2.6. Statistics	38
3. RESULTS	39
3.1. Initial litter composition	39
3.2. Microbial CO ₂ evolution.....	39
3.3. Soil inorganic N.....	40
3.4. Soil microbial biomass and enzymes activities.....	41
4. DISCUSSION	43
4.1. Early stage of decomposition.....	43
4.2. Mid-term decomposition.....	44
4.3. Effect of exogenous inorganic N.....	45
5. CONCLUSION.....	46
CONCLUSIONS PRELIMINAIRES CHAPITRE II.....	47

CHAPITRE III : RELATIONS ENTRE LA STRUCTURE DES COMMUNAUTÉS, LA DIVERSITÉ DES FONCTIONS CATABOLIQUES ET LA MINÉRALISATION DE C ET N 48

1. INTRODUCTION.....	52
2. MATERIAL AND METHODS	53
2.1. Study site and experimental method	53
2.2. Initial parameter measurements	54
2.2.1. Microbial biomass	54
2.2.2. Genetic diversity	54
2.2.3. Catabolic diversity.....	55
2.3. Soil incubation	55
2.3.1. Incubation method	55
2.3.2. Analyses	56
2.4. Calculations and statistical analysis	56
3. RESULTS	56
3.1. Initial characterization of the soils.....	56
3.2. C and N mineralization.....	58
3.3. Enzyme activities.....	60
4. DISCUSSION	60
5. CONCLUSION.....	63
CONCLUSIONS PRELIMINAIRES CHAPITRE III.....	65

CHAPITRE IV : DÉCOMPOSITION DE RÉSIDUS MARQUÉS ¹³C¹⁵N EN SOL TROPICAL SABLEUX : EFFET DE LEUR COMPOSITION BIOCHIMIQUE ET DE LA DISPONIBILITÉ EN AZOTE SUR L'ACTIVITÉ ET LA DIVERSITÉ MICROBIENNE 65

PREMIÈRE PARTIE : INTERACTION BETWEEN BIOCHEMICAL COMPOSITION AND N CONTENT OF LABELED RESIDUES ON DECOMPOSITION PROCESS AND SUBSEQUENT PRIMING EFFECT IN A TROPICAL SANDY SOIL: EFFECT OF INORGANIC N SUPPLY 69

1. INTRODUCTION.....	70
2. MATERIAL AND METHODS	71
2.1. Soil sampling.....	71
2.2. Plant residues.....	71
2.3. Soil incubation	72
2.4. Carbon and nitrogen analyses.....	73

2.5. Calculations	73
3. RESULTS	74
3.1. C-CO ₂ mineralization	74
3.2. Dynamics of residues-derived ¹³ C in the soil fractions	75
3.3. ¹³ C balance and priming effect	76
3.4. Dynamics of mineral nitrogen in soils	76
4. DISCUSSION	78
4.1. Effect of residue quality on C dynamics	78
4.2. Effect of residue and soil N availability.....	80
 DEUXIÈME PARTIE :EFFET DE LA QUALITÉ DES RÉSIDUS ET DE L'AZOTE MINÉRAL EXOGÈNE SUR LES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES ET LA DIVERSITÉ DES STRUCTURES DES COMMUNAUTÉS MICROBIENNES	
82	
1. INTRODUCTION.....	83
2. MATERIAL AND METHODS	83
2.1. Soil incubation	83
2.2. Activités chitinase et β-glucosidase	84
2.3. Dénombrement des bactéries et champignons.....	84
2.4. Diversité des structures génétiques	85
3. RESULTS	86
3.1. Activités enzymatiques	86
3.2. Dénombrement des bactéries et champignons.....	87
3.3. Diversité des structures génétiques	87
4. DISCUSSION	88
4.1. Dynamique des communautés.....	88
4.2. Effet de N minéral exogène	90
CONCLUSIONS PRÉLIMINAIRES CHAPITRE IV	92
 DISCUSSION GENERALE.....	
93	
 CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	
105	
 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	
108	

CHAPITRE I

PREMIERE PARTIE: PROBLEMATIQUE, OBJECTIFS ET PLAN DE LA THESE

I- Problématique et objectifs du travail de thèse

La biodégradation des matières organiques est un processus complexe qui met en jeu divers facteurs liés à la nature des substrats, des communautés microbiennes (abondance, état physiologique – dormant versus actif, diversité) et du milieu où interviennent ces processus. L'état des connaissances des effets de chacun de ces facteurs n'est pas uniforme, les travaux de la littérature portent en effet, en majorité, sur les effets de leur composition biochimique. Par ailleurs, très peu d'études ont mis en œuvre une démarche dédiée à la prise en compte conjointement de l'ensemble de ces facteurs.

Les tissus végétaux contiennent en proportion variable des composés simples (sucres, acides aminés et organiques...) et des composés complexes (cellulose, protéines, polyphénols, lignine...). Ces différents composés biochimiques entrent dans la constitution des différents tissus végétaux dans lesquels ils co-existent en quantités variables. La composition biochimique des végétaux en décomposition est généralement donnée avec des approximations plus ou moins variables selon la méthode utilisée. Plusieurs auteurs ont élaboré des modèles de bio-transformation du carbone et de l'azote dans le sol, en représentant les résidus végétaux par un ou plusieurs compartiment(s) (facilement dégradable(s), structural (aux), récalcitrant(s)) dont les caractéristiques sont plus ou moins dépendantes de la composition biochimique de chacun de ses compartiments (McGill et al., 1981; Molina et al., 1983; Parton et al., 1987; Néel, 1996; Thuriès et al., 2002).

Cependant, l'importance des différents composés contenus dans ces compartiments n'est pas clairement établie. Darwis (1993) a montré que dans le sol, la dégradation de ces composés s'effectue simultanément, mais à des vitesses différentes. Ces composés sont dégradés par les micro-organismes qui mettent en œuvre des systèmes enzymatiques complexes adaptés à ces différents substrats organiques. Bien que des interactions entre ces composés dans les résidus

sont admises, les réponses microbiologiques sont rarement étudiées en détail. La réponse microbiologique globale enregistrée lors d'un apport de résidu organique dépend donc de la complexité du substrat que représente le résidu pour les micro-organismes du sol.

De nombreux travaux ont permis de délimiter les domaines d'activités des micro-organismes du sol en fonction des caractéristiques physico-chimiques comme le pH, la teneur en eau, l'aération, la texture, la température, etc... Plus récemment, des travaux ont souligné l'importance du statut minéral du sol (disponibilité P, N...) dans les processus de décomposition des apports organiques. La présence d'azote minéral peut, en fonction de la composition biochimique des résidus, stimuler ou ralentir leur décomposition. En effet, Mary et al. (1996) ont montré que les cycles du carbone et de l'azote sont fortement couplés pendant la dégradation des litières, principalement en raison de l'assimilation simultanée de C et N par la microflore hétérotrophe des décomposeurs. Les besoins en N sont déterminés par le flux de C et le rapport C/N des décomposeurs. Les sources d'azote pour la microflore peuvent être le matériel végétal lui-même, l'azote minéral du sol et l'azote microbien après recyclage. La minéralisation et l'immobilisation de l'azote agissent sur la disponibilité de l'azote minéral du sol. Recous et al. (1995) ont établi qu'il existe un seuil de disponibilité en azote minéral au-dessous duquel la minéralisation du C est contrôlée par l'azote.

La minéralisation de C et N est souvent analysée de manière spécifique selon des processus physiques ou biochimiques faisant intervenir ou non la respiration de maintenance, la croissance et la mort des micro-organismes (Néel, 1996; Gignoux et al., 2001; Thuriès et al., 2002). Il n'est pas tenu compte suffisamment des acteurs biologiques et leur diversité, particulièrement de la communauté microbienne, de ses caractéristiques structurales et fonctionnelles. Les micro-organismes hétérotrophes du sol, les bactéries et les champignons, constituent des communautés complexes responsables de la décomposition des résidus végétaux. La richesse spécifique de ces micro-organismes est encore mal connue. Cependant, dans un échantillon de sol, il existe plusieurs milliers d'espèces de champignons et de bactéries (Swift et al., 1979). Une des conséquences de cette diversité microbienne est la diversité de leur activité métabolique. Ainsi, les champignons sont reconnus pour leur capacité à dégrader les substrats organiques pauvres en azote (donc à C/N élevé) alors que les bactéries sont les organismes clés pour la dégradation des résidus de forte teneur en N. Les composés facilement dégradables tels que les sucres, les protéines et les acides organiques, sont utilisés par la plupart des micro-organismes, alors que ceux difficilement dégradables ne sont métabolisés que par un nombre limité d'espèces microbiennes. La spécificité des

substrats classe alors les micro-organismes selon le concept de sélection r et K (Pianka, 1970). Les micro-organismes qui prolifèrent rapidement après ajout de composés facilement dégradables sont appelés r-stratégistes, ceux à croissance lente et qui décomposent la matière organique récalcitrante sont appelés K-stratégistes. La décomposition dépend du choix nutritionnel des micro-organismes et de l'équilibre entre les communautés microbiennes. Il convient dès lors de tenir compte du rôle important de ces micro-organismes, de leur diversité fonctionnelle et de la structure et la dynamique de leurs populations.

Dans la zone tropicale semi-aride du Sénégal, les systèmes agricoles traditionnels consistaient en des rotations alternant des phases de culture avec des phases de jachère (Nye et Greenland, 1960). Cette période sans culture, au cours de laquelle la végétation naturelle, ligneuse et herbacée, se développe, a pour objectif une régénération des propriétés des sols, altérés par les cultures successives.

Cependant, l'évolution démographique récente et le recours à des cultures de rentes ont bouleversé les pratiques traditionnelles : diminution des périodes et des surfaces dédiées à la jachère, fragilisation de la production agricole, augmentation des coûts de production pour l'achat d'intrant. Dans ce contexte, les amendements organiques (litières et résidus de récolte) constituent un moyen pour pallier la réduction des temps de jachère et donc de restaurer le potentiel agronomique des sols (Hoefsloot et al., 1993; Szott et al., 1994).

Par ailleurs, la réduction de la pluviométrie est devenue un facteur limitant de la production agricole. Les pluies, confinées entre les mois de juillet et septembre sont erratiques et violentes. Une des conséquences est un lessivage élevé des nutriments destinés à la plante. Face à la difficulté de former des réservoirs de fertilité avec ces sols sableux dans ces conditions, la disponibilité immédiate des nutriments est importante sur des cycles culturaux très courts (1 à 4 mois). D'où l'importance d'améliorer la fertilité ponctuelle.

La compréhension des mécanismes et des déterminants de la décomposition des amendements organiques dans les étapes initiales est au centre de cette étude.

Ce travail de thèse se propose d'étudier l'influence de la qualité biochimique des résidus végétaux sur l'activité et la diversité des micro-organismes au cours des processus de décomposition dans un sol sableux tropical. Il s'agit de démontrer l'influence de la qualité des résidus végétaux en association ou non avec une fertilisation minérale azotée sur les flux de C et N en précisant le rôle des micro-organismes du sol.

Notre hypothèse de travail est la suivante :

*Les flux d'azote et de carbone issus des processus de décomposition des résidus végétaux
dépendent de la relation Substrat organique – Microorganisme du sol*

En conséquence, cette relation « bijective » se décline en trois sous hypothèses :

- 1) La composition biochimique des résidus végétaux détermine l'activité et l'abondance des micro-organismes,
- 2) La réponse de la communauté microbienne à l'ajout d'un substrat organique dépend de ses caractéristiques : diversité et abondance,
- 3) La disponibilité en azote (minéral) est un élément « modulateur » de « l'effet qualité » des résidus végétaux.

La démarche adoptée dans ce travail s'apparente à une démarche écosystémique. Nous considérons que le bilan global du fonctionnement d'un système ne résulte pas uniquement de la somme des processus intervenant au niveau des unités « élémentaires » constitutives de ce système. Ce fonctionnement dépend aussi des interactions entre ces unités.

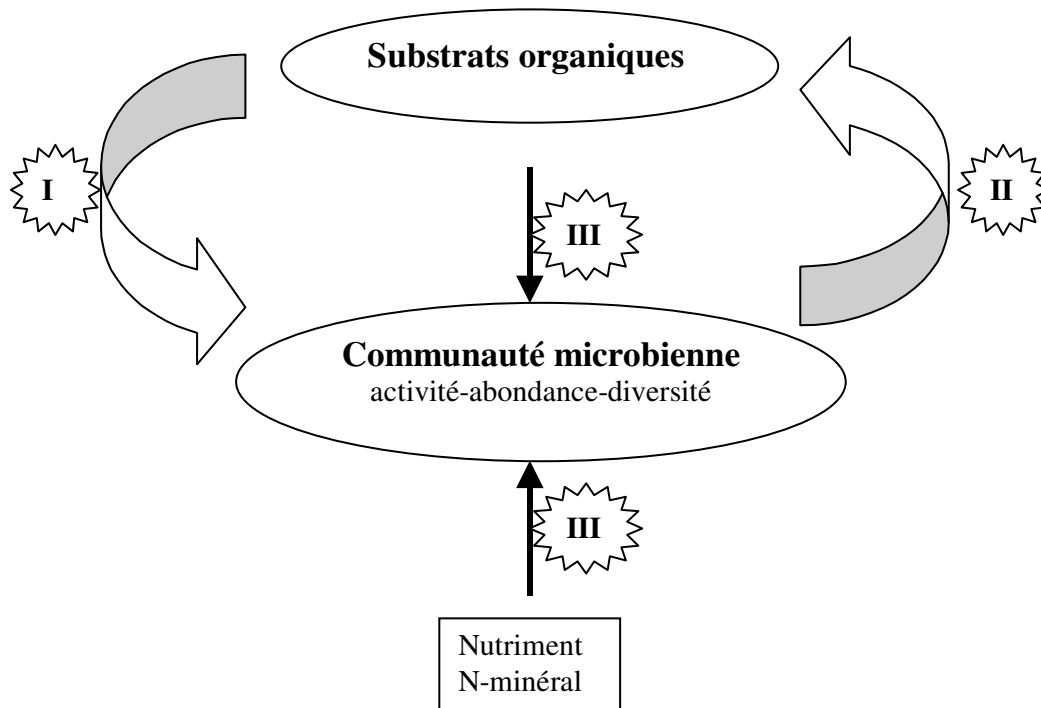
Dans ce travail, concernant le système sol – résidus végétaux, deux unités sont considérées :

- Le résidu, constitué en sous unités identifiées aux composés biochimiques tels que les sucres, les phénols, la cellulose, la lignine...
- La communauté microbienne.

Cette étude prend en compte les interactions entre ces unités en présence ou non d'une source d'azote minéral exogène.

II- Plan de la thèse

Les travaux que nous avons développés dans ce mémoire présenté sous forme d'articles publiés ou soumis pour publication, s'articulent autour de trois chapitres selon le schéma suivant:



- Le chapitre (II) a étudié l'influence de la nature des intrants (qualité biochimique) sur la vitesse de décomposition. Ce chapitre est divisé en deux parties. Dans une première partie, l'effet de différents composés biochimiques simples et complexes (glucose, histidine, acide gallique, amidon et acide tannique) ajoutés seuls ou en mélange (deux composés) a été comparé à celui d'un extrait soluble de litière (*Faidherbia albida*). Ensuite, une deuxième partie a étudié l'activité microbienne suite à l'apport de diverses litières végétales (litières de *Faidherbia albida*, *Casuarina equisetifolia* et *Andropogon gayanus*). L'impact d'une source exogène d'azote a été testé dans ce volet. Les litières choisies sont représentatives des principales formations végétales rencontrées dans les systèmes agricoles paysans au Sénégal.

- Le chapitre (III) étudie l'impact des caractéristiques de la communauté microbienne sur les flux d'azote et de carbone. Nous tentons d'établir les relations existant entre la diversité de structure des communautés, la diversité des fonctions cataboliques et la décomposition. La réponse de différents sols à l'ajout du même résidu organique a été étudiée.

- Le chapitre (IV) détermine l'influence de la composition biochimique des résidus et d'une source supplémentaire d'azote minéral sur l'activité et la diversité microbienne durant les processus de décomposition de résidus de colza marqués $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ en sol tropical sableux. Dans une première partie de ce chapitre, les flux de C et N ont été déterminés ainsi que la

dynamique d'incorporation du C et N dans les fractions fines du sol. L'influence de la qualité des résidus sur la stimulation de la décomposition de la matière organique stabilisée, appelée « Priming Effect » et les variations de stock de C sont aussi déterminées dans cette partie. Une deuxième partie a permis d'étudier l'effet de la qualité des mêmes résidus sur la dynamique des communautés microbiennes pendant la décomposition.

DEUXIEME PARTIE: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Le sol représente la couche superficielle de l'écorce terrestre à l'interface entre la lithosphère et l'atmosphère. Il joue un rôle de premier plan dans les cycles biogéochimiques et il est un support et une ressource de base pour les activités humaines. Le sol est composé de particules minérales de taille variable, non consolidées (entre 93 et 95 % du poids total), mélangées à des substances organiques à différents stades de décomposition. La matière organique joue un rôle crucial dans le fonctionnement physique, chimique et biologique du sol. Elle assure le maintien de la structure et la stabilité des sols, en participant aux processus d'agrégation. Elle constitue un réservoir de substances nutritives pour la microflore et les plantes. Cette matière organique provient des organes (feuilles, racines...) des résidus de récolte et litières des formations végétales, mais aussi des molécules organiques excrétées par les racines dans le sol, c'est-à-dire de la rhizodéposition. Elle inclut également la masse des organismes, vivants ou morts, colonisant les sols.

En Afrique de l'Ouest, l'utilisation des amendements organiques pour améliorer le rendement et la qualité des productions agricoles, est une pratique traditionnelle. La gestion de la fertilité des sols tropicaux dans les systèmes agricoles traditionnels, comme les parcs agroforestiers, est basée sur des apports annuels de matières végétales sous forme de litières (chute des feuilles des arbres disséminés dans les champs), de résidus de récolte (paille de céréales, fane d'arachides et de niébés) et des amendements organiques divers (fumiers, composts). La décomposition de tous ces débris végétaux constitue non seulement la principale source de nutriments pour les cultures, mais représente également une source importante de composés organiques participant à la stabilisation des particules minérales. La compréhension des mécanismes entraînant la décomposition de cette matière organique et son stockage dans le sol permet de mieux appréhender les cycles biogéochimiques du carbone et de l'azote et le rôle de ces cycles dans les fonctions agricoles et environnementales des sols.

Il convient dès lors d'apprécier de façon précise les déterminants physiques, chimiques et biologiques de la décomposition de ces débris végétaux afin de mieux maîtriser voire contrôler le fonctionnement des sols.

Les processus de décomposition sont influencés par de nombreux facteurs biotiques et abiotiques variables selon le type et la qualité du matériel à décomposer (Swift et al., 1979). La qualité biochimique du matériel est l'un des facteurs qui déterminent l'abondance, la diversité et l'activité des populations microbiennes qui vont utiliser ces matériaux organiques

Qualité biochimique des résidus végétaux

Les végétaux sont composés d'un grand nombre de molécules, de complexité et de fonctionnalité diverses. La structure d'une cellule végétale peut être divisée en 2 principales parties (figure 1): un protoplaste contenant le noyau et le cytoplasme et, une paroi relativement rigide contenant une structure moléculaire très complexe (Jarrige et al., 1995). Ces parties ont des compositions biochimiques différentes.

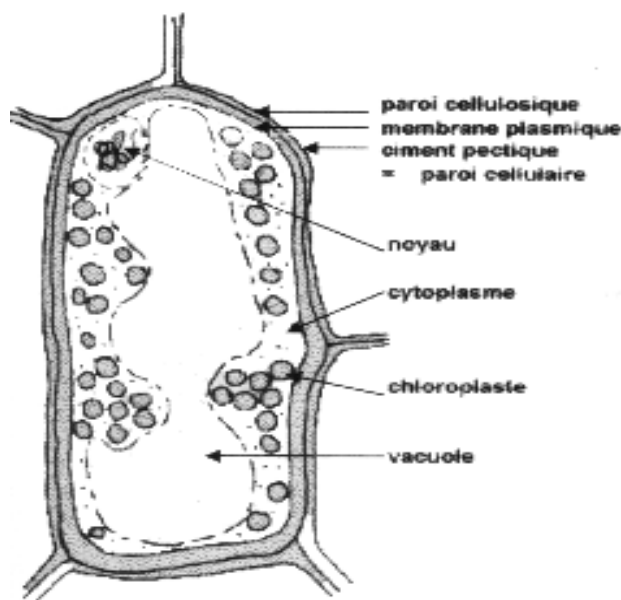


Figure 1: Schéma d'observation d'une cellule végétale

1- Les composés du protoplaste

Les carbohydrates simples (glucose, sucrose, fructose) sont trouvés dans la cellule du protoplaste. En plus de leur fonction de réserve, ces composés sont essentiels pour l'osmorégulation des cellules végétales (Kögel-Knabner, 2002). La concentration de ces

composés dans le matériel végétal varie considérablement selon l'âge du végétal, l'organe du végétal et l'espèce végétale considérée.

L'amidon est un important polysaccharide de réserve. Il est constitué d'unités d' α -D-glucose qui sont reliées par des liaisons glucosidiques. L'amidon est composé de deux molécules de haut poids moléculaire : l'amylose et l'amylopectine. L'amylopectine se distingue de l'amylose par les liaisons $\alpha(1-6)$ glucosidiques. Leur proportion varie selon le matériel végétal considéré. L'amidon du sorgho contient 70 à 80% d'amylopectine et 20 à 30% d'amylose, alors que le sorgho cireux est très pauvre en amylose et est pratiquement constitué à 100% d'amylopectine. L'amidon est facilement dégradé par les microorganismes en milieux aérobies et anaérobies.

Les protéines sont les constituants essentiels de toute cellule vivante. Elles représentent les composés organiques azotés majeurs du protoplasme. Elles sont constituées de polypeptides de poids moléculaires élevés. Les protéines peuvent être simples (constituées uniquement de longues chaînes d'acides aminés) ou complexes (constituées aussi de glucides, de lipides ou d'acides nucléiques). Les protéines provenant aussi bien des tissus végétaux que microbiens peuvent être décomposées par la plupart des micro-organismes et sont considérées comme les substances biochimiques des végétaux les moins stables, caractérisées par une forte décomposabilité.

2- Les composés de la paroi végétale

La cellulose est le constituant le plus abondant et assure la protection et le soutien dans les organismes végétaux. La cellulose est un homopolysaccharide composé d'unités β -D-glucopyranose liées entre elles par une liaison $\beta(1-4)$ glucosidique. Le degré de polymérisation est supérieur à 10000 unités par molécule chez les plantes supérieures (Kögel-Knabner, 2002).

La molécule de cellulose est complètement linéaire et forme des liaisons hydrogènes intra et intermoléculaires. Les « paquets » de molécules de cellulose sont agrégés entre eux pour former des microfibrilles dans lesquelles certaines régions sont hautement ordonnées (zones cristallines) et d'autres moins (zones amorphes). Ces caractéristiques structurales font de la cellulose un composé insoluble à la fois dans les solvants organiques classiques et dans l'eau. En général, la décomposition de la cellulose est effectuée lentement dans les sols en condition

d'aérobie (Martin et Haider, 1986). L'hydrolyse enzymatique de la cellulose est obtenue par l'action de complexes cellulases des micro-organismes. Parmi les décomposeurs, les champignons sont efficaces pour sa décomposition complète. Les bactéries produisent surtout des enzymes qui agissent sur les étapes finales de la dépolymérisation de la cellulose (Kögel-Knabner, 2002).

Les hémicelluloses sont des hétéropolysaccharides de la membrane cellulaire des végétaux de composition variable. Ils sont formés principalement d'unités de pentose, d'hexose, de déoxyhesose et d'acide uronique. Les hémicelluloses sont généralement composées de chaînes linéaires de β -(1-4) D-xylose portant de courtes chaînes latérales avec un degré de polymérisation plus faible que la cellulose, environ 100 à 200 unités. Parmi les hémicelluloses, le xylane est le plus abondant et représente 5 à 30% des polysaccharides des bois. La composition des hémicelluloses est différente d'un tissu à un autre et d'une espèce végétale à une autre (Joseleau, 1980).

Les hémicelluloses sont plus solubles que la cellulose. Ils sont décomposés par plusieurs bactéries et champignons anaérobies et aérobies. Leur vitesse de décomposition est plus élevée que celle de la cellulose (Swift et al., 1979). Très tôt, des travaux ont isolé l'hémicellulose et ont montré que sa dégradation varie en fonction des espèces végétales (Dehority, 1967). Les différences de vitesse de décomposition des hémicelluloses sont étroitement liées aux différences de composition chimique.

La lignine est un polymère aromatique tridimensionnel, amorphe et insoluble dans l'eau, provenant de la polymérisation oxydative des alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique. Ces unités sont reliées entre elles par des enchaînements sans répétition régulière (Adler, 1977), mettant en jeu diverses liaisons: carbone-oxygène, par exemple entre un carbone de la chaîne ou du noyau aromatique et l'oxygène phénolique; carbone-carbone, entre carbone de la chaîne propanique et carbone du noyau aromatique d'une autre unité, ou entre carbones de noyaux aromatiques appartenant à deux unités monomères différentes. La multiplicité des unités de base, des types de liaisons et des combinaisons détermine un grand nombre de structures encore mal connues (Monties et Lapierre, 1981). Ainsi, les teneurs relatives en monomères coniféryliques et sinapyliques peuvent déterminer le type de lignine. Les lignines des Gymnospermes contiennent plus de 90% d'unités gaïacyles (provenant de l'alcool coniférylique). Les lignines d'Angiospermes sont formées approximativement de proportion égale de Gaïacyle et de Syringyle (provenant de l'alcool sinapylique).

La lignine est particulièrement résistante à la décomposition par les micro-organismes. Sa biodégradation est un processus oxydatif réalisé uniquement en condition d'aérobie (Kirk et Farrel, 1987). Les champignons de pourriture blanche, principaux décomposeurs du bois, sont susceptibles de décomposer complètement la lignine (Hammel, 1997). D'autres champignons comme les pourritures moelles induisent des réactions de décomposition de la lignine, notamment par déméthylation (élimination de CH_3) et coupures de liaisons dans ou hors des cycles aromatiques (Hammel, 1997; Chesson, 1997). Dans le sol, la décomposition de la lignine est probablement réalisée par synergie de complexes enzymatiques des micro-organismes décomposeurs (Kögel-Knabner, 2002).

En dehors de ces composés généralement mis en évidence dans la littérature, les végétaux contiennent aussi des tanins. Ces composés, appelés aussi polyphénols, rencontrés dans les végétaux supérieurs, spécialement dans les dicotylédones, sont divisés en deux groupes, les tanins hydrolysables (gallotanins et ellagitanins) et les tanins condensés ou cathéchiques. Ces polyphénols jouent un rôle très important de protection des plantes contre les phytoparasites et sont aussi considérés comme des constituants essentiels contrôlant la décomposition des végétaux dans le sol (Swift et al., 1979; Palm et Sanchez, 1991).

Par ailleurs, certains groupes hétérogènes, tels que les lipides, la cutine et la subérine ne sont pas toujours pris en compte dans les études de décomposition, mais ils jouent des rôles importants dans la décomposition des résidus végétaux. Les lipides sont des composés organiques insolubles dans l'eau. Ils sont présents aussi bien chez les plantes que chez les micro-organismes (Kögel-Knabner, 2002). La cutine et la subérine sont présentes dans les racines et leurs proportions augmentent en fonction de la profondeur du sol (Riederer et al., 1993). Bien que la concentration de ces composés soit beaucoup plus faible que celle des carbohydrates et des protéines dans les végétaux, elles constituent de véritables barrières entre la plante et son environnement extérieur (Kolattukudy, 1981).

Les différents composés biochimiques des végétaux ne sont pas à l'état libre, mais sont étroitement liés par des liaisons hydrogènes, ioniques ou covalentes pour former des structures plus ou moins rigides (Joseleau, 1980). Chesson (1997) a montré que la biodégradabilité des matières végétales dépend surtout de la nature de ces structures moléculaires, plutôt que des proportions relatives des constituants pariétaux. La paroi cellulaire végétale étant constituée de microfibrilles incluses dans une matrice de pectines,

d'hémicelluloses et de lignine (figure 2), la dégradation de l'un ou l'autre des composés a une forte incidence sur les autres.

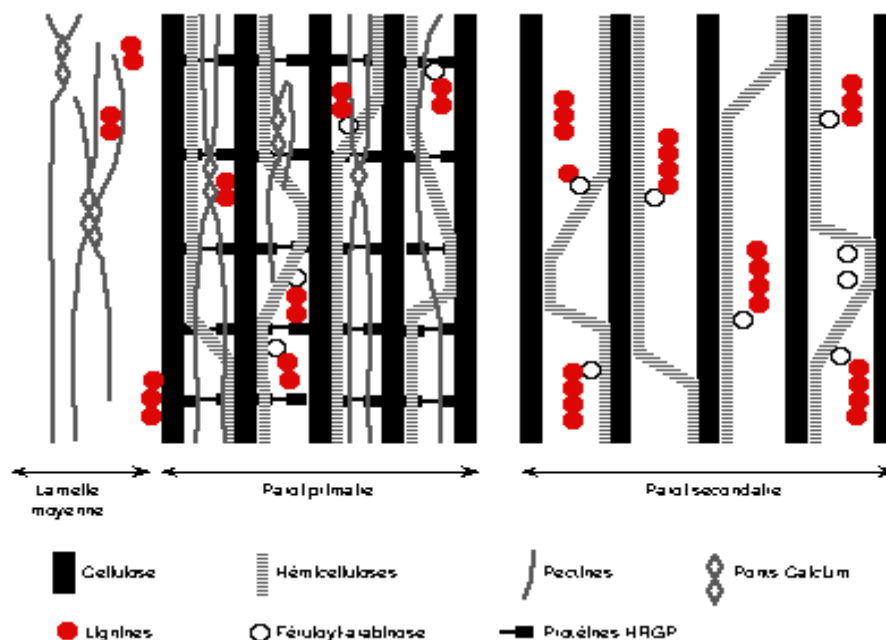


Figure 2: Les différentes parties de la paroi d'une cellule lignifiée. Protéines HRGP : glycoprotéines riches en hydroxyproline. Le féruloyl-arabinose établit des liens entre lignines et hémicelluloses (Grenet, 1997).

Les acteurs microbiens du sol

La quasi-totalité des organismes du sol se développe aux dépens de la matière organique. Ils participent au recyclage de la matière organique et à la minéralisation du carbone et des nutriments contenus dans les sols. Ils contrôlent les cycles des bioéléments (Paul et Clark, 1989) particulièrement ceux du carbone, de l'azote, du phosphore et du soufre. Ces organismes constituent des communautés complexes formées de la microflore (bactéries et champignons) et de la faune du sol (termites, arthropodes, protozoaires...). Swift et al., (1979) proposent un modèle de classification de ces organismes vivants du sol selon leur taille : les organismes de taille supérieure au cm (la macrofaune); les organismes de taille comprise entre « 200 µm et 1 cm » (la microfaune) ; et les organismes microscopiques (les micro-organismes).

La participation active de la faune du sol à l'organisation physico-chimique des constituants du sol et au maintien des propriétés édaphiques a été montrée par plusieurs travaux. La faune

du sol est principalement responsable de la redistribution et de l'organisation des constituants organiques et minéraux du sol et la formation de structures physico-chimiques comme les galeries et les agrégats (Lavelle, 1997). Les éléments de la faune du sol consomment et transforment la matière organique et contribuent à la biodégradation et l'humification des résidus organiques. Leur activité libère des enzymes qui fragmentent les molécules complexes en molécules simples (Tian et al., 1995).

Les micro-organismes (bactéries, champignons et actinomycètes) sont les principaux acteurs de la décomposition des résidus végétaux.

Les bactéries : elles prolifèrent surtout dans les milieux riches en azote, à pH neutre ou légèrement alcalin et à température variant entre 20 et 40°C. Elles sont très abondantes dans la rhizosphère de certaines plantes (graminées et légumineuses) et possèdent une grande diversité spécifique et fonctionnelle. Les bactéries hétérotrophes et saprophytes sont les plus nombreuses. Les cellules bactériennes ont besoin des minéraux de base (carbone, azote, phosphore, soufre, divers autres éléments minéraux) pour leur métabolisme et leur croissance cellulaire. Cependant, certaines bactéries sont aussi capables d'utiliser le carbone sous forme minérale CO_2 (autotrophes). Elles interviennent particulièrement dans les processus d'oxydoréduction (Paul et Clark, 1989). Dans le sol, l'azote assimilable par les plantes (NH_4^+ , NO_3^-) est produit lors des processus d'ammonification, de nitrification, de dénitrification et de fixation d'azote par l'action des bactéries *Nitrosomonas*, *Nitrobacter*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Azotobacter*. D'autres bactéries comme les *Pseudomonas*, jouent un rôle important dans la solubilisation et la minéralisation des phosphates organiques. Par ailleurs, les bactéries interviennent aussi dans la structuration du sol en initiant la formation et la stabilisation de micro-agrégats, en sécrétant des polysaccharides qui jouent le rôle de ciment entre les particules minérales.

Les champignons : ils sont généralement filamenteux, mais peuvent aussi être unicellulaires (les Levures). Ils jouent un rôle très important pour le recyclage des nutriments lors des processus de décomposition des résidus dans de nombreux écosystèmes (Swift, 1976). Ce rôle s'exerce surtout dans la phase de décomposition de la matière organique fraîche, qui précède l'humification.

Quatre principaux groupes sont généralement rencontrés dans le sol : les Zygomycète, les Ascomycète, les Basidiomycète et les Deuteromycète. Ils diffèrent par la structure de leur mycélium et leurs organes reproductifs. Par leur capacité à synthétiser des

polyphénoloxydases (laccases, tyrosinases, peroxydases), certaines espèces de champignons sont les principaux agents biologiques de la dégradation des polyphénols et de la lignine. D'autres champignons peuvent être en symbiose avec les racines des plantes pour former des mycorhizes et favoriser leur nutrition et leur croissance (Read, 1991).

Les actinomycètes ou Eubactéries ramifiées : ce sont des bactéries gram-positifs à l'exception de celles de la famille Sphaerophoraceae. Les actinomycètes forment des filaments ramifiés de diamètre plus petit que ceux des champignons (0.5 à 1 µm). Elles tolèrent très peu les sols à pH acide (Dommergues et Mangenot, 1970). Dans le sol, les genres les plus fréquents, *Streptomyces* et *Nocardia* sont particulièrement aptes à décomposer les substances difficilement décomposables. Elles jouent également un rôle important dans l'humification.

Décomposition des résidus végétaux

La décomposition des résidus végétaux met en oeuvre des processus de transformation complexes et dont l'intensité est déterminée par de nombreux facteurs parmi lesquels les caractéristiques du milieu où interviennent ces processus, la qualité biochimique des composés organiques et la nature des communautés microbiennes impliquées et leur état physiologique. L'action de ces différents facteurs varie dans le temps et dans l'espace.

1- Influence des facteurs physiques

L'humidité du sol est l'un des facteurs physiques les plus importants affectant les micro-organismes. L'humidité conditionne à la fois l'activité microbienne, la mobilité des organismes du sol et la diffusion des gaz, des solutés et des nutriments (Paul, 1992). Dans une étude *in situ* conduite dans un sol ferrugineux tropical, Bernhard-Reversat (1981) a montré que la minéralisation de l'azote augmente rapidement lorsque le sol est humecté sous l'effet des premières pluies. Ensuite cette activité se stabilise pour des teneurs en eau variant entre 3 et 15% de sol sec.

La température influence l'activité des micro-organismes selon une loi de type exponentiel (Jenkinson et Ayanaba, 1977). La température optimale de décomposition dépend aussi de l'humidité du sol (Bernhard-Reversat, 1981). Cependant, cette relation entre l'activité microbienne et la température est parfois controversée. En effet, la relation positive entre la

température et l'activité des organismes du sol a été montrée dans les étapes initiales de la décomposition de résidus végétaux fraîchement apportés au sol. En revanche, certains travaux ont montré que cet effet est négligeable sur le long terme (Nadelhoffer et al., 1991; Winkler et al., 1996).

La présence dans les sols en général de particules organiques et minérales ayant des charges de surface opposées est favorable à la formation d'agrégats organo-minéraux. Ces agrégats, de stabilité variable, délimitent des pores dont la taille et l'abondance sont déterminées par la taille et la forme des agrégats. L'arrangement de ces agrégats et de ces vides définit la structure des sols (Brewer, 1976). Certains travaux relatent l'importance de l'organisation spatiale des particules minérales et des vides associés dans la décomposition des substrats organiques et la synthèse microbienne (Amato et Ladd, 1992; Chotte et al., 1998). Cependant dans les sols à texture sableuse, l'agrégation est faiblement corrélée à la biomasse microbienne (Bossuyt et al., 2001). Dans ces sols, seuls les hyphes des champignons sont capables de relier les particules abondante de sable pour former des agrégats stables. La stabilité des agrégats y est liée à la biomasse fongique.

2- Influence de la composition biochimique des substrats organiques

La décomposition des résidus végétaux dépend fortement de leur composition biochimique. Plusieurs travaux ont tenté d'établir des relations mathématiques entre la qualité des apports et les vitesses de décomposition (Melillo et al., 1982; Vigil et Kissel, 1991; Constantinides et Fownes, 1994; Vanlauwe et al., 1996; Heal et al., 1997). Les critères de qualités généralement retenues sont les teneurs en azote, en phénol et en lignine.

Teneur en azote

De nombreuses études se sont attachées à définir l'impact des caractéristiques des composés organiques apportés au sol sur la cinétique de leur décomposition. La concentration en azote, est très souvent proposée comme indice de dégradabilité de ces intrants (Parr et Papendick, 1978; Herman et al., 1977). Spain et Hodgen (1994) ont montré que durant les processus de décomposition, le ratio C/N des litières et des résidus de récolte varie de manière identique, même si les échelles de temps diffèrent significativement du fait des facteurs intrinsèques et environnementaux. Lorsque les résidus ont des faibles teneurs en azote (ratio C/N élevé), l'azote est immobilisé par les micro-organismes et devient limitant pour l'activité microbienne. Swift et al. (1979) suggèrent que la valeur optimale théorique du ratio C/N des

substrats pour la croissance microbienne ne devrait pas dépasser 25, mais que toutes les bactéries et champignons peuvent décomposer les résidus de C/N plus élevé. A court terme, les résidus de C/N supérieur à 30 induisent une immobilisation nette (Stevenson, 1986), alors que ceux de C/N inférieur à 20 entraînent une minéralisation nette se traduisant par une augmentation de N minéral du sol. Cependant, Quemada et Cabrera (1995) ont montré qu'une minéralisation nette peut aussi apparaître pour des résidus de C/N > 20 et une immobilisation nette pour des résidus de C/N < 20. Ces résultats mettent en évidence l'importance de la disponibilité de l'azote du sol dans les processus de décomposition des apports organiques (Recous et al., 1995; Fog, 1988).

Teneur en lignine

Dans de nombreux écosystèmes forestiers, la vitesse de dégradation des litières est négativement corrélée à leur teneur en lignine (Coleman et al., 1989; Melillo et al., 1982). Néanmoins, cette teneur en lignine seule a été très peu retenue comme critère de décomposition, elle a été généralement associée à la teneur en N des litières. Ainsi, Berg et al. (1982) proposent d'utiliser le rapport lignine/N pour prédire la décomposabilité d'un résidu. Ce ratio peut être un bon indicateur de la disponibilité du C pour les micro-organismes. Les interactions entre la lignine et les constituants azotés peuvent rendre difficilement accessibles les composés assimilables par les micro-organismes. Lorsque la concentration en lignine augmente ou celle de N diminue, la vitesse de décomposition diminue (Müller et al., 1998). Cependant, dans les régions tropicales à forte température et humidité variable où la décomposition est précoce et rapide (Bernhard-Reversat, 1981), ce ratio ne peut prédire la décomposition.

Teneur en phénols

Dans les régions tropicales, les litières contiennent en général une forte teneur en phénols (Bernhard-Reversat, 1999). Plusieurs travaux ont montré que les phénols solubles ralentissent la minéralisation de l'azote sans modifier le cycle du C (Palm et Sanchez, 1991; Constantinides et Fownes, 1994; Bernhard-Reversat, 1999). Les phénols inhibent l'activité des micro-organismes (Duponnois et al., 2001). Par ailleurs ces composés en particulier les tanins, forment avec les protéines cytoplasmiques des complexes résistant à la décomposition (Toutain, 1987). De plus, l'accessibilité aux composés solubles tels que les carbohydrates et protéines peut être réduite par la présence de composés toxiques tels que certains phénols et résines (Mangenot et Toutain, 1980).

3- Influence des populations microbiennes

La contribution des micro-organismes, les bactéries et les champignons, est de loin la plus importante dans la respiration du sol (80 à 95% de la respiration totale) (Lavelle et Spain, 2001). Cependant, l'importance relative de chacun de ces acteurs reste encore floue.

Ces micro-organismes du sol se développent aux dépens de matières organiques formées de débris végétaux et d'exsudats racinaires. La structure des communautés microbiennes varie considérablement dans le temps et dans l'espace. Cette variation est en relation étroite avec les caractéristiques des populations, leur habilité à utiliser des substrats spécifiques, leur stratégie de colonisation du sol et les facteurs environnementaux.

Swift et al. (1979) ont relaté que l'évolution de la qualité biochimique de la ressource organique peut entraîner une succession de différentes communautés microbiennes en fonction de l'équipement enzymatique qu'elles possèdent. Cela s'explique par la disparition de certaines espèces lorsqu'elles ne peuvent plus s'adapter au changement de conditions créé par la libération de substrats différents. Une différence importante peut exister dans les stratégies de colonisation des résidus organiques. Généralement, la décomposition initiale d'un résidu végétal est effectuée par les micro-organismes considérés comme opportunistes alors que les dernières étapes sont marquées par la colonisation du résidu par des types microbiens qui métabolisent continuellement le stock des matières organiques des sols (Zvyagintsev, 1994). Ainsi, se définit dans la littérature, le concept des stratégies r et K (Pianka, 1970). Les micro-organismes qui prolifèrent rapidement après ajout de composés facilement dégradables sont appelés r-stratégistes. Ces micro-organismes à forte croissance, sont dominants dans les situations où les ressources organiques sont abondantes. Les champignons et les bactéries (e.g. *Aspergillus*, *Pseudomonas*, *Bacillus* et hétérotrophes similaires) qui métabolisent rapidement les composés facilement dégradables, tels que sucres simples, les acides aminés, l'amidon et les pectines du matériel végétal, sont des r-stratégistes. Ils subissent de fortes fluctuations et allouent une grande partie des ressources à leur multiplication. Ces organismes entrent en dormance ou disparaissent lorsque leurs substrats sont épuisés. Ils sont alors remplacés par des espèces bactériennes et fongiques à faible croissance et spécialisées dans la dégradation de composés récalcitrants. Ces espèces à croissance lente, appelées K-stratégistes, métabolisent lentement et continuellement la matière organique inépuisable du sol (Zvyagintsev, 1994). Ces micro-organismes sont en général plus nombreux dans les milieux pauvres en substrats organiques (Andrews et Hall, 1986) et par

conséquent, sont plus stables et permanent dans le sol. Leur faible croissance est le résultat d'une grande partie de leur énergie allouée à la production d'enzymes (Tate, 1995). Les Streptomycètes qui croissent lentement sur la matière organique complexe du sol sont des K-stratégistes, ainsi que les Basidiomycètes qui dégradent la cellulose et la lignine des litières forestières (Andrews et Hall, 1986).

De plus, la succession de la microflore est également le résultat de la compétition entre ces populations microbiennes qui peuvent devenir tour à tour dominantes sans pour autant éliminer les autres espèces. Dans ce cas, il apparaît une synergie entre les micro-organismes décomposeurs. C'est le cas de la dégradation de la cellulose par les champignons où les sucres simples formés sont à leur tour utilisés par d'autres bactéries du milieu. Ce qui conduit à une dégradation complète de la cellulose (Béguin et Aubert, 1994). De la même façon, la dégradation de la lignine, processus de co-métabolisme essentiellement aérobie, est effectuée par une microflore utilisant un autre substrat comme source d'énergie (Martin et al., 1980).

CHAPITRE II

CHAPITRE II

Influence de la nature des intrants et la disponibilité en N sur la minéralisation de C et N

Ce deuxième chapitre, présenté sous forme de deux parties, est consacré à l'étude des réponses microbiologiques par rapport à différents types d'apports de composés simples et complexes. L'objectif global est d'étudier les taux de décomposition et l'évolution du métabolisme des micro-organismes en présence ou non d'azote minéral exogène.

En effet, la nature du substrat est connue comme facteur important de la minéralisation de C et N. Cependant les litières en décomposition dans le sol contiennent en général des composés simples (sucres, acides aminés et organiques...) et des composés complexes (cellulose, protéines, polyphénols, lignine...) en quantités variables. Ces composés influencent de manière très complexe le métabolisme des micro-organismes. Il s'agit, dans la première partie de ce chapitre, de déterminer les taux de décomposition des substrats organiques constitués de molécule simple (glucose, histidine, acide gallique, amidon et acide tannique) ou de mélange de molécules simples (glucose plus histidine, acide gallique plus histidine, amidon plus histidine et acide tannique plus histidine) ou de mélange complexe de molécules simples (extrait soluble de litière). Notre approche permet de tester l'hypothèse concernant la décomposition des résidus végétaux comme la somme de décomposition de molécules organiques. En d'autres termes déterminer si la minéralisation de C est proportionnelle à la quantité et à la qualité des intrants.

Dans la deuxième partie, il s'agit d'étudier les étapes initiales de la décomposition de trois litières tropicales différentes (*Faidherbia albida*, *Casuarina equisetifolia*, *Andropogon gayanus*) et d'évaluer l'effet des interactions entre la qualité biochimique et l'apport exogène d'azote minéral sur les activités microbiennes. Nous avons fait l'hypothèse que la qualité biochimique détermine l'abondance et l'activité des micro-organismes. Les activités microbiennes ont été suivies et mises en relation avec les différentes formes de carbone présentes dans les fractions biochimiques des litières.

Les expérimentations ont été conduites avec des incubations en conditions contrôlées (température et humidité constantes). La minéralisation de C a été déterminée par

quantification du CO₂ périodique libéré par chromatographie en phase gazeuse, et la minéralisation de N par extraction et dosage de l'ammonium et du nitrate du sol.

Les activités enzymatiques des cycles du C, N et P (respectivement β -glucosidase, uréase et phosphatase) ainsi que l'abondance des micro-organismes (Fumigation-Extraction) ont été effectuées sur différents prélèvements au cours de l'incubation.

La deuxième partie de ce chapitre a fait l'objet d'un article paru dans la revue *Biology Fertility of Soils* :

Sall S., Masse D., Reversat F., Guissé A., Chotte J.L. (2003). Microbial activities during the early stage of decomposition of different tropical leaf litters: effect of the interaction between litter quality and exogeneous inorganic N. *Biology Fertility of Soils* 39: 103-111.

PREMIERE PARTIE

Réponses respiratoires par rapport à différents types d'apports de composés simples et complexes

Chapitre non publié

1. Introduction

La transformation des composés organiques est un processus complexe qui met en jeu divers facteurs dont les principaux sont la nature des substrats, de la communauté microbienne et son état physiologique (actif versus dormant, ses capacités métaboliques, sa diversité) et les caractéristiques du milieu où interviennent ces processus. De nombreuses études se sont attachées à définir l'importance des principaux paramètres qui régulent le bilan énergétique des processus microbiologiques de transformation des apports organiques et leurs conséquences sur le fonctionnement du sol et les flux de nutriments (Swift et al., 1979; Aber et Mellilo, 1982; McClaugherty et al., 1985). La composition des résidus organiques apportés au sol, et son impact sur les flux de carbone et d'azote, est l'un des facteurs les plus étudiés (Reinersten et al., 1984; Heal et al., 1997; Giller et Cadisch, 1997; Bernhard-Reversat, 1999; Martens, 2000; Trinsoutrot et al., 2000). Les résidus végétaux contiennent en général les mêmes classes de composés organiques tels que la cellulose, les hémicelluloses, l'amidon, les protéines, les lipides et les polyphénols. Seule l'abondance relative de ces différents constituants varie selon les végétaux.

Une grande partie des travaux concernant les processus de minéralisation ont permis la formulation d'équations mathématiques simulant les taux de décomposition des résidus végétaux à partir de leur composition élémentaire (Molina et al., 1983; Trinsoutrot et al., 2000, Thuriès et al., 2002). Les sucres simples, les acides aminés et organiques sont connus comme étant des composés facilement décomposables alors que la cellulose, les hémicelluloses et la lignine sont récalcitrants à la dégradation (Swift et al., 1979). Néanmoins, force est de constater que l'interaction entre ces composés limite en grande partie la fiabilité de ces équations appliquées à un résidu. Lors de l'incorporation d'un résidu végétal dans le sol, Darwis (1993) a notamment montré que la dégradation des différents constituants se fait simultanément, mais à des vitesses différentes. Par ailleurs, d'autres travaux ont montré que les sucres et les phénols forment avec les acides aminés des complexes bruns difficilement décomposables, et que ces complexes modulent la décomposition de chacun des constituants (Lyr, 1962; Bonsignore et al., 1973). Par exemple, la présence de source de N organique tel que l'alanine ou l'albumine stimule la décomposition du glucose et de l'amidon (Meli et al., 2003).

Face à l'apport d'un substrat métabolique aussi complexe qu'une litière, la communauté microbienne met en œuvre des voies cataboliques différentes de celle nécessaire à la décomposition d'un substrat comme le glucose. Il semble donc essentiel à la fois de connaître et quantifier l'impact de l'ajout d'un unique composé sur les flux de carbone en fonction de sa composition biochimique, mais aussi et surtout, de quantifier les effets de l'ajout d'un mélange de composés organiques.

Notre objectif est donc de comparer la réponse microbiologique suite à l'ajout d'une même quantité de C en fonction 1) de la nature du substrat organique (e.g. composés simples comme le glucose, l'histidine, l'acide gallique, l'amidon et l'acide tannique), 2) de la composition de l'apport (e.g. apport d'un seul substrat versus apport de substrats complexes). Dans ce cas, des mélanges de deux composés ont été comparés à un extrait soluble de litière. Dans le cas du mélange formé de deux constituants, le second est toujours l'histidine qui comporte une source d'azote organique. L'effet de l'azote organique est discuté.

2. Matériel et méthodes

2.1. Le sol

Le sol étudié est un sol ferrugineux tropical lessivé (Maignien, 1965). Il provient d'une jachère de 20 ans mise en défens depuis 13 ans. Cette situation fait partie du dispositif expérimental du programme Jachère¹. Le site est localisé à Thyssé Kaymor au centre du Sénégal dans une zone de savane sèche. Le climat de cette zone est de type soudano-sahélien : alternance de saison sèche (novembre à juin) et de saison humide, une température moyenne annuelle de 28°C et d'une faible pluviométrie (600 à 700 mm par an) se manifestant sous forme de pluies violentes. La végétation est caractérisée principalement par des arbustes soudano-sahéliens (Combrétacés et Mimosacés).

L'échantillonnage concerne la couche 0-10 cm. Le sol est tamisé à 2 mm pour enlever les graviers ainsi que les débris organiques (racines, parties aériennes) grossiers. Le tableau 1 donne quelques caractéristiques physico-chimiques.

2.2. Les traitements et l'incubation

¹ « Raccourcissement du temps de jachère, biodiversité et développement durable en Afrique centrale et en Afrique de l'Ouest » (STD3/DG XII). Coord. Christian Floret.

	Texture			pH	CEC	C total	N total	N minéral
	Sable	Limon	Argile	(H ₂ O)				
	%				meq g ⁻¹	g C kg ⁻¹	g N kg ⁻¹	mg N kg ⁻¹
Sol	55.3	34.3	10.4	5.8	5.4	12.7	0.9	34.8

Tableau 1: Caractéristiques physico-chimiques du sol

	C/N	C total	N total	C Soluble	Phénol soluble	Sucre soluble	Protéine soluble
				mg g ⁻¹ litière			
Litière	21.3	428.3	20.0	33.5 (2.1)	7.1 (0.6)	13.2 (2.2)	0.2 (0.0)

Tableau 2: Composition biochimique de la litière de *Faidherbia albida*
(Déviation standard entre parenthèse)

Les différents substrats organiques testés sont : le glucose, l'histidine, l'acide gallique, l'amidon et l'acide tannique. Ces substrats sont apportés seuls ou en présence d'histidine (substrat complexe). Ils sont comparés à un extrait soluble de litière de *Faidherbia albida*. Brièvement, cette fraction soluble a été extraite par agitation dans l'eau (1 : 10 p/v) à 20°C pendant 2h. Le carbone soluble de cette fraction a été déterminé par Demande Chimique en Oxygène (DCO) par la méthode HACH (Anonymous, 1994). Le résultat est exprimé par équivalent de C glucide. Les phénols solubles ont été déterminés en utilisant le réactif de Folin-Denis (King et Health, 1967). Le résultat est exprimé par équivalent d'acide tannique. Les sucres solubles sont déterminés par la méthode proposée par Somogyi (1945) et Nelson (1944) et exprimés en équivalent de glucose. Les protéines sont déterminées selon la méthode de Lowry et al. (1951).

La composition biochimique de la fraction soluble de la litière est donnée dans le tableau 2.

Quels que soient les traitements, la quantité totale de carbone ajouté correspond à $335 \mu\text{g C g}^{-1}$ sol. Dans les traitements comportant un substrat complexe (deux composés), ceux-ci sont apportés à part égale. Pour les traitements avec Histidine l'apport de N organique correspond $97.7 \mu\text{g N g}^{-1}$ sol

Les apports sont réalisés sous forme de solution permettant d'ajuster la teneur en eau du sol à une valeur correspondant à 100% de sa capacité de rétention (e.g. 10 g H₂O pour 100 g sol). Pour chaque série, un traitement sans addition de substrat et ou de forme d'azote a également été mis en place. Le sol est incubé dans des flacons fermés à raison de 4 répétitions par traitement pendant 10 jours à 28°C. L'humidité est maintenue constante.

2.3. Les analyses

Le flux de CO₂ est mesuré pour chaque échantillon tous les jours par prélèvement puis injection directe dans un chromatographe en phase gazeuse de type SRA Analytical Instruments (MTI P200 Microsensor Technology Inc., Fremont, CA, USA) équipé d'un détecteur à thermo-conductibilité (TCD) et d'une colonne Poraplot. L'hélium est utilisé comme gaz vecteur.

Expression des résultats

La minéralisation apparente du carbone des substrats apportés a été calculée par différence entre le C-CO₂ produit par le mélange sol plus substrat et le C-CO₂ produit pendant la même période par le sol témoin (sans apport de substrat). Ce calcul induit l'hypothèse que le

« priming effect » dû à l'addition des substrats sur la matière organique native du sol peut être considéré comme négligeable ou comparable pour les différents traitements expérimentaux. Les résultats sont exprimés en % du carbone apporté.

3. Résultats

Les flux les plus élevés sont obtenus pendant les deux premiers jours (Tableau 3). Par la suite, ils diminuent significativement jusqu'à la fin de l'incubation.

Lorsqu'ils sont ajoutés individuellement, la réponse maximale est obtenue avec l'histidine ($41.8 \mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ j}^{-1}$) dès le premier jour. Le glucose, l'amidon et l'acide gallique ont des profils de minéralisation similaires. Lorsque le sol est amendé avec de l'acide tannique, le profil de minéralisation du C est similaire à celui du sol témoin. Ce substrat ne semble avoir subi aucune dégradation au cours de l'incubation.

Traitements	0-1		1-2		2-3		3-10	
	- His	+ His	- His	+ His	- His	+ His	- His	+ His
Sol nu	15.3 (1.5)	-	9.5 (2.3)	-	3.3 (0.7)	-	4.9 (0.7)	-
Litière entière	62.6 (3.1)	-	23.0 (2.5)	-	53.4 (3.6)	-	20.8 (1.7)	-
Extrait soluble	111.2 (3.6)	-	35.0 (3.5)	-	18.5 (3.0)	-	11.2 (1.8)	-
Hystidine	41.8 (2.2)	-	28.6 (1.4)	-	13.3 (1.0)	-	11.53 (0.8)	-
Glucose	32.9 (1.7)	37.5 (1.5)	24.2 (2.2)	22.1 (1.2)	11.6 (0.9)	16.7 (1.5)	10.3 (0.9)	10.8 (1.0)
Ac Gallique	29.9 (3.7)	35.7 (2.3)	23.8 (6.0)	22.5 (3.4)	11.9 (2.0)	17.2 (2.0)	10.02 (3.3)	10.49 (1.6)
Amidon	30.5 (2.6)	31.9 (0.6)	28.5 (2.5)	21.9 (1.3)	14.5 (2.3)	16.3 (0.6)	12.9 (1.9)	10.5 (0.3)
Ac. Tanique	12.7 (0.1)	15.4 (0.5)	12.7 (0.3)	11.2 (0.7)	1.7 (0.2)	8.2 (0.9)	6.2 (0.2)	5.4 (0.6)

Tableau 3 : flux de C-CO₂ ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ sol j}^{-1}$) au cours des périodes d'incubation (0-1; 1-2; 2-3 et 3-10 jours)
Avec: - *His* :traitement sans ajout de histidine; + *His* : avec ajout d'histidine
(Ecartype entre parenthèses)

A la fin de l'incubation, les taux de minéralisation apparente du carbone des apports de substrats simples sont compris entre 2.1, valeur minimale obtenue pour l'acide tannique et 29.9 % et 29.8 %, valeurs maximales obtenues pour l'amidon et l'histidine (Tableau 3).

L'apport des mélanges complexes (glucose + histidine, acide gallique + histidine, amidon + histidine et acide tannique + histidine) à $335 \mu\text{g C g}^{-1} \text{ sol}$ entraîne des modifications

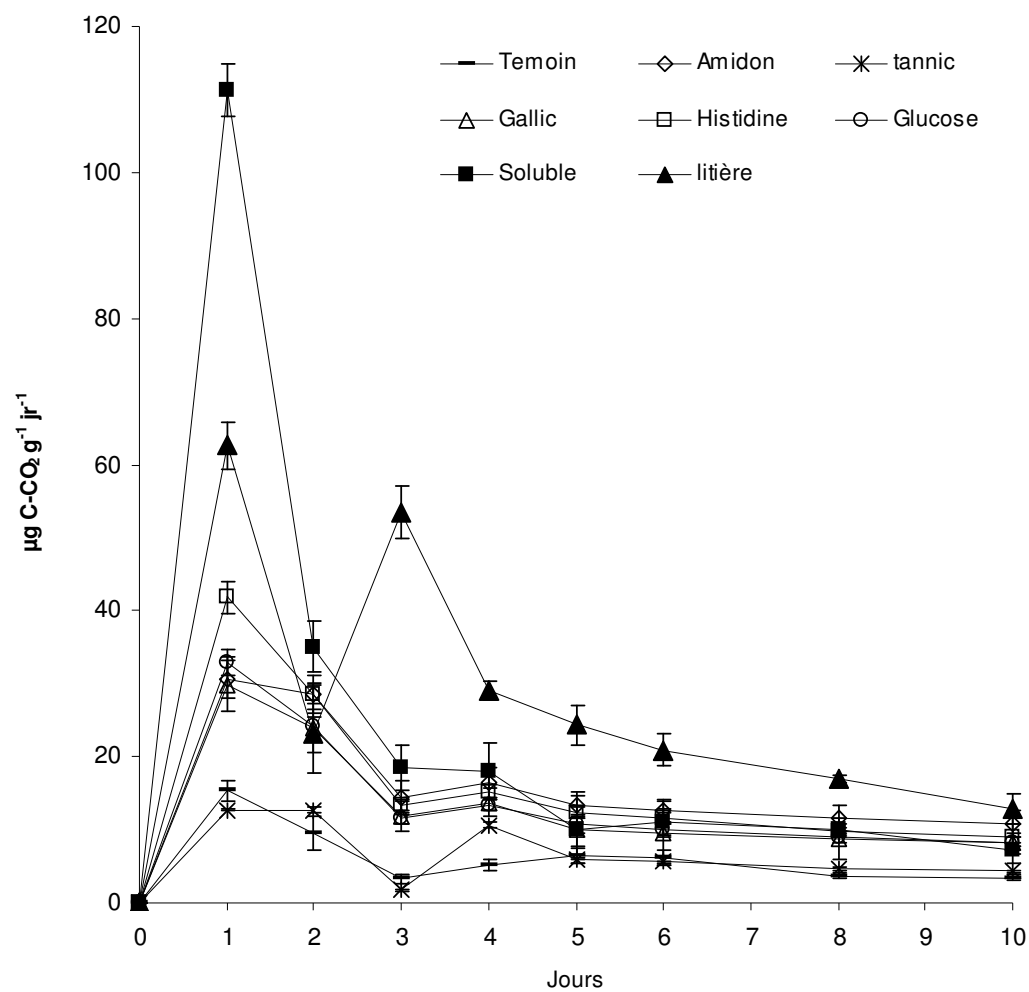


Figure 1: Flux de C-CO₂ (g C-CO₂ g⁻¹ jr⁻¹) durant la période d'incubation de 10 jours. Chaque valeur de C-CO₂ est la moyenne de 4 répétitions et les barres représentent les valeurs des écart-types.

variables, selon le mélange, des réponses respiratoires. Au cours des périodes 0-1 jours et 2-3 jours, les flux de CO₂ produit en présence d'un apport constitué du mélange de deux composés sont supérieurs à ceux mesurés en présence de l'un des deux composés.. Au cours de la période 1-2 jours, le mélange amidon plus histidine présente un flux moins élevé que celui de l'amidon ajouté seul. A la fin de l'incubation, quelque soit le substrat complexe considéré, le CO₂ additionnel libéré est inférieur à celui du sol incubé uniquement avec l'histidine (99.8 µg C-CO₂ g⁻¹ j⁻¹). Les taux de décomposition des mélanges glucose plus histidine, acide gallique plus histidine (26.5 et 25.4 %) sont inférieurs à celui de l'histidine ajouté seul (29.8 %) et supérieurs à ceux du glucose et de l'acide gallique (23.1 et 21.6 % respectivement).

Traitements	Total C ajouté µg C g ⁻¹ sol	Total CO ₂ dégagé µg C-CO ₂ g ⁻¹ sol		CO ₂ Apparent µg C-CO ₂ g ⁻¹ sol		C dégagé en % C ajouté	
		- His	+ His	- His	+ His	- His	+ His
Sol nu	-	60.1 (8.1)	60.1 (8.1)	-	-	-	-
Litière entière	4280	269.00 (8.35)	-	208.87	-	4.9	-
Extrait soluble	335	238.2 (13.1)	-	186.2	-	55.6	-
Histidine	335	159.9 (8.8)	-	99.8	-	29.8	-
glucose	335	137.4 (9.7)	148.8 (10.6)	77.3	88.7	23.1	26.5
Ac. Gallique	335	132.5 (33.2)	145.3 (18.0)	72.4	85.1	21.6	25.4
Amidon	335	160.2 (20.3)	140.3 (2.9)	100.1	80.2	29.9	23.9
Ac. Tanique	335	67.0 (1.8)	70.2 (6.2)	6.9	10.1	2.1	3.0

Tableau 4: Quantité total de CO₂ dégagé, pourcentage de C dégradé après 10 jours d'incubation du sol amendé. Chaque valeur de CO₂ total est la moyenne de 4 répétitions et l'écartype est mise entre parenthèse.
- *His* :traitement sans ajout de histidine; + *His* : avec ajout d'histidine

Dans le cas du sol amendé avec 335 µg C de l'extrait soluble de *F. albida*, le flux de CO₂ au premier jour est beaucoup plus élevé que ceux des mélanges de deux composés (111.2 µg C-CO₂ g⁻¹ j⁻¹). Ce flux est aussi supérieur à celui du sol amendé avec la litière entière (Figure 1). Le C-CO₂ additionnel produit en fin d'incubation par l'extrait soluble est d'une part, largement supérieur à celui des substrats simples ajoutés seuls ou mélangés avec

l'histidine et d'autre part, inférieur à celui de la litière entière. La litière entière présente un flux élevé à partir du deuxième jour (Figure 2).

Le taux de décomposition élevé (55.6 %) pour la fraction soluble montre une forte dégradation des constituants de cet apport.

4. Discussion

L'évolution du C-CO₂ libéré dans le sol suite à l'induction des composés simples est caractérisée par un flux élevé au cours de 48 h qui suivent l'apport. Ensuite, une rapide diminution est enregistrée. Un profil similaire a été reporté dans différents sols amendés avec du glucose et de l'alanine par Tsai et al. (1997) et Meli et al. (2003). Cette addition de substrats comme le glucose, l'histidine et l'acide gallique induit une rapide réponse probablement due à une augmentation de l'activité métabolique de la biomasse microbienne. Dans des essais sur la décomposition de ces substrats modèles (données non publiées), nous avons montré que la croissance (biomasse totale) et l'activité des micro-organismes (activités enzymatiques) dans un sol amendé par des substrats comme le glucose, l'acide gallique, l'histidine et le xylane sont significativement supérieures à celles enregistrées dans le sol non amendé. Ces résultats soulignent le rôle de la communauté microbienne dans les processus de décomposition des résidus organiques.

Pour l'acide tannique, aucune minéralisation apparente n'a été enregistrée dans notre travail. La présence de polyphénols peut en partie expliquer ces résultats. En effet, en dépit du fait que les processus de leur dégradation soient peu documentés (Harborne, 1997), il semblerait que ces molécules requièrent plus de temps pour se décomposer en unités simples avant leur transformation en CO₂ (Swift et al., 1979; Martens, 2000). La durée de l'incubation (10 jours) dans notre expérience a été probablement trop courte pour percevoir une dégradation de l'acide tannique.

La forte décomposition de l'amidon peut paraître inattendue. En effet, Meli et al. (2003) ont enregistré une faible décomposition de substrat en raison de sa structure complexe et ne contenant pas d'azote. Néanmoins, notre résultat est conforté par des travaux antérieurs sur le même sol, qui ont montré une forte activité amylase (Ndour et al., 2001).

Dans le cas des combinaisons entre les substrats simples et l'histidine, la présence d'une source de N organique pourrait faciliter l'utilisation des substrats par les microorganismes. Ainsi dans une étude récente, Meli et al. (2003) ont montré que le mélange d'alanine et de glucose permet une décomposition plus rapide du glucose alors que les

mélanges alanine plus amidon ou albumine plus amidon stimulent la dégradation de l'amidon. Cependant, aucune interaction entre les composés simples et l'histidine ne peut être conclue dans nos travaux. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que ces auteurs ont utilisé une approche basée sur une mesure en continue du CO₂ libéré toutes les 90 min. Ce qui permet de percevoir nettement les variations sur le temps d'obtention des réponses maximales. Et par ailleurs il serait possible que la quantité de N ajoutée (0,098 mg N g⁻¹ sol) soit faible pour établir une interaction forte, contrairement aux 0,31 mg N g⁻¹ utilisés par ces auteurs.

En présence de l'extrait soluble de la litière de *F. albida*, la réponse respiratoire du sol est environ deux fois supérieure à celle obtenue dans les sols enrichis par l'apport de substrats organiques ajoutés seuls ou en mélange avec l'histidine. La présence dans l'extrait soluble de litière d'une gamme plus étendue de substrats pourrait expliquer ce résultat. En effet, dans ces conditions, les microorganismes concernés par un tel apport sont probablement plus divers de part leur fonction catabolique. De Nobili et al. (2001) arrivent aux mêmes conclusions. En effet, ces auteurs, en induisant la respiration des micro-organismes par ajout de faibles quantités (10 µg C g⁻¹ sol) de substrats simples (glucoses, acides aminés), et de substrats complexes (extrait de racine, extrait de sol rhizosphérique), ont montré que l'activité catabolique est initiée par un signal moléculaire lié à la nature du substrat. Plus le substrat est complexe (de par sa composition biochimique), plus les signaux sont variés.

A la fin de l'incubation, la quantité de C restant dans le sol calculée est plus faible avec le sol amendé avec l'extrait soluble (44.4 %) que celui avec les composés simples (> 70 %) et la litière entière (95 %). Elle peut représenter le C assimilé par la biomasse microbienne ou le C non décomposé des substrats. D'où l'importance de prendre en compte la qualité de C apporté et l'accessibilité de ce C plus élevé dans l'extrait soluble que dans la litière entière. En définitive, la qualité des apports est le facteur déterminant de la minéralisation.

Ce résultat aussi est expliqué par une possible stimulation de la décomposition de la matière organique native du sol (Kuzyakov, 2000; Fontaine et al., 2003). Ce phénomène appelé « Priming Effect » (Bingeman et al., 1953) résulte d'une disponibilité moins élevée d'énergie que dans le cas du glucose ou de l'histidine. Ces auteurs suggèrent que les substrats simples tels les sucres et les acides aminés n'induisent pas de priming effect alors que le résidu végétal induit un priming effect du fait de sa structure polymérisée. Un marquage isotopique (¹³C ou ¹⁴C-substrat) permettrait de mieux déterminer le C issu des substrats apportés du C de la matière organique du sol.

5. Conclusion

Nos résultats suggèrent que la réponse respiratoire durant une courte période de décomposition est nettement fonction de la nature du substrat : un substrat comportant plusieurs sources de carbone (extrait soluble et litière entière) stimulant plus la communauté microbienne qu'un substrat constitué d'un seul composé organique (glucose, amidon, histidine...) Cependant, l'accessibilité du substrat est à considérer dans les comparaisons sur les effets de quantité et qualité des apports de C. Une interaction positive entre composés, l'implication d'une communauté microbienne plus large, un impact plus fort de la décomposition de la matière organique du sol, sont autant d'explications possibles énoncées qui doivent être abordées par la suite pour une meilleure compréhension des effets qualités des substrats.

DEUXIÈME PARTIE

Microbial activities during the early stage of laboratory decomposition of tropical leaf litters: the effect of interactions between litter quality and exogenous inorganic nitrogen

**SALL Saïdou Nourou^{1*}, MASSE Dominique², BERNHARD-REVERSAT France³,
GUISSE Aliou⁴, CHOTTE Jean-Luc¹**

¹ UR083 Ibis, Laboratoire d'Ecologie Microbienne des sols tropicaux, Centre ISRA-IRD BP 1386 Dakar, Sénégal

² UR083 Ibis, Centre IRD Ouagadougou, 01 BP182, Ougadougou, Burkina Faso.

³ Laboratoire d'Ecologie des Sols Tropicaux, IRD, 32 avenue Henri-Varagnant, 93143 Bondy cedex, France

⁴ Université Cheikh Anta Diop, Dakar, Sénégal

* Corresponding author : Sall Saidou, Nourou UR083 Ibis, Laboratoire d'Ecologie Microbienne des sols tropicaux, Centre ISRA-IRD BP 1386 Dakar, Sénégal (Saidou.Sall@ird.sn)

Article paru dans la revue *Biology Fertility of Soils*

Abstract

The comparative decomposition of tropical leaf litters (e.g. *Andropogon gayanus*, *Casuarina equisetifolia*, *Faidherbia albida*) of different qualities was investigated under laboratory conditions during a 60 days incubation period conducted with a typical Lixisol. Total CO₂-C, soil inorganic N, microbial biomass (Fumigation-Extraction), β-glucosidase and dehydrogenase activities were determined over the incubation, to assess as they responded to the addition of inorganic N (+N).

Cumulative CO₂-C evolved from the litter-amended soils was higher than that recorded for the unamended control soil. For unfertilized treatment (0N), correlation coefficients calculated between initial chemical data and CO₂ flux during the first day of incubation were $r = 0.963$ for water soluble-C and 0.869 for soluble carbohydrates ($P < 0.05$). At the end of the incubation, the amount of CO₂-C in the *F. albida*- and *A. gayanus*-amended soils were higher than that in the *C. equisetifolia*-amended treatment. Cumulative net N immobilization increased during the 30 first days of incubation. The amounts being similar for *A. gayanus* - and *C. equisetifolia*-amended soil and higher than that recorded in the *F. albida*-amended treatment. Soil microbial biomass and enzyme activities increased in the litter-amended soils during the first 15 days of incubation and decreased (except for the dehydrogenase activity) thereafter. The addition of inorganic N modified the patterns of CO₂-C respiration and net N immobilization. The magnitude of these modifications varied according to the litter quality. The use of an accurate indicator based on several litter components to predict the amplitude of organic material decomposition is discussed.

Keywords

Litter quality - Decomposition – Microbial activities – Inorganic nitrogen – Tropical soil

1. Introduction

Soil organic matter plays a key role in soil functioning as a source and a sink of plant nutrients. This role is of great importance particularly in nutrient-poor tropical sandy soils. The dynamics and the extent to which organic components decompose depend on soil characteristics (structure, nutrient status, microbial activities) and substrate quality. Quality of organic residues can be assessed by C to N ratio (Vigil and Kissel, 1991; Giller and Cadisch, 1997), N content (Vigil and Kissel, 1991), soluble-C content (Reinersten et al., 1984), lignin content (Berg, 1986; Giller and Cadisch, 1997), lignin-to-N (Vigil and Kissel, 1991), polyphenol-to-N (Palm and Sanchez, 1991), and (polyphenol plus lignin)-to-N (Constantinides and Fownes, 1994) ratios. There is an extensive literature on the importance of the quality of organic input on the dynamics (C and N) of soil organic matter. Generally, C to N ratios of added substrates are used to explain different turnover rates for initial residue decomposition (Hendrickson, 1985). Parr and Papendick (1978) showed that the rate of residue decomposition decreased as the C:N ratio increased, because N becomes the limiting factor. Recent studies (Recous et al., 1995; Henriksen and Breland, 1999) indicated that an available-N concentration (organic plus mineral N) of 2.5 % of residues C (1.2 % of dry matter) was suboptimal for C mineralization. While some earlier studies indicated that the addition of exogeneous N inhibited CO₂ respiration (Kowalenko et al., 1978; Lueken et al., 1962), Allisson and Kein (1962) did not record any effect of N input on C dynamics. Much of the discrepancy arises from the diversity of material tested in each investigation, with most studies focusing on the N requirement for optimum decomposition.

In most West African farming systems, forest-fallow management was previously recommended to restore the fertility of soils overexploited by long periods of cropping. However, this method of management either no longer exists or has become very rare, because of demographic pressure (Floret and Pontanier, 1993). Olsson (1984) indicated that during the past 10 yr, the average period of fallow has been reduced in Mali from 19 yr to 9 yr. In such a context the management of organic resource is of crucial importance. Nevertheless, although the beneficial effect of organic residues on soil nutrient status and plant nutrition have been demonstrated, organic residues can only be proposed as a complementary practice because of their scarcity (Allard et al., 1983). In contrast, the positive impact of trees on soil fertility has been suggested (Steppler and Nair, 1987) and it is located beneath the canopy and is related to the tree species (Bernhard-Reversat, 1982).

Our aims were to: (i), investigate the relationships between litter biochemical quality and CO₂ and mineral N release, (ii), determine the abundance and activity of soil biota; and (iii), assess the effects of inorganic N input. For this reason, the impact of different leaf litter originated from some of the main representative agricultural practices were compared. This investigation relied on laboratory incubation and sequential analyses of CO₂, inorganic N (NH₄⁺, NO₃⁻), total microbial biomass and enzyme activities.

2. Material and methods

2.1. Soil

The soil was sampled to 0-10cm depth from a typical Lixisol (Thysse Kaymor, 13.45°N, 15.40°W) in June 1999 before the clearance of a 20 year-old fallow. Six replicates (about 8 kg each) were randomly sampled, pooled, air-dried, sieved to < 2 mm and stored at room temperature pending processing. Organic C content, total N, soil pH (H₂O), clay, silt and sand contents were respectively 12.73 mg C g⁻¹ dw soil, 0.91 mg N g⁻¹ dw soil, 5.8, 10.4 %, 34.3 % and 55.3%.

2.2. Plant litter materials

A range of litter materials was chosen to represent a spectrum of litter residues typical of arable horticultural and cover litter in Senegal. Litters were collected from fresh materials. Herbaceous (*Andropogon gayanus*) were collected by cutting standing grasses from planted fallow, and leaves materials (*Casuarina equisetifolia* and *Faidherbia albida*) were picked up from several trees respectively from a planted and a native fallow during the dry season. Litter material were air-dried and stored in polyethylene bags at room temperature pending further use.

2.3. Soil incubation

Soil subsamples (10 g equivalent dried soil) were moistened to 100 % of water holding capacity (10 g H₂O 100 g⁻¹ soil) and thoroughly mixed with 0.1 g of each ground (< 0.5 mm) litter in sealed vessels (120 ml). Four replicates were set up for each of the litter types and for each sampling date (after litter amendment referred to as 0 Day After

Incorporation, 15 DAI, 30 DAI and 60 DAI). Four other vessels were prepared similarly, but in the presence of inorganic N ($100 \mu\text{g N g}^{-1}$ soil) added as $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Soil samples with neither residues nor inorganic N (control) were compared to these treatments. The sealed vessels were flushed with ambient air and incubated at 28°C for 60 days. The soil moisture content was maintained at 100 % WHC by weighing at weekly intervals.

2.4. Analytical procedures

2.4.1. Litter quality analysis

Chemical composition of litter materials was carried out on air-dried and powdered ($< 0.2 \text{ mm}$) litters by proximate analysis. The water-soluble fraction was extracted by mixing 2 g litter in 60 ml cold water for 2 h. Total soluble C was measured by Dichromate COD (chemical oxygen demand) method (Anonymous, 1994). Total extractable phenolic compounds were extracted, according to the TSBF method (Anderson and Ingram, 1993), by heating 0.5 g litter in a 50 % methanol solution at 80°C for 1 h. The difference between the methanol extracted and the water extracted phenolic fractions is referred to as insoluble phenolic compounds. Non-extractable phenolic compounds were not taken into account in this study. The phenolic content of each extract was determined using Folin-Denis reagent modified as described by King and Heath (1967) using tannic acid as a standard. Water soluble proteins content were determined according to Lowry et al. (1951). Water soluble carbohydrate was determined by the method proposed by Somogyi (1945) and Nelson (1944), using glucose as a standard. Hemicellulose, cellulose and lignin were analysed by the Goering and Van Soest (1970) method as acid detergent fibre (ADF) and acid detergent lignin (ADL). Total N and C contents of the litters were determined by dry combustion with a LECO FP 428 CHN apparatus (LECO corporation, St. Joseph, MI, USA).

2.4.2. Microbial CO_2 respiration

Air samples were analysed for CO_2 production using direct injection into a micro GC Analytical Instruments SRA (MTI P200, Microsensor Technology Inc., Fremont, CA.) equipped with a TCD detector using Helium as the carrier gas. The analyser was used in combination with the windows based EZChrom 200, the MTI data handling and instrument control software. Ambient air was used as control. After each CO_2 determination, the headspaces were flushed with fresh air.

	Total C	Total N	Soluble-C	Soluble phenol mg/g litter	Insoluble phenol	Soluble carbohydrate	Soluble protein	Hemicellulose	Cellulose %	Lignin	C/N
<i>C. equisetifolia</i>	471.8 a	13.6 a	70.5 b	18.9 b	20.7 b	25.3 b	0.5 b	15.1 a	32.2 b	20.4 b	34.8
<i>A. gayanus</i>	457.1 a	9.0 a	39.0 a	6.2 a	4.3 a	22.2 b	0.6 b	29.2 b	37.2 b	10.7 a	50.8
<i>F. albida</i>	428.3 a	20.0 a	33.5 a	7.1 a	5.4 a	13.2 a	0.2 a	11.1 a	19.6 a	22.0 b	21.4

Table 1: Chemical characteristics of litters (means of 4 replicates) . Data in the same column followed by the same letter are not significantly different according to one-way ANOVA (P<0,05)

2.4.3. Soil inorganic N

Soil inorganic-N was determined colorimetrically in KCl extracts (2M KCl) by flow injection analysis according to the method of Bremner (1965). The results were expressed as $\mu\text{g N (NH}_4^+ \text{ or NO}_3^-) \text{ g}^{-1}$ of dry soil. Cumulative net N immobilization was calculated from the N mineralised in the residue-amended soil minus that from the control soil.

2.4.4. Microbial biomass

Microbial biomass-N was determined by the fumigation-extraction method (Amato and Ladd, 1988) by measuring ninhydrin-N reactive compounds extracted from soils with 2M KCl after a 10-days fumigation period. Fumigated and unfumigated soil samples were suspended in KCl solution (1:3 dry soil/solution, w/v; 2M final concentration), shaken at 25°C for 1 h and then filtered (Whatman 0.45 μm) and stored frozen pending further analysis. Ninhydrin-reactive nitrogen content was determined colorimetrically by flow injection analysis (Evolution II, Alliance-Instrument, France). Microbial biomass C was estimated from the gain in ninhydrin-reactive N after fumigation, multiplied by 21 (Amato and Ladd, 1988).

2.4.5. Enzyme activities

Activity of β -glucosidase was determined according to a method adapted from Hayano (1973). Briefly, 100 mg of soil sample was incubated for 2 h at 37 °C, with 100 μl of 5 mM *p*-nitrophenyl β -D-glucopyranoside (Sigma), and 400 μl of citrate phosphate buffer at pH 5.8. The reaction was stopped with 3 ml of 0.2% Na_2CO_3 (w/v). The *p*-nitrophenol (pNP) released by β -glucosidase activity was measured at 400 nm (Ultrospec 3000, Pharmacia-Biotech). Results were expressed as $\mu\text{g pNP released g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

For measuring dehydrogenase activity, moist soil (1 g) was incubated with 1 ml of 0.4% (w/p) triphenyltetrazolium chloride (TTC) in Tris-HCl (0.1M) buffer at pH 7.6 for 16 h at 25°C. The triphenylformazan (TPF) formed was extracted with 5ml acetone by shaking vigorously for 2 h and filtered through a Whatman No. 5. TPF was measured spectrophotometrically at 546 nm (Thalman, 1968). Results were expressed as $\mu\text{g TPF released g}^{-1} \text{ h}^{-1}$.

2.6. Statistics

Treatment	Incubation period (days)													
	0-1		1-2		2-3		3-4		4-5		5-6		6-60	
	0N	Inor N	0N	Inor N	0N	Inor N	0N	Inor N	0N	Inor N	0N	Inor N	0N	Inor N
<i>Control</i>	15.10 (0.43)	13.50 (0.55)	7.20 (0.74)	7.20 (0.33)	4.40 (0.74)	4.70 (0.33)	5.80 (0.27)	5.40 (0.24)	4.60 (1.21)	5.20 (0.59)	4.10 (0.67)	4.10 (0.15)	1.50 (0.04)	1.70 (0.08)
<i>F. albida</i>	62.6 (3.14)	60.10 (1.99)	23.00 (2.53)	43.10 (1.70)	53.40 (3.62)	31.50 (1.71)	29.10 (1.29)	25.60 (1.81)	24.30 (2.76)	20.40 (3.21)	20.90 (2.13)	16.40 (3.40)	9.80 (0.58)	6.60 (1.00)
<i>A. gayanus</i>	76.00 (1.86)	72.10 (1.20)	57.80 (6.29)	41.30 (5.19)	37.70 (4.83)	58.10 (4.71)	30.50 (4.53)	46.80 (1.99)	25.10 (2.57)	36.00 (1.18)	20.00 (2.30)	29.50 (0.71)	9.40 (0.94)	8.80 (0.36)
<i>C. equisetifolia</i>	100.50 (4.77)	97.80 (1.33)	40.10 (0.15)	38.50 (4.80)	28.00 (3.02)	33.40 (4.25)	21.40 (1.80)	32.30 (1.65)	15.90 (1.27)	28.80 (1.27)	13.10 (1.95)	23.40 (0.89)	6.50 (0.44)	7.70 (0.57)

Table 2: CO₂-C fluxes (µg CO₂-C g⁻¹ soil d⁻¹) during the different periods of incubation.

() standard deviation

CO₂-C was determined on all replicates (4), while soil analyses were monitored on 3 of them randomly chosen. Analyses were performed at 0, 15, 30 and 60 days after incorporation (DAI). The differences between the treatments were performed as one factor analysis of variance using Microsoft StatView software (Microsoft Corporation). The correlations between biochemical content and microbial activity parameters were determined using simple Pearson correlation coefficients.

3. Results

3.1. Initial litter composition

No significant differences in total C content were recorded between the different litters (Table 1). The differences in C to N ratio were due to N content. Thus, *Faidherbia albida* litter had higher N and lignin contents and lower water-soluble organic-C (carbohydrates, phenols, proteins), hemicellulose, and cellulose contents than those of *Andropogon gayanus* and *Casuarina equisetifolia*.

3.2. Microbial CO₂ evolution

Cumulative CO₂ released in the residue-amended soils was higher than that recorded for the control soil over the incubation period (Figure 1A). For the unfertilised treatment, total CO₂-C evolved from soil amended with litter from *F. albida* and *A. gayanus* was significantly higher than that respired from the *C. equisetifolia*-amended soil (Table 2). At the end of the incubation no significant relationship was found between cumulative respiration and any initial component of the different litter materials. The addition of exogenous inorganic N modified the cumulative evolution of CO₂. At the end of the incubation, total CO₂ was the highest in the *A. gayanus* litter-amended soil and the lowest was recorded in the treatment amended with *F. albida* (Figure 1B).

The flux of CO₂-C mineralization (i.e. $\mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ soil d}^{-1}$) was the highest in the very first day after the incorporation of the litter material, whatever the treatment (Table 2). During that period, the highest flux was recorded for the *C. equisetifolia*-amended soil ($100.5 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ soil d}^{-1}$).

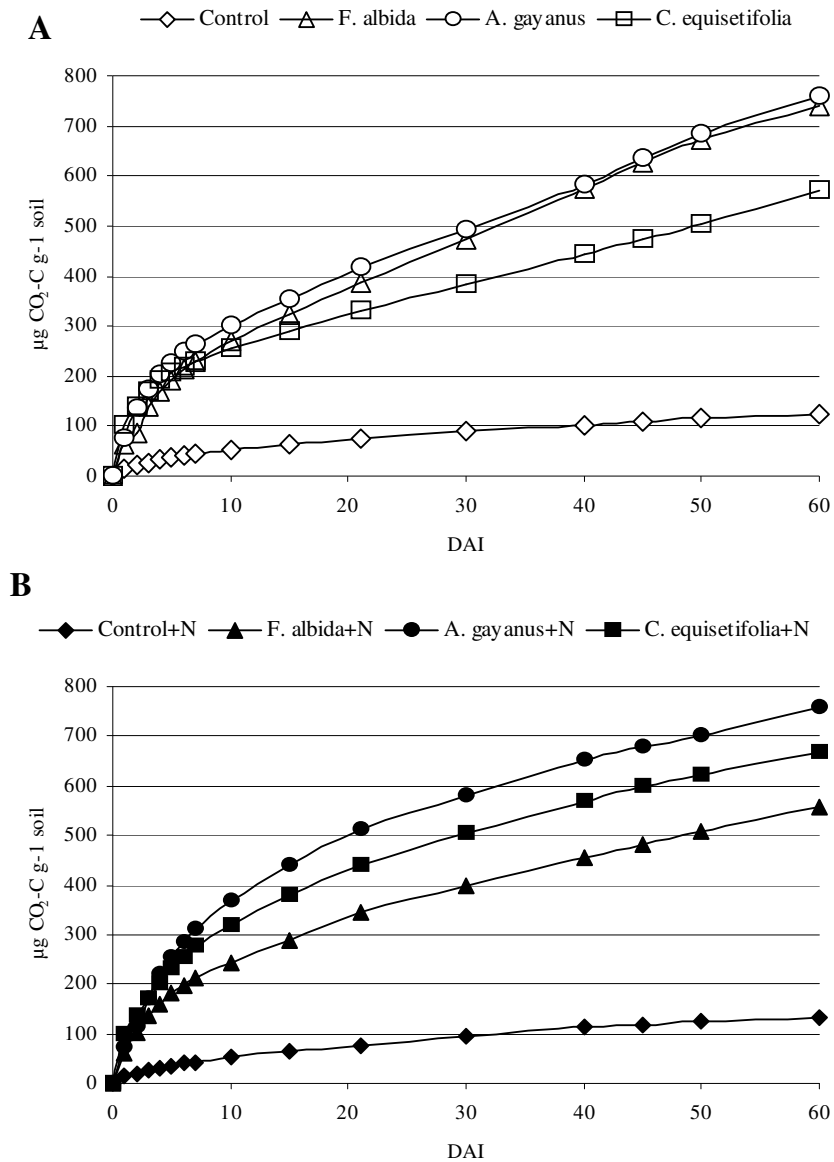


Figure1: Cumulative CO₂ respiration ($\mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1}\text{ soil}$) during the incubation period in different residue-amended soil without (A) and with (B) the addition of exogenous inorganic N. (value were means of 4 replicates and standard deviation was lower than 5% of the mean value $P<0.05$)

Fluxes observed for the soils amended with *A. gayanus* and *F. albida* litters were of similar magnitude ($76.0 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ soil d}^{-1}$ and $62.6 \mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1} \text{ soil d}^{-1}$, respectively). During the following day, CO_2 flux rates decreased markedly for *C. equisetifolia* and *A. gayanus*, but were still relatively high for *F. albida*. Thereafter, fluxes decreased constantly in the course of the incubation. Correlation coefficients calculated between initial chemical data and the CO_2 flux during the first day of incubation were $r = 0.963$ for soluble-C and 0.869 for soluble carbohydrates ($P < 0.05$) (data not shown). On day 2, negative correlations between soluble and insoluble phenols ($r = -0.941$ and $r = -0.905$ respectively) and $\text{CO}_2\text{-C}$ mineralization rates were obtained. It should be noted that no statistical relationship could be established between N concentration of the different litters and their pattern of decomposition.

During the first day of the incubation, the CO_2 flux from every litter-amended treatment was not significantly influenced by exogenous inorganic N (Table 2). By contrast, the effect of this addition was observed during the 2-3 days period (for *F. albida*, *A. gayanus* and *C. equisetifolia*-amended soils) and during the 3-4 day period (for *A. gayanus* and *C. equisetifolia*-amended soils). During these periods, the presence of inorganic N stimulated the rate of $\text{CO}_2\text{-C}$ respiration compared to that in the unfertilised treatment (0N). This positive impact decreased over time.

3.3. Soil inorganic N

The pattern of net N immobilization varied with respect to the different treatments (Figure 2A). For the unfertilised treatments (0N), cumulative net N immobilization increased during the first 30 days of incubation. The amounts being similar for *A. gayanus* and *C. equisetifolia*-amended soil, and higher than recorded in the *F. albida*-amended treatment. For this latter treatment, a decrease was noticed as the incubation proceeded, indicative of net N mineralization. No difference in the concentration of inorganic N was observed for the other two treatments.

A very different pattern of inorganic N immobilization was observed in the presence of an exogenous source of inorganic N, compared to that described previously (Figure 2B). This was particularly evident for the *F. albida*-amended treatment, where the net amount of inorganic N that accumulated was very low and decreased soon after 15 DAI. This indicates that mineralization took place in the early stage of the decomposition. Similar to the unfertilised treatment, the net N immobilization in the *C. equisetifolia*- and *A. gayanus*-amended soils increased until 30 DAI. However, the N immobilization was higher in the soil

amended with *C. equisetifolia* litter compared to that in the *A. gayanus* treatment, while a similar value was obtained in the absence of exogenous inorganic N (0N). In the presence of the N source, net cumulative N immobilization increased slightly over the incubation period in the *A. gayanus*-amended soil. By contrast, a decrease was noticed in the *C. equisetifolia*-amended soil. Eventually, however, similar values were obtained in these treatments. A negative correlation between total CO₂-C and total mineral-N pool was found at 15 DAI ($r = -0.806$). No other significant relationships were found.

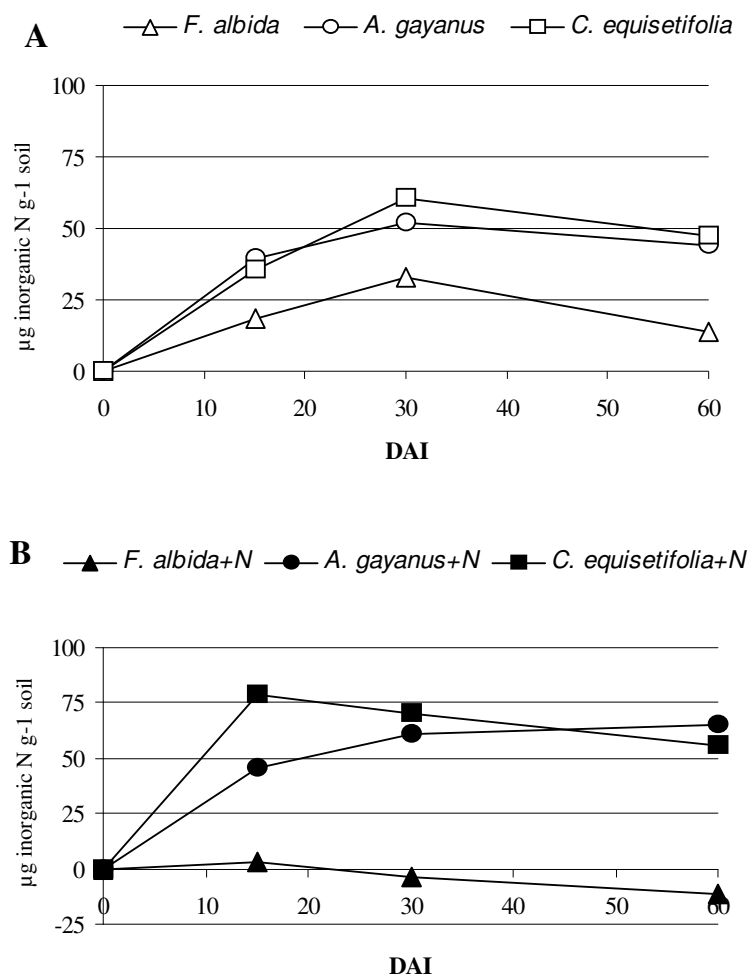
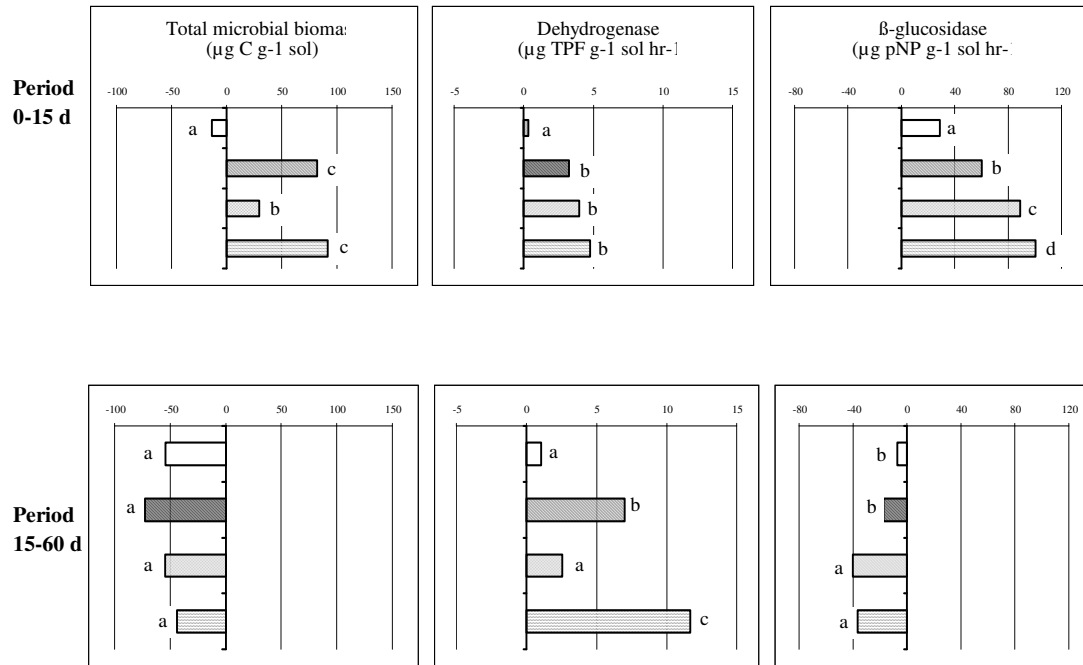


Figure 2: Cumulative net N immobilisation during the 60 day incubation period in the different residue-amended soil without (A) and with (B) the addition of exogenous inorganic N.

3.4. Soil microbial biomass and enzymes activities

A) Zero inorganic N treatments



B) inorganic N-fertilized treatments

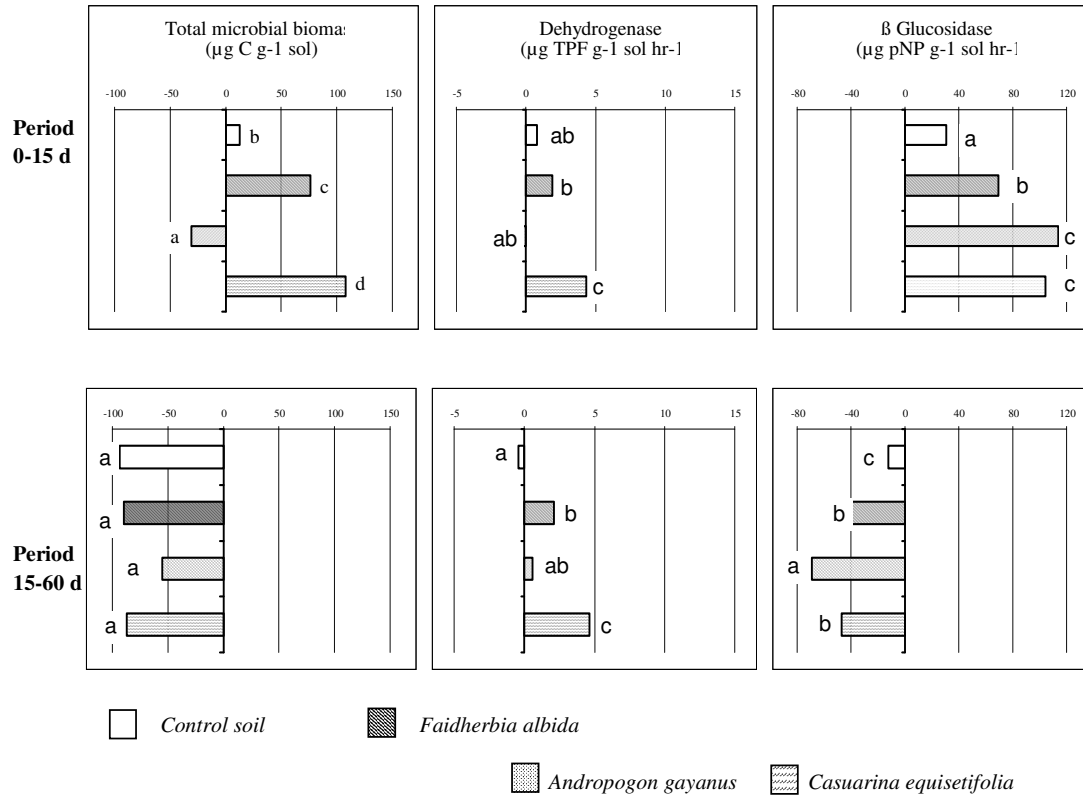


Figure 3: Variations of microbial biomass, dehydrogenase and β-glucosidase activities during the 0-15 days and 15-60 days periods without (A) and with (B) the exogenous inorganic N. Different letters indicated a significant difference ($p < 0.05$) for a given parameter and a defined period of time.

As proposed by Landi et al. (2000) we calculated the enzyme activity : microbial biomass ratio at 0 DAI and 60 DAI, respectively (Table 3).

Treatment		Dehydrogenase/Microbial biomass		β -glucosidase/Microbial biomass	
		$\mu\text{g TPF hr}^{-1} \mu\text{g}^{-1} \text{C BM}$		$\mu\text{g pNP hr}^{-1} \mu\text{g}^{-1} \text{C BM}$	
		T0	T60	T0	T60
<i>Control soil</i>	0N	0.036 (0.002)	0.108 (0.004)	0.247 (0.015)	0.494 (0.011)
	Inor N	0.031 (0.003)	0.099 (0.007)	0.231 (0.014)	0.527 (0.033)
<i>F. albida</i>	0N	0.034 (0.003)	0.105 (0.006)	0.234 (0.028)	0.345 (0.031)
	Inor N	0.037 (0.006)	0.088 (0.011)	0.278 (0.042)	0.371 (0.034)
<i>A. gayanus</i>	0N	0.029 (0.001)	0.085 (0.002)	0.202 (0.015)	0.424 (0.009)
	Inor N	0.020 (0.000)	0.044 (0.007)	0.153 (0.004)	0.532 (0.072)
<i>C. equisetifolia</i>	0N	0.045 (0.004)	0.147 (0.015)	0.307 (0.03)	0.480 (0.053)
	Inor N	0.038 (0.006)	0.103 (0.007)	0.287 (0.052)	0.495 (0.031)

Table 3: Enzyme activity : microbial biomass ratio at 0 DAI and 60 DAI.

() standard deviation

Whatever the enzyme activity (β -glucosidase, dehydrogenase) statistical analyses (ANOVA) revealed a significant ($p < 0.001$) increase of this ratio over time. For the dehydrogenase : microbial biomass ratio, a significant interaction was observed between litter and time ($p = 0.001$) and between time and N treatment, indicative of a different variation of this ratio in respect to the litter material and the addition of exogenous inorganic N. As a matter of fact, the increase of the dehydrogenase : microbial biomass over time was the lowest for the *A. gayanus*-amended soil and the highest for *C. equisetifolia*-amended soil. Moreover in the presence of an exogenous source of inorganic N this ratio increased in a lower extent than in the non-amended soils. For the β -glucosidase : microbial biomass ratio a significant interaction was noticed between litter material and time ($p = 0.003$) but not between time and inorganic N treatment ($p = 0.112$).

Figure 3 reports the variation of microbial biomass and enzyme activity calculated for the period 0-15 DAI and 15-60 DAI. For the unfertilised soils (0N), total microbial biomass increased in the litter-amended soils, while it decreased in the control soil (Figure 3). Increases were significantly higher in the *F. albida*- and *C. equisetifolia*-amended soils than in the *A. gayanus* treatment. During 0-15 DAI, enzyme activities increased in all treatments,

even in the control, but the increases were significantly ($p < 0.05$) higher in the litter-amended soils. For the β -glucosidase activity, the greatest increase was observed in the *C. equisetifolia*-treatment. Unlike for 0-15 DAI, the total microbial biomass and the β -glucosidase activity decreased in all treatments during the 15-60 DAI. By contrast, the dehydrogenase activity increased, with the highest value being recorded in the *C. equisetifolia*-amended soil.

The addition of exogenous inorganic N had little impact on the pattern of microbial biomass and enzyme activities compared to that observed in the unfertilized treatments. However, the microbial biomass increased in the control soil in the presence of inorganic N during the 0-15 DAI, while it decreased in the unfertilised control soil (Figure 3). During the same period, microbial biomass decreased in the fertilized *A. gayanus*-amended soil. Opposite results were obtained in the absence of this N source.

4. Discussion

The chemical composition of the litters tested in this study showed a wide range of quality as reported by other authors for leguminous and woody tropical plants (Bernhard-Reversat, 1999; Constantidines and Fownes, 1994). These litters are rich in N, polyphenols and lignin. In this study, CO_2 -C respiration, soil inorganic N content, microbial biomass, β -glucosidase and dehydrogenase activities were used to compare the impact of the chemical composition on the microbiological processes responsible for their decomposition. Over incubation, C:N ratio did not predict accurately the CO_2 evolution, since litters (*Faidherbia albida* and *Andropogon gayanus*) having a different ratio (21 and 51, respectively) decomposed to the same extent. Moreover, litter N content seemed to be unrelated to total CO_2 -C release during the incubation, although several previous studies indicated such a relationship (McTiernan et al., 1997). However, Trinsoutrot et al. (2000) and Recous et al. (1995) suggested that the N content of organic residues is likely to play a key role in the medium-term decomposition only when total soil inorganic-N content is the limiting factor. The small impact of litter N content on decomposition may also be due to the fact that N contributed to structural macromolecules (cellulose, lignin, etc) decomposition, but that used these compounds required a much longer period to decompose than that in our study (Vanlauwe et al., 1996). On the whole, the enzyme activity : microbial biomass ratio increase over time, indicative of an enhancement of intracellular (dehydrogenase) and extracellular (β -glucosidase) enzyme activities (Nannipieri, 1994) during the incubation.

4.1. Early stage of decomposition

During the first stage of incubation (0-15 DAI), CO₂-C evolved was significantly correlated with the soluble C content of the litter ($r^2 = 0.963$, $P < 0.05$), as already shown by other authors for a variety of organic materials (Reinersten et al., 1984; Heal et al., 1997; Trinsoutrot et al., 2000). Other studies have pointed out that the dynamics of soil N mineralization, versus immobilization, in the early stages of decomposition could be related to the organic N content and to the C:N ratio of the added material (Giller and Cadisch, 1997). In our study the pattern of soil inorganic N varied according to the litter quality. However, a similar immobilization was obtained in soil amended with *Andropogon gayanus* and *Casuarina equisetifolia*, despite the fact that these materials have different C:N ratios (51, and 35, respectively). The abundance of polyphenols in the *Casuarina equisetifolia* litter may explain this result. In fact, several studies have mentioned the negative effect of polyphenols on N mineralization processes (Palm and Sanchez, 1991), because polyphenols may complex proteins and pectins, making them inaccessible to soil microorganisms for further mineralization (Palm and Sanchez, 1991; Vanlauwe et al., 1996). However these two litters have a C:N ratio higher than 25, which is proposed as a threshold controlling immobilization ($C/N > 25$) versus mineralization ($C/N < 25$) processes (Jensen 1994; Trinsoutrot et al., 2000). The results obtained for soil amended with *Faidherbia albida* ($C/N = 22$) fulfilled this assumption. During the first period of decomposition, microbial biomass and enzyme activities were stimulated by the addition of litter materials. The observed rapid increase of microbial activity could be attributed to zymogenous microorganisms known to respond very promptly to the addition of energy-rich compounds (Winogradsky, 1949). That dehydrogenase activity increased along with of microbial biomass and dehydrogenase activity was expected, because this enzyme is intracellular (Skujins, 1976). A correlation could be drawn between β -glucosidase activity and soluble C and soluble carbohydrate ($r = 0.780$ and $r = 0.936$, respectively; $p < 0.05$). β -glucosidases catalyse the hydrolysis of various β -glucosides during the plant residues decomposition in soil. This result suggests an enrichment in soil litter of a cellulolytic nature, cellobiose-like substances, which acts as substrate for the enzymes.

4.2. Mid-term decomposition

After the rapid growth of soil microorganisms responsible for the decomposition of energy-rich molecules contained in the added litters, a subsequent slowdown process took place. However, this decrease may depend not only on the disappearance of soluble carbohydrates but also on the presence of polyphenols (Marstrop, 1996), which could inhibit microbial growth (Boufalis and Pellissier, 1994) and regulate the decomposition of organic materials (Bernhart-Reversat, 1999). Some studies indicated that soluble low molecular weight phenolic and polyphenolic compounds could also play a key role in the regulation of microbiological processes in the early stage of decomposition of organic residues (Swift et al., 1979; Coûteaux et al., 1998). The abundance of polyphenols in the *C. equisetifolia* litter could explain its low decomposability, compared to that of the other material.

No conclusion could be drawn about the impact of lignin content of the different litter on N mineralization, although this compound is known to prevent organic N mineralization (Palm and Sanchez, 1991). However the period of incubation of our study might have been too short to allow this effect to be seen.

4.3. *Effect of exogenous inorganic N*

Several studies have pointed out the positive impact on N and C mineralization of the addition of an exogenous source of inorganic N, particularly in the presence of high C-to-N ratio organic residues and in N depleted soils (Recous et al., 1995; Henriksen and Breland, 1999; Sakala et al., 2000). Two contrasting patterns of CO₂-C and soil inorganic N were observed in litter-amended soils after the addition of inorganic N. For the *C. equisetifolia* treatment, the addition of (NH₄)₂SO₄ resulted in a stimulation of CO₂-C respiration and net N immobilization during the early stage of decomposition, compared to those recorded in the unfertilised treatment. This positive effect could be attributed to the fact that introduced NH₄⁺ complexes polyphenol compounds thus impeding their inhibiting effect on decomposition processes (Berg and Matzner, 1997). This process leads to a better accessibility of litter soluble C compounds to soil microorganisms responsible for CO₂-C respiration and N immobilization (Reinertsen et al., 1984; Mary et al., 1996). By contrast, a significant decrease in C mineralization was measured in the *F. albida*-amended soil after the addition of inorganic N compared to that in the 0N treatment. Possible explanations for this result are: i), a faster decomposition of readily decomposable C substrate during the first hours after the addition of exogenous inorganic N; ii), a reduction of the accessibility of C substrates due to the complexation of these compounds by inorganic N (Haider et al., 1975); or iii), a reduction

of the microbial activity (Bremer et al., 1991). However, it must be noted that a different pattern of C and N mineralization was observed for *A. gayanus* and *F. albida* litters, despite the fact that they have very similar concentration of water soluble compounds. Nevertheless, the implication of polyphenols in controlling the decomposition of organic residues in the presence of an exogenous source of inorganic N should be softened, since *A. gayanus*- and *F. albida*-amended soil responded differently to the addition of inorganic N, although these litter materials have very similar composition. It is possible that the higher N content of the *F. albida* amendment, compared to that of *A. gayanus*, might be responsible for this result.

In our study the addition of exogenous inorganic N did not modify the N mineralized from lignin rich litter, while Recous et al. (1995) and Henriksen and Breland (1999) observed a negative impact on CO₂.

5. Conclusion

Our study demonstrated that the definition of an accurate indicator to predict the decomposition of organic residues can not be based on a single parameter. It should take into account several litter characteristics (e.g. ratio of soluble C to phenol content, etc) such as proposed by other authors (Herman et al., 1977; Martens, 2000). Nevertheless, in order to derive an accurate combination of several parameters, further studies are still needed. The impact of the characteristics of the organic constituents on the gross CO₂-C and inorganic N fluxes and on the diversity and function of soil microorganisms must be addressed.

CONCLUSIONS PRELIMINAIRES CHAPITRE II

Dans ce chapitre, les expérimentations conduites en conditions contrôlées de laboratoire ont permis de mesurer les réponses microbiologiques (CO_2 et N minéral, activités enzymatiques, biomasse microbienne) à l'apport de différents substrats carbonés. La démarche expérimentale a consisté à évaluer ces réponses selon un gradient de « complexité » du substrat apporté. Il est ainsi clairement apparu que :

- la décomposition du substrat le plus complexe (litière) ne peut être appréciée à partir de la décomposition de ses constituants pris individuellement,
- la quantité totale de C d'un substrat complexe ne peut être utilisée pour prédire sa décomposition,
- l'ajout d'un substrat organique stimule l'activité microbienne,
- l'amplitude de cette stimulation est fonction de la composition biochimique du substrat (cas des litières); au cours de la phase initiale, le déterminant principal est représenté par la teneur en composés organiques solubles, mais que la présence de phénols ralentit les processus

Ces conclusions mettent en évidence l'importance de prendre en compte la qualité de C apporté et son accessibilité plutôt que sa quantité. Dans les sols sableux, la maîtrise des flux issus de cette fraction est importante pour la disponibilité des nutriments. Particulièrement, dans les modèles de bio-transformation du carbone et de l'azote, la fraction soluble des résidus végétaux est identifiée en un compartiment facilement dégradable. Alors que cette fraction peut contenir des composés phénoliques qui retardent la décomposition. D'où la nécessité d'y tenir compte pour le coefficient de décomposition.

Par ailleurs, la réponse des micro-organismes à une complexité croissante des substrats peut dépendre des communautés microbiennes présentes et de leurs fonctions cataboliques.

Enfin, les enzymes libérées pour la dégradation des molécules complexes (extrait soluble et litière entière), peuvent entraîner une stimulation de la décomposition de la matière organique native du sol (Priming effect).

Les relations entre les communautés microbiennes et la décomposition d'une part, et la qualité des apports et le priming effect d'autre part, sont étudiées dans les chapitres suivants.

CHAPITRE III

CHAPITRE III

Relations entre la structure des communautés, la diversité des fonctions cataboliques et la minéralisation de C et N

Dans le chapitre précédent, nous avons évalué la pertinence de considérer les résidus végétaux comme la somme de composés simples. En définitive, les interactions possibles entre les différents composés biochimiques sont plus pertinentes pour la prévision des flux. Et la décomposition initiale des litières dépend de ces interactions particulièrement entre les composés solubles (carbohydrates, acides aminés et phénols). De plus, la disponibilité en N minéral a un effet variable sur l'activité et l'abondance des micro-organismes selon la litière à décomposer. La présence de N minéral peut, en fonction du substrat biochimique, stimuler ou ralentir la décomposition. Les besoins en N sont déterminés par le substrat à décomposer, mais aussi par la microflore.

Dans des environnements déterminés, Schmidt et Gier (1990) ont affirmé que l'activité de minéralisation est fortement liée à la diversité des micro-organismes. Ils ont montré que la décomposition des substrats organiques dans le sol n'est possible que lorsque ce sol contient une population ayant un large spectre catabolique ou plusieurs populations microbiennes capables de minéraliser les substrats.

Par ailleurs, les différentes pratiques agricoles et les perturbations climatiques dans les sols sableux sont susceptibles de faire varier la structure et les fonctions des micro-organismes. Et donc en définitive, elles peuvent induire une réponse physiologique différente.

Dans ce chapitre, nous évaluons l'impact de la diversité de la communauté microbienne sur les processus de décomposition de la matière organique. Cet impact est analysé selon une approche comparative portant sur deux situations : un sol en jachère et sa remise en culture.

La diversité de structure des communautés microbiennes est évaluée par une méthode comparative utilisant les techniques moléculaires (PCR-DGGE : Polymerase Chain Reaction/ Denaturing Gel Gradient Electrophoresis) qui rendent compte des modifications dans la structure génétique de l'ensemble des communautés. Cette méthode a pour principe d'extraire directement l'ADN du sol par lyse physique et/ou chimique des micro-organismes, puis d'amplifier une région choisie du génome par PCR. Cette technique analyse la variabilité des séquences d'une partie plus ou moins conservée de l'ADNr 16S (région V3 de l'ADN

ribosomal). Sa mise en œuvre relativement facile, sa répétitivité et le fait qu'elle permette une bonne estimation de la structure génétique des populations dominantes (> 1 %), en fait une technique très utilisée pour une étude comparative entre des sols de différentes situations.

La diversité catabolique des micro-organismes hétérotrophes est déterminée par la méthode développée par Degens et Harris (1997). Cette méthode physiologique quantifie la diversité catabolique en utilisant les différences de réponses respiratoires à court terme (quelques heures) des communautés microbiennes induites par l'ajout de différents substrats organiques (21 substrats au total). Le profil catabolique CRP (Catabolique Response Profile) et la variabilité des réponses permettent de comparer les sols.

Le métabolisme basal des micro-organismes, le taux de décomposition d'un résidu organique (litière de *F. albida*) ainsi que les activités enzymatiques ont été déterminées.

Ce chapitre fait l'objet d'un article **Sall S., Masse D., Ndour N.Y.B., Chotte J.L.** en préparation à soumettre à la revue *Applied Soil Ecology*.

Change in microbial diversity and functional capabilities following cultivation of soil after fallow period in tropical sandy soil

SALL Saïdou Nourou^{1*}, MASSE Dominique², NDOUR Ndèye Yacine Badiane³, CHOTTE Jean-Luc¹

¹ UR083 Ibis, Laboratoire d'Ecologie Microbienne des sols tropicaux, Centre ISRA-IRD BP 1386 Dakar, Sénégal

² UR083 Ibis, Centre IRD Ouagadougou, 01 BP182 Ouagadougou, Burkina Faso

³ ISRA Laboratoire National de Recherche sur les Productions Végétales B.P. 2312 Dakar Sénégal

* Corresponding author: Sall Saidou, Nourou UR083 Ibis, Laboratoire d'Ecologie Microbienne des sols tropicaux, Centre ISRA-IRD BP 1386 Dakar, Senegal (Saidou.Sall@ird.sn)

Abstract

This study considers the relationship between microbial diversity and soil functioning. It compares the functioning of two soils whose microbial diversity was first established using molecular biology (DGGE) and a functional approach (in situ catabolic potential, ISCP). The soil used was a tropical ferruginous Lixisol, with samples taken from a 21 year fallow and a plot that had been cultivated for 4 years after lying fallow for 17 years. The samples from the 0-10 cm soil layer were incubated with or without the addition of *Faidherbia albida* litter under laboratory conditions (28°C, 100 % WHC) for 10 days. During incubation, the micro-organism activity was measured (CO₂, mineral N, phosphatase, β-glucosidase and urease). In the unamended soil, the activity of the micro-organisms was greater in the fallow soil which had a greater microbial diversity than that in the cultivated soil. However, other soil properties (carbon and organic nitrogen content, total microbial biomass) may also explain this result. For the amended soil, only the first 8 hours of incubation showed a difference between the fallow and cultivated soil. During this period, the CO₂ respiration in the fallow soil was higher than that recorded in the cultivated soil. This difference should be compared with the catabolic microbial diversity which was higher in the fallow soil than in the cultivated soil. After this initial phase, the microbial community in the cultivated soil seemed to acquire similar functions to those in the fallow soil. The phosphatase and β-glucosidase activities of the amended soils were higher in the fallow soil. This difference was maintained for the whole incubation period. The redundancy of microbial functions is discussed.

Keywords: Microbial diversity; catabolic diversity; C and N minéralization; enzymes activities.

1. Introduction

The importance of biodiversity in the functioning of agro-ecosystems is a major question for ecologists. The problem is to use an inventory of the species present that define the biodiversity to understand or predict the capability of a system to fulfil its functions, its resistance to environmental stress and/or its resilience to recover the previous level of functioning after environmental stress. The resistance and resilience from environmental stress determine the stability of an agro-ecosystem (McNaughton, 1994).

However, it is clear that a direct relationship between biodiversity and functioning has not been established for all ecosystem elements. For plant ecology, a clear relationship has been established between the number of species present and the biomass produced (Loreau et al., 2001). This shows that plant growth increases with the number of species up to a maximum threshold. Beyond this point, increasing the number of species reduces the biomass produced.

For soils, the relationship is less clear. In a study carried out in laboratory microcosms on the effect of collembola, Cragg and Bardgett (2001) showed that the relationship between the community inoculated and the decomposition processes depended on the structure of the community and in particular the presence of a particular species. In this work, the number of species inoculated did not have any effect on these processes. More striking results were obtained in other studies, where changing the diversity of the organisms in the decomposition chain (Mikola and Setälä, 1998; Liiri et al., 2002) or the nematode community (Ettema, 1998) did not have the expected effects on the decomposition processes. For soil micro-organisms, it has been difficult to establish the significance of the relationship between diversity and decomposition functions largely because it has been difficult to measure the microbial diversity. For a long time, the diversity was estimated using counting techniques for colonies grown on culture media, which counted less than 10% of the total micro-organisms (Torsvik et al., 1996). However, recent techniques using molecular biology (Baker et al., 2003; Ogram, 2000; Theron and Cloete, 2000) and the detection of compounds specific to microbial communities such as phospholipid fatty acids (PLFA) (Pankhurst et al., 2001), mark a major advance in the assessment of the diversity of the microbial compartment. Despite this progress, the relationship between the structure of the community and the functions affected need to be more closely defined.

Studies carried out on the soil microbial community can be grouped by the experimental methods used. The microbial community can either be modified by a biocide to reduce the diversity (destructive approach) or it can be modified by inoculating sterile soil to increase the diversity (constructive approach) (Nannipieri et al., 2003). Degens (1998) showed in a comparative study that reducing the catabolic diversity of a soil using fumigation did not necessarily reduce the rate of the decomposition processes for the organic matter. This study showed that the effect on decomposition of the microbial diversity in the fumigated soil depended on the humidity of the soil. Using a constructive approach, Griffiths et al. (2001) manipulated the diversity of the microbial community by inoculating a sterile soil with a series of solutions with increasing quantities of micro-organisms. Using this approach, the authors obtained soils with microbial communities with different catabolic profiles. However, no conclusion could be drawn for the effect of reducing or increasing the catabolic diversity of the microbial community on the decomposition of the organic matter.

Currently, very few studies have been carried out on tropical sandy soils. These soils are well known to have very little resilience and to be very sensitive to agro-climatic stress. In these soils, the microbial activity shows great fluctuations throughout the seasons and depending on agricultural practices (Dommergues, 1970; Ndour et al., 2001).

The aim of this study was to determine the effect of the microbial community diversity on the decomposition processes for organic matter in these soils. This approach compared the soil from two different plots, and the microbial community was not manipulated. The effect of the diversity of the microbial communities was determined by measuring the basal metabolism of the community as well as the reaction to the addition of an organic substrate, in the form of plant litter (*Faidherbia albida*). It was assumed that the reaction to this amendment would be due essentially to the activity of the soil microbial communities.

2. Material and Methods

2.1. Study site and experimental method

The study was carried out in Thyse Kaymor (13.45°N, 15.40°W) in the Sahelian / Malian area of Senegal. The climate is dry tropical and rainfall is confined to the period from July to October with a mean annual value of 600–700 mm. The soil is a sandy and ferruginous Lixisol (FAO, 1998). The natural vegetation is a shrub savanna dominated by *Combretum*

glutinosum and *Guiera senegalensis*. The site was a 21 year fallow that had been fenced and protected against cattle grazing, fire and wood gathering.

In 1997, the fallow was divided into two plots of about. 20 m x 30 m:

One fallow plot was left untouched.

A second plot was cleared and used for growing millet (*Pennisetum glaucum* cv. Suma III) which was sown every year in July and harvested in October. The crop was repeated for 4 years until 2001. No fertilizer was applied.

In 2001, both plots were sampled. For each plot, large, randomly distributed samples (six replicates, about 8 kg each) were taken from the 0-10 cm soil layer, pooled, air-dried, sieved to less than 2 mm and stored at room temperature before analysis.

2.2. Initial parameter measurements

2.2.1. Microbial biomass

The basal metabolism of each sample was measured using the method described by Anderson and Domsch (1978). The soil microbial biomass content was estimated from the maximum rate of glucose-induced respiration by applying the formula $x = 40.04y + 0.37$, where y = the maximum initial rate of respiration (in ml CO₂ 100 g soil⁻¹ h⁻¹) and x = mg microbial-C 100 g soil⁻¹ (Anderson and Domsch, 1978).

The cultivable bacteria and fungi were counted using the dilution plate technique (Parkinson et al., 1971). Total heterotrophic and cultivable bacteria (THCB) were estimated from colony-forming units (CFU) growing on a non-selective medium (TSA 1/10, i.e. diluted Trypcase-Soy Agar, containing cycloheximide at 70 mg l⁻¹). Total cultivable fungi were estimated by growing on a selective Sabouraud medium containing chloramphenicol at 0.005 %.

2.2.2. Genetic diversity

The genetic diversity of the bacteria was measured by running a denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of the PCR products with a GC clamp. Total DNA was extracted from 0.5g aliquots of soil by adding 0.2 g glass beads (Sigma, 0.1 mm) and 1 ml lysis buffer (0.25 M NaCl, 0.1 M EDTA; pH 8) and by bead-beating the suspension (Bead-beater, Biospec products) twice for 2 min with 2 minutes heat treatment (65°C) in between. The subsequent steps were carried out as described by Proteous et al. (1997).

The 16S rDNA fragments of the bacterial soil community were amplified with 338f-GC and 518r primers (Muyzer et al. 1993). The PCR and DGGE were performed as described by Fall (2002). The number of bands and their position on the DGGE gel were analyzed using the Bio-Profil Biogene program (Vilber Lourmat) and dendrograms were created based on Dice coefficient of similarity.

2.2.3. Catabolic diversity

The functional diversity of heterotrophic microbial communities was determined by the physiological approach developed by Degens and Harris (1997). This assay provides a measure of a component of the catabolic functional diversity in soil. Therefore, to assess the diversity of decomposition functions, the variations (evenness) in catabolic response were determined on three replicate soil samples (Degens et al., 2000) by measuring the respiration response to 21 added organic substrates. The following 21 substrates were used in the assay: two amines (D-glucosamine, L-glutamine), three carbohydrates (D-glucose, D-mannose, sucrose), six amino acids (L-asparagine, L-serine, L-histidine, L-arginine, L-glutamic acid, L-cysteine), 8 carboxylic acids (citric acid, fumaric acid, malic acid, ascorbic acid, malonic acid, quinic acid, succinic acid, tartaric acid), one aromatic (gallic acid) and one polymer (α -cyclodextrine).

Catabolic diversity was determined by the evenness of the substrate utilization. Catabolic evenness (E), defined as the variability in substrate utilization, was evaluated by $E = 1 / \sum pi^2$ where pi = ratio of respiration response on the i^{th} substrate to the sum of the respiration responses on all substrates (Degens et al., 2000).

2.3. Soil incubation

2.3.1. Incubation method

10 g samples of soil were moistened to 100 % water-holding capacity (e.g. 10 g H₂O per 100 g soil) and thoroughly mixed with 0.1 g of ground *Faidherbia albida* litter (<0.5 mm) in sealed vessels (120 ml). The C content of the litter was 42.8 %, and N content was 2.0 %. Soluble C, cellulose and lignin content were 3.3 %, 19.6 % and 22 % respectively. Four replicates were set up for each soil, amended with litter and unamended. The vessels were sealed, flushed with ambient air and incubated at 28°C for 10 days.

			Fallow	Cultivated
pH			6.1	5.5
Texture		% Sand	45.1	60.8
		% Silt	43.2	32.9
		% Clay	12.3	6.6
P	<i>P total</i>	ppm	123	48
C		µg C g ⁻¹	14.8	5.0
N		µg N g ⁻¹	1.0	0.3
Mineral N	<i>NH₄⁺</i>	µg N-NH ₄ g ⁻¹	23.6 b	4.1 a
	<i>NO₃⁻</i>	µg N-NO ₃ g ⁻¹	11.2 a	15.9 b
	<i>total mineral-N</i>	µg N g ⁻¹	34.8 b	19.9 a
Total microbial biomass		µg C g ⁻¹	115.8 b	45.7 a
Bacterial count		number of CFU g ⁻¹	9.3 10 ⁵ b	5.6 10 ⁵ a
Fungal count		number of CFU g ⁻¹	1.3 10 ⁴ b	1.3 10 ³ a
Phosphatase activity		µg pNP g ⁻¹ h ⁻¹	333.4 b	137.3 a
Glucosidase activity		µg pNP g ⁻¹ h ⁻¹	74.4 b	41.6 a
Urease activity		µg N-NH ₄ g ⁻¹ h ⁻¹	25.7 b	6.6 a
Catabolic evenness (<i>E</i>)			18.6 b	16.5 a

Table 1: Physico-chemical and biological characterisric of soils (means of 3 replicates). Data in the same line followed by the same letter are not significantly different according to one-way ANOVA (P<0.05).

2.3.2. Analyses

Microbial CO₂ respiration was determined by directly injecting the air into a MTI P200 micro gas chromatograph. Ambient air was used as a control. After each CO₂ analysis, the headspaces were flushed with fresh air.

Soil inorganic-N was extracted using a KCl solution and analyzed using Bremner's method (1965).

β-glucosidase activity was determined using a method based on that of Hayano (1973). Phosphatase activity was determined using the method described by Tabatabai and Bremner (1969). Urease activity was determined using the method described by Kandeler and Gerber (1988).

2.4. Calculations and statistical analysis

To provide additional information on the functioning of specific activities of the communities, we concentrated on the change in activities by subtracting the CO₂-C, inorganic N and enzyme activities in the soil with the litter from activities in the soil without litter at the end of incubation.

The data was analyzed using one-way ANOVA and the mean values were compared using Student's t-test ($P < 0.05$).

3. Results

3.1. Initial characterization of the soils

The results in table 1 show that the physico-chemical and biological properties of the soils were different. The soil that had been cultivated had lower C, N and P concentrations than the fallow soil. The total microbial biomass was higher in the fallow soil. Counting cultivable bacteria and fungi showed that there were on average twice as many bacteria and ten times as many fungi in the fallow soil than in the cultivated soil (Table 1).

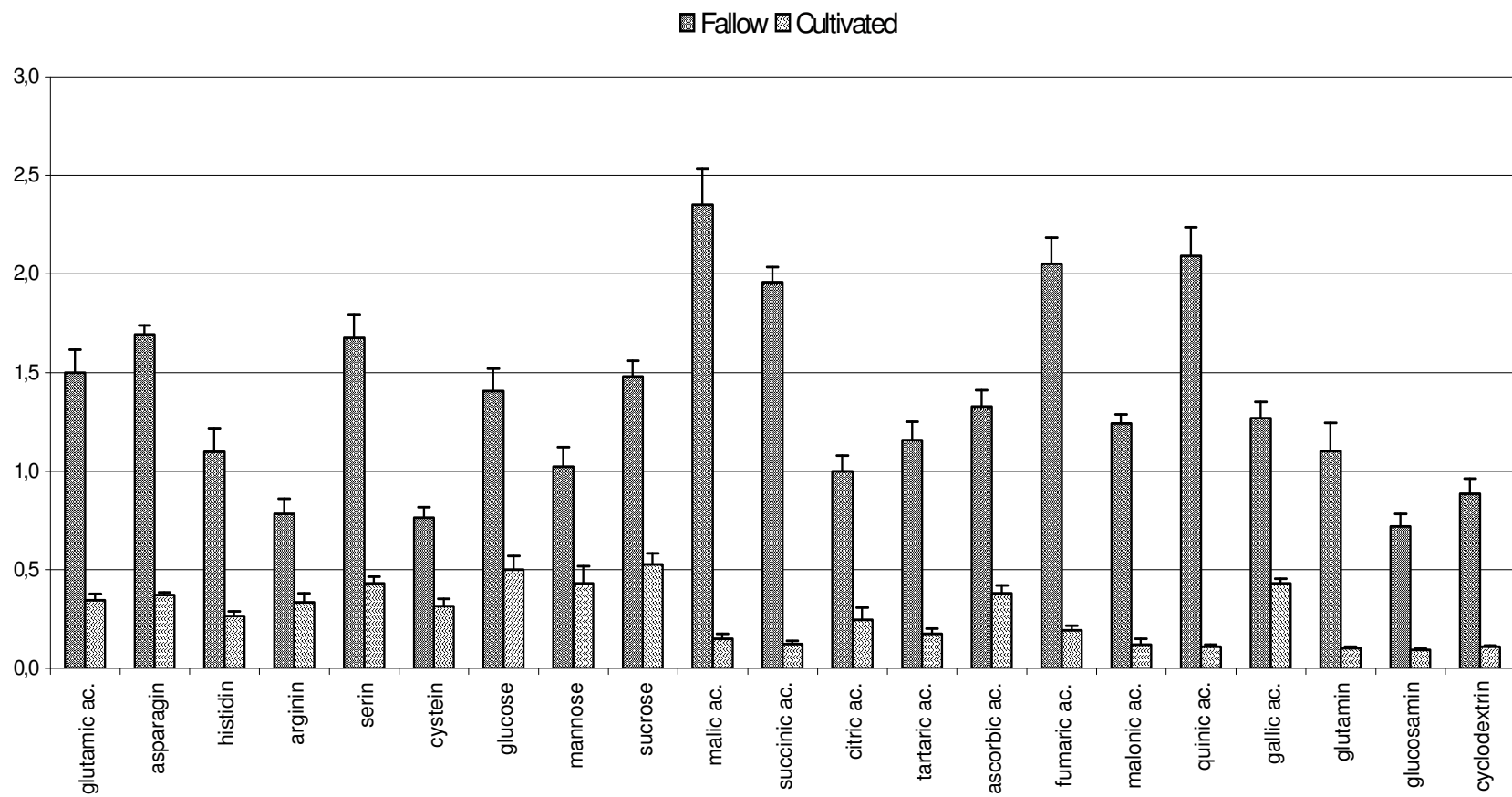


Figure 2: Catabolic response profil (CRP) of soils. Bars are standard deviation values (n=3).

The genetic diversity obtained using DGGE (Figure 1) shows different profiles for the two soils. The number of bands recorded were different. The fallow soil had more bands (48) than the cultivated soil (41). Some of the bands appeared in only one of the soils.

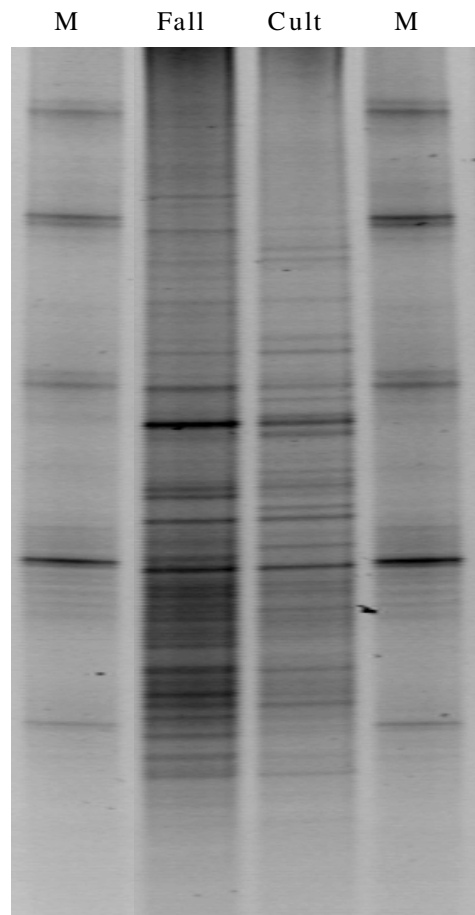


Figure 1: Denaturing Gradient Gel Electrophoresis bands for PCR products from DNA extracted from fallow soils (Fall) and cultivated soils (Cult) using 338f/518 primers.

M = marker

The similarity dendrogram using the Dice coefficient (3 % error) for the presence and absence of bands showed a similarity of 76 % between the soils. This shows that there is a significant difference between the microbial communities in the two soils.

The catabolic response profiles (CRP) are shown in Figure 2. There is a significant difference in response to the 21 substrates in the 2 soils. The response to all substrates was significantly higher ($P < 0.05$).

The catabolic evenness E , represented by the Simpson-Yule index (Degens et al., 2000), is significantly higher in the fallow soil (18.6) than in the cultivated soil (16.5).

3.2. C and N mineralization

The CO₂-C respiration obtained for the different soils and different treatments for each period are shown in Table 2.

For the soils that were not amended, the CO₂-C respiration is significantly higher for the fallow soil than for the cultivated soil, for all periods. Moreover, the change in respiration with time is similar for both soils. The respiration decreases with time. Furthermore, it is important to note that, in the first 8 hours (i.e. period 0-8), the respiration is very much higher in the fallow soil than in the cultivated soil (1.3 µg CO₂-C g⁻¹h⁻¹ and 0.3 µg CO₂-C g⁻¹h⁻¹, respectively). The total quantity of CO₂-C produced was 90.2 and 19.8 µg CO₂-C g⁻¹ respectively for the fallow soil and the cultivated soil. The difference is significant.

Adding *Faidherbia albida* litter changes the respiration response of the soil by comparison with the unamended soil. After the first 8 hours, no significant difference was recorded in the CO₂-C respiration between the two soils. However, the CO₂-C respiration recorded during the period 0-8 was significantly higher in the fallow soil than in the cultivated soil (4.9 µg CO₂-C g⁻¹h⁻¹ and 1.2 µg CO₂-C g⁻¹h⁻¹, respectively). Unlike the unamended soils, for which the respiration decreased with time in a similar way, the respiration in the amended soils was different. In the amended fallow soil the respiration was stable over the first 24 hours (e.g. periods 0-8 and 8-24). For the amended cultivated soil, the respiration increased by a factor of 3 in the period from 8-24 hours, with respect to the first 8 hours (4.1 µg CO₂-C g⁻¹h⁻¹ and 1.2 µg CO₂-C g⁻¹h⁻¹, respectively). The total quantity of CO₂-C produced was 300.9 and 238.9 µg CO₂-C g⁻¹ respectively for the fallow soil and the cultivated soil (Table 3). This is not significant.

For both soils, the additional CO₂-C (calculated by subtracting the CO₂-C produced by the unamended soil from the CO₂-C produced by the soil amended by the addition of litter) was not significantly different (211 and 219 µg CO₂-C g⁻¹ respectively for the fallow soil and the cultivated soil).

Treatment	Period (heures)				
	0-8	8-24	24-48	48-72	72-240
<i>Unamended fallow</i>	1.3 b	0.8 b	0.6 b	0.3 b	0.3 b
<i>Unamended cultivated</i>	0.3 a	0.2 a	0.1 a	0.1 a	0.1 a
<i>Amended fallow</i>	4.9 b	4.1 a	2.3 a	1.3 a	0.6 a
<i>Amended cultivated</i>	1.2 a	4.1 a	2.2 a	1.1 a	0.5 a

Table 2: CO₂-C respiration ($\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g}^{-1} \text{ h}^{-1}$) during the incubation periods 0-8; 8-24; 24-48; 48-72 and 72-240 heures. For the same treatment, data in the same column followed by the same letter are not significantly different according to one-way ANOVA ($n = 4$ and $P < 0.05$)

For the unamended soils, the amount of mineral N measured at the end of incubation were 50.7 and 31.4 $\mu\text{g N g}^{-1}$ respectively for the fallow soil and the cultivated soil (Table 3). This was higher than the quantity measured before incubation (34.8 and 19.9 $\mu\text{g N g}^{-1}$ respectively), indicating a net N mineralization of 15.9 $\mu\text{g N g}^{-1}$ for the fallow soil and 11.5 $\mu\text{g N g}^{-1}$ for the cultivated soil.

On the other hand, adding litter causes net N immobilization. At the end of incubation, the total mineral N were 0.6 and 0.1 $\mu\text{g N g}^{-1}$ respectively for the fallow soil and cultivated soil, and were less than the mineral N recorded before incubation. The amount of N immobilized was 34.2 $\mu\text{g N g}^{-1}$ for fallow soil and 19.8 $\mu\text{g N g}^{-1}$ for cultivated soil.

Treatment	Total				
	Total CO ₂ -C ($\mu\text{g CO}_2\text{-C g}^{-1}$)	N-mineral ($\mu\text{g N g}^{-1}$)	Phosphatase ($\mu\text{g pNP g}^{-1}$)	Glucosidase ($\mu\text{g pNP g}^{-1}$)	Urease ($\mu\text{g N-NH}_4\text{ g}^{-1}$)
<i>Unamended fallow</i>	90.2 b	50.7 b	265.6 b	62.0 b	21.4 b
<i>Unamended cultivated</i>	19.8 a	31.4 a	89.0 a	33.0 a	6.3 a
<i>Amended fallow</i>	300.9 a	0.6 a	719.4 b	135.3 b	46.6 a
<i>Amended cultivated</i>	238.9 a	0.1 a	483.2 a	76.3 a	36.4 a

Table 3: The production of CO₂-C, concentration of mineral N and enzyme activities measured after 240 hours of incubation. For the same treatment, data in the same column followed by the same letter are not significantly different according to one-way ANOVA ($n = 4$ and $P < 0.05$)

3.3. Enzyme activities

Without the addition of the litter, the enzyme activities (phosphatase, β -glucosidase and urease) were higher in the fallow soil by comparison with the cultivated soil (Table 3). Adding the litter increased all the enzyme activities. The enzyme activities were significantly higher in the fallow soil than in the cultivated soil except for the urease activity. The differences due to adding the litter to the fallow soil and the cultivated soil were 454 and 394 $\mu\text{g pNP g}^{-1}\text{h}^{-1}$ for phosphatase; 73 and 43 $\mu\text{g pNP g}^{-1}\text{h}^{-1}$ for β -glucosidase; 25 and 30 $\mu\text{g N-NH}_4\text{ g}^{-1}\text{h}^{-1}$ for urease respectively. The higher microbial biomass and organic carbon recorded in the fallow soil may explain the higher response of this soil to the addition of the litter, compared with to the response of the cultivated soil. However, the change in urease activity was higher in the cultivated soil, which agrees with the lower net N immobilization in this soil by comparison with the fallow soil.

4. Discussion

Very little work has been done to define the importance of microbial community diversity in soil functioning (Pankhurst et al., 1996; Giller et al., 1997). It is generally

accepted that a reduction in microbial diversity is associated with a reduction in metabolic capacity (Giller et al., 1997). The works that have studied the effect of microbial diversity on the decomposition process of the organic matter in the soil have mainly been carried out by manipulating microbial community (Degens, 1998; Degens et al. 2001; Griffiths et al., 2000, 2001; Chander et al., 2002). In these approaches, the microbial diversity is the only factor tested, the other soil properties were considered to be constant. However, the treatments used (e.g. fumigation, drying-rewetting, etc) have an effect on the soil characteristics. They also modify the availability to micro-organisms of mineral N (Jenkinson, 1988) and organic matter (Haynes and Beare, 1996; Badalucco et al., 1994). Furthermore, introducing a microbial community does not guarantee an even development of all of its components (Haldeman et al., 1995). In this study, we decided to use an approach where the decomposition function was studied in a soil whose microbial diversity had been modified by agricultural practices (i.e. a soil left fallow for 21 years against a soil cultivated for 4 years after a fallow of 17 years). The relationship between the diversity of the microbial community and the decomposition function was assessed by comparing these soils, with and without the addition of an organic substrate (litter of *Faidherbia albida*).

In the unamended soils, the quantity of CO₂-C produced during incubation, the enzyme (β -glucosidase, phosphatase and urease) activities were higher in the fallow soil than in the cultivated soil. These differences must be considered in relation to the properties of the two soils: higher clay and carbon content, greater microbial biomass, higher microbial diversity (functional and DNA) in the fallow soil, compared to the cultivated soil. These results confirm the literature. Sarmiento and Bottner (2002), and Saggar et al. (2001) showed that the potential mineralization of a define soil is positively correlated with its carbon content and in particular its richness in carbohydrates and amino acids. Furthermore, Degens et al. (2000) showed that the activity of the microorganisms, measured by CO₂ respiration, depend directly on the various pools of organic matter in the soils. These pools also determine the catabolic capacities of the microbial communities.

With the addition of a complex organic substrate, in this case *Faidherbia albida* litter, the quantity of CO₂-C produced and the enzyme activities, with the exception of urease activity, are higher in the fallow soil than in the cultivated soil. It should be noted that these activities are higher than those recorded for the unamended soils. This is in agreement with several studies that have shown that adding organic matter to soils increases the enzyme activities (Crecchio et al., 2001; Bol et al., 2003; Ajwa et al., 1999; Bonmati et al., 1985; Rezende et al. 2004). In this study, the differences in the phosphatase and β -glucosidase

activities with respect to the initial activities were significantly higher in the fallow soil. These differences could be attributed to the initial microbial communities in the soils. The increase in activities is probably a function of the metabolic capacity of the microbial communities and their ability to use the substrates supplied (Falih and Wainwright, 1996). Nannipieri et al., (1996) also observed that the phosphatase activities in acid soils, after adding glucose, was strongly correlated with the increase in ATP. Eivazi and Bayan (1996) showed that, in forest soils, phosphatase, β -glucosidase, arylsulfatase and urease activities were strongly correlated with the total microbial biomass. However, it should be noted that, in this study, the increase in urease activity is more noticeable in the cultivated soil than in the fallow. This may be partly explained by the inhibition of the synthesis of urease by the nitrogen compounds produced by the immobilization of NH_4^+ during the incubation of the fallow soil (Bandick and Dick, 1999; Ajwa et al., 1999). High levels of microbial activity in the fallow soil creates a high demand for nitrogen and, therefore, higher immobilization of NH_4^+ in the fallow soil than in the cultivated soil.

With the addition of the litter, the total $\text{CO}_2\text{-C}$ produced is higher in the fallow soil than in the cultivated soil. This difference is fully explained by a difference in respiration response between the two soils during the first 24 hours of incubation. The CO_2 respiration recorded in the first 8 hours in the fallow soil was much higher than that recorded in the cultivated soil. The CO_2 respiration remained at this level for the first 24 hours of incubation. This result is in agreement with other studies that showed a rapid response by the microbial community due to easily degradable soluble compounds in the organic substrate added (Heal et al. 1997; Trinsoutrot et al. 2000; Sall et al., 2003). For the cultivated soil, this maximum respiration was only reached during the 8-24 hour period. This difference in respiration response between the two soils recorded during the initial incubation phase should be compared with the difference in catabolic responses that were measured using the method proposed by Degens and Harris (1997). The respiration responses, for all substrates, were higher for the fallow soil than for the cultivated soil. Using this method, the quantities of organic substrates are calculated to provide the basal energy requirements for the microbial community for a short period (0-4 hours) while avoiding multiplication (Anderson and Domsch, 1978). The microbial community in the fallow soil had all the enzymes necessary for the immediate degradation of the soluble compounds in the *Faidherbia albida* litter. On the other hand, the microbial community in the cultivated soil did not have all the catabolic functions for immediately degrading these substrates. However, after this initial delay, our results show that these functions were acquired by the microbial community in the cultivated

soil, probably by the cellular multiplication stimulated by the presence of organic substrates in the litter. In this case, it could be postulated that the decomposition functions of the microbial populations which are created are the same during the decomposition of the added litter, even though there were differences in the initial catabolic and microbial diversities between the two soils. The same conclusion was reached in some studies that showed that the modification of the microbial diversity of soils by a destructive method (fumigation) and by a constructive method (inoculation) did not change the decomposition functions (Degens, 1998; Griffiths et al., 2001; Nannipieri et al., 2003). The redundancy of functions is considered to be the primary reason for the low correlation between microbial diversity and the decomposition processes. This indicates that the reduction in the microbial communities after destructive treatment, for example, has very little effect on the complete decomposition process, as other micro-organisms take over the functions provided by the missing species.

5. Conclusion

In this study, the relationship between microbial diversity and soil functioning was considered by comparing the mineralization and enzyme activities in two soils with different microbial communities. These activities were measured by incubation carried out with and without the addition of organic litter. It was not possible to determine any relationship between the diversity of the microbial community and the soil functioning for the unamended soils. Other soil properties (different clay content, carbon and nitrogen content, total microbial biomass) could also explain the results obtained. However, a relationship could be seen in the amended soils, particularly in the initial decomposition phase. During this period, the functional catabolic diversity of the soils determines their mineralization rate, which is higher in the fallow soil than in the cultivated soil. This result indicates that adding organic residues can reveal the effect of microbial diversity on soil functions. This supports the conclusions reached by other studies in the literature in which this effect was only shown by applying a particular treatment to the soils (Degens, 1998; Griffiths et al., 2001). These studies together suggest that it would be useful to apply different treatments to the soils to compare the resistance of the microbial communities to environmental stress and their resilience to recover the previous level of catabolic functioning after environmental stress.

Finally, our results show that the changes made to the microbial community by cultivation of a fallow over 4 years are not irreversible. The microbial community very quickly recovers the same functions as those of the community in the fallow soil.

Acknowledgements

We thank A. L. Dieng and M. Diouf for providing laboratory analyses.

CONCLUSIONS PRELIMINAIRES CHAPITRE III

Le rôle des communautés microbiennes dans les processus de décomposition est très largement documenté. A l'inverse, l'importance de la structure de ces communautés n'est pas précisément établie. Dans ce chapitre, les processus de décomposition (flux CO₂, activités enzymatiques) d'une litière ont été déterminés dans deux sols ayant un spectre de fonctions cataboliques et une diversité moléculaire différentes. Ces différences ont été induites par des pratiques agricoles différentes (sol en jachère versus sol cultivé depuis 4 ans).

Nos résultats ont montré qu'en présence d'une litière (*Faidherbia albida*) les flux de CO₂ sont équivalents dans ces deux situations à l'exception des toutes premières heures suivant l'amendement. En effet, durant cette période, les flux sont plus élevés dans le sol qui présente la communauté microbienne possédant une diversité catabolique élevée (sol de jachère). Néanmoins, au delà de cette période, la différence disparaît. Les fonctions cataboliques absentes au départ de l'incubation semblent être retrouvées par la communauté microbienne au cours de son développement (redondance de fonctions).

Il est à noter que dans les sols non amendés, les différences constatées ne peuvent être exclusivement attribuées aux seules différences entre les communautés microbiennes. En effet d'autres propriétés du sol (teneurs en C et N total, biomasse microbienne...) peuvent expliquer les résultats.

Enfin ces résultats indiquent que les modifications induites par les pratiques agricoles ne semblent pas avoir altérées de façon irréversibles les fonctions des communautés impliquées dans la décomposition des litières.

CHAPITRE IV

CHAPITRE IV

Décomposition de résidus marqués $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ en sol tropical sableux : effet de leur composition biochimique et de la disponibilité en azote sur l'activité et la diversité microbienne

Dans ce chapitre, nous étudions les interactions entre la composition biochimique et la disponibilité en azote sur l'activité et la diversité microbienne en utilisant des résidus de Colza (*Brassica napus* L.) marqués en $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ (siliques et racine de colza). Les flux de C et N sont déterminés ainsi que la dynamique d'incorporation du C et N dans les fractions fines du sol. Enfin, la dynamique des communautés microbiennes est comparée selon les traitements.

Dans les chapitres précédents, l'étude des flux nets de C et N ne permet pas une maîtrise totale de ces flux. En particulier, elle ne permet pas de quantifier les flux issus des litières en distinguant par exemple le C des litières du C de la matière organique native du sol. En cela, certains processus fonctionnels comme la stimulation de la décomposition de la matière organique stabilisée par l'apport de litière fraîche, appelée aussi « priming effect » sont de plus en plus décrits selon des mécanismes clairs (Fontaine et al., 2003).

De plus, la littérature scientifique concernant la décomposition des résidus végétaux des sols et ses interactions avec la dynamique des communautés microbiennes devient de plus en plus abondante en raison des nouvelles techniques de biologie moléculaire développées au cours des dernières années (Dilly et al., 2004).

Cependant, l'originalité de notre approche est d'une part, de caractériser la dynamique des communautés bactérienne et fongique selon la qualité biochimique du résidu et ses interactions avec la disponibilité de N minéral du sol; et d'autre part de préciser systématiquement dans les sols sableux si le priming effect s'exprime en fonction de la qualité biochimique des apports.

Dans une première partie de ce chapitre, la minéralisation de C et N des résidus végétaux a été évaluée en conditions contrôlées d'incubation d'un sol sableux du Sénégal avec des résidus de Colza marqués uniformément en $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$. Les émissions de $^{13}\text{C}\text{-CO}_2$ et $^{12}\text{C}\text{-CO}_2$, les teneurs en azote minéral (^{14}N minéral et ^{15}N minéral), ainsi que les quantités ^{13}C et ^{15}N résiduelles dans le sol sont déterminées. Le « priming effect » et les variations de stock de C sont déterminés selon Fontaine et al. (2004a). La dynamique d'incorporation des résidus

dans la fraction fine du sol (fraction < 50 µm) est aussi évaluée après tamisage des différents prélèvements sur un tamis de 50 µm.

Dans une deuxième partie de ce chapitre, les échantillons provenant de la même expérience que la première partie, sont utilisés pour déterminer la dynamique des communautés microbiennes. Dans cette partie, les activités enzymatiques (β-glucosidase et chitinase) et la densité des bactéries et champignons sont déterminées.

La dynamique des communautés bactérienne et fongique est évaluée dans cette partie par une méthode comparative utilisant la techniques des « fingerprint » moléculaires (PCR-DGGE: Polymerase Chain Reaction/ Denaturing Gel Gradient Electrophoresis) La PCR est effectué en utilisant des amorces spécifiques pour les bactéries et pour les champignons.

La première partie de ce chapitre fait l'objet d'un article *SALL Saidou, BERTRAND Isabelle, RECOUS Sylvie, MASSE Dominique and CHOTTE Jean-Luc* soumis à la revue Soil Biology and Biochemistry

PREMIÈRE PARTIE

Interaction between biochemical composition and N content of labeled residues on decomposition process and subsequent priming effect in a tropical sandy soil: effect of inorganic nitrogen supply

SALL Saidou^{1,*}, BERTRAND Isabelle², RECOUS Sylvie², MASSE Dominique^{1} and CHOTTE Jean-Luc¹**

- ¹ Laboratoire d'Ecologie microbienne des sols tropicaux, UR IRD 083 Ibis, Centre ISRA-IRD Bel Air Dakar, SENEGAL
- **Present address: UR IBIS, Centre IRD Ouagadougou, 01 BP182 Ouagadougou BURKINA FASO
- ² INRA Unité Agronomie LRM, 2 esplanade Roland Garros, 51686 Reims Cedex 2.

Article soumis à la revue Soil Biology and Biochemistry

Abstract

Crop residue quality and N availability play an important role in decomposition processes in soil. Little is known about the interactions between residue quality, N availability on mineralization of simultaneously freshly added residues and endogenous SOM associated to the input of these residues. We investigated how residue and soil N - the two components of N availability affect the fate of C and N from residues of contrasting biochemical quality and the so called “Priming Effect” involved in the decomposition process in a typical tropical sandy soil. ^{13}C and ^{15}N labeled Oilseed rape residues with similar biochemical components but contrasting concentrations of N (Pod walls with low (L) and high N (H)) in contrast to residues with similar N concentrations but contrasting biochemical composition (root and pod wall (H)) were selected. The effects of soil inorganic N availability was tested by adding 0 mg or 40 mg N kg⁻¹ KNO₃ solution to the soil. Residue decomposition was studied under controlled conditions for 134 d at 28°C. Residues with an initial N availability (residue N plus soil N) varying from 1.7% to 3.2%, and having similar chemical composition (pod wall (H) and pod wall (L)) displayed similar C mineralization kinetics whatever their N content. In contrast, residues of different chemical quality but similar C to N ratios had different C mineralization kinetics, with a higher rate of decomposition of the pod walls (H) than the roots. Lower rates root-C mineralization resulted in higher residual root-C accumulating in the > 50 µm soil fraction compared to the pod wall-C. In addition, less N mineralization occurred in root than in pod walls with a higher residual ^{15}N on the fraction < 50 µm soil, compared to root-amended soil with the residual ^{15}N superior in fraction > 50 µm. The increased stabilisation of root-C might be due to an intrinsic recalcitrance of the root tissues rather than to greater physical stabilization of root-C in the fine soil fraction following decomposition. The biochemical recalcitrance of root tissues could also explain the lower priming effect measured for the root compared to the pod walls. For all residues (pod walls H, L and root) there was no effect of increasing soil N on the maximum amount of N immobilised with no extra consumption of N during decomposition. However, higher soil N concentration resulted in earlier net remineralization of N in soils amended with residues.

Keywords: Tropical sandy soil; labeled residues; biochemical quality; C and N mineralization; Priming effect; N availability

1. Introduction

Interactions between crop residues quality and N availability play an important role in the decomposition process: soil N can influence the decomposition of added crop residues, e.g. enhancing the rate of decomposition in the short-term. Residues with high C to N residues decompose slowly, because the microbial N needs of the decomposers are high (e.g. Recous et al., 1995). Conversely, readily available N can inhibit the long-term decomposition of lignin, either by suppressing the synthesis of ligninolytic enzymes or by promoting the formation of additional recalcitrant compounds (Sall et al., 2003). The dynamics of C and N closely interact during decomposition and the resulting production of mineral N in soil results from the initial quality of C and its dynamics of decomposition, as well as from the initial soil and residue N contents (Mary et al., 1996). However published studies have generally involved crop residues with varying biochemical quality and organic N content, while initial soil N contents depending on the season and sampling conditions. In such cases, the observed C mineralization may not only result from the initial biochemical quality of the residues but also from the dynamics of the availability of N during decomposition (Recous et al., 1995; Trinsoutrot et al., 2000).

It is well known that the application of organic residues is not only limited to a contribution in C-CO₂ respired. It modifies the dynamic of endogenous organic compounds. The so-called priming effect has been well documented (Kuzyakov et al., 2000; Fontaine et al., 2004). However, not many quantitative data are available in the literature (Wu et al., 1993). In addition, the different existing studies have dealt with simple organic molecules (Dalenberg et Jagger, 1989 ; Hamer et al., 2002 ; Fontaine et al., 2004). It is widely recognized that the full range of compounds that may interact during a decomposition process of plant residue is vast. Therefore, the priming effect may be influenced by different quality of residues amendments and by fertilizer additions.

The objective of our work was to study the interactions between crop residues quality and N availability. We investigated how residue and soil N - the two components of N availability affect the fate of C and N from residues of contrasting biochemical quality and the priming effect involved in the decomposition. To do so, crop residues were chosen so as to combine either two different qualities or two different residues N content, in combination with low and high soil N level.

2. Material and methods

2.1. Soil sampling

The soil was collected at Sonkorong (13.45°N, 15.40°W) in the Sahelo Soudanian zone of Senegal. This region has a dry tropical climate with a bimodal season. The annual precipitation (600-700 mm) is confined between July and October. The soil is sandy ferruginous (Maignien, 1965) and classified as Lixisol (FAO, 1998). Soil was sampled to 0-10 cm depth in June 1999 before the clearance of a 20 old fallow. Six replicates (about 8 kg each) were randomly sampled, pooled, air-dried, sieved to < 2 mm and stored at room temperature. Organic C content, total N, soil pH (H₂O), clay, silt and sand contents were respectively 9.74 mg C g⁻¹ soil, 0.79 mg N g⁻¹ soil, 5.8, 10.4%, 34.3% and 55.3% on a soil dry weight basis. The initial microbial biomass, determined by fumigation-extraction method, corresponded to 118 mg C kg⁻¹ soil.

2.2. Plant residues

Oilseed rape plants (*Brassica napus* L. cv. Star) were grown under hydroponic conditions in an airtight growth chamber (see Trinsoutrot et al., 2000). The plants were continuously labeled with ¹³C by using the same ¹³CO₂ source. K¹⁵NO₃ was added the nutrient solution. Two sets of plants were grown: the first was grown for 195 d with a nutrient solution containing 1 mM of K¹⁵NO₃. The second was grown for 78 d with 3.0 mM K¹⁵NO₃. Therefore the plants had a low and high N content, respectively (Trinsoutrot et al., 2000). The roots, stems and pod walls were separated at harvest, then air-dried and ground to < 1 mm. We selected one set of roots and two sets of pod walls with low (L) and high (H) N content for this study.

The biochemical composition of oilseed rape residues was measured according to Linères and Djakovitch (1993) and Van Soest (1963). Briefly, the soluble fraction of the different materials was obtained by hot water extraction (100°C) for 30 min followed by extraction with a neutral detergent (100°C) for 60 min. The hemicellulose, cellulose and lignin fractions were then determined as described by Van Soest (1963). Total C and N contents of residues were measured by elemental analysis (NA 1500, Fisons Instruments) while isotopic excess (¹³C and ¹⁵N) were determined using an elemental analyzer (NA 1500, Fisons Instruments) coupled to a mass spectrometer (Isochrom, Fisons instruments).

	Root	Pod wall (H)	Pod wall (L)
^{13}C (%)	2.36	2.91	2.32
^{15}N (%)	8.45	9.91	5.42
Total-C (%)	43.7	45.8	43.9
Total-N (%)	1.18	1.33	0.76
<i>C-to-N ratio</i>	37	34	58
Soluble C (%) ^a	25.5	35.1	37.1
<i>C-to-N ratio</i>	19	14	32
Hemicellulose C (%) ^a	26.9	19.3	10.5
<i>C-to-N ratio</i>	40	58	70
Cellulose C (%) ^a	30.3	37.1	41.9
<i>C-to-N ratio</i>	> 200	> 200	> 200
Lignin C (%) ^a	17.3	8.5	10.5
<i>C-to-N ratio</i>	21	65	70

Table 1: Isotopic excess values (^{13}C , ^{15}N), total C, -N and C and N distribution amongst the different biochemical fractions of labeled plant parts.

^a % of residue-C

Based on these analyses we selected plant parts so as to combine residues with similar biochemical qualities but having contrasted N content (or C to N ratio), and conversely, residues with close C to N ratios but contrasting biochemical composition. The experimental design therefore consisted into three “residue” treatments (Table 1) using pod walls (L) with a “low” N content at 0.76%, pod walls (H) with a “high” N content at 1.33% and roots at 1.18% N with a C to N ratios close to those of the pod walls (H). The biochemical compositions of the two pod walls were similar while the roots exhibited higher hemicellulose and lignin C concentrations (26.9 and 17.3% of total C, respectively). For the three residues, the soluble fraction was the largest fraction representing 37.1%, 35.1%, and 25.5% of the total C of the pod wall (L), the pod wall (H), and the root, respectively. The C to N ratio of this fraction varied greatly with the N nutrition regimes of the plants.

2.3. Soil incubation

There were two concentrations of soil mineral N: the soil had an initial mineral N concentration of $37.4 \pm 0.6 \text{ mg N kg}^{-1}$ to which 40 mg N kg^{-1} (40N) was added or not (0N). To obtain these two concentrations, the soil was moistened to 50% of the WHC with either deionized water (0N treatment) or with 40 mg N kg^{-1} as KNO_3 solution (40N treatment). After a 24 h conditioning at 20°C , deionized water was added to both treatments to reach 100% WHC. Ground residues were added at a rate equivalent to $4 \text{ g dry matter kg}^{-1}$ dry soil, thoroughly mixed to the moistened soil just before incubation and the beakers containing soil + residues were placed into sealed glass jars. Control treatments with the two rates of mineral N (0N and 40N) but without added residues were prepared and incubated in the same way. Throughout the entire incubation (134 d) soil moisture was maintained at 100% WHC by weighing weekly and readjusting with deionized water when necessary. Measurements of C mineralization were performed on soil samples (equivalent to 50 g dry soil) incubated in 500 ml glass jars (4 replicates per treatment) in the presence of a CO_2 trap (13 ml 1 M NaOH). Mineral N and microbial activities and diversities were determined on soil samples equivalent to 35 g dry soil (3 replicates per treatment) placed in 2 l jars (9 pots per jar) with 30 ml of 1 M NaOH as CO_2 trap. On selected d (0, 8, 15, 23, 34, 48, 80 and 134 d) a subsample of the soil used for mineral N extraction was separated into $< 50 \mu\text{m}$ and $> 50 \mu\text{m}$ soil fractions by centrifuging and wet sieving to $50 \mu\text{m}$ using 1 M KCl solution. Each soil fraction was weighed before and after drying (105°C for 24 h) to take into account the increase in weight

due to the presence of KCl. The whole experiment was held at $28 \pm 0.5^\circ\text{C}$ for the two initial soil mineral N contents mentioned above.

2.4. Carbon and nitrogen analyses

Concentrations of CO_2 trapped in the NaOH solutions were measured by continuous flow colorimetry (Chaussod et al., 1986) using an auto-analyzer (TRAACS 2000, Bran & Luebbe). Amount of $^{13}\text{C}\text{-CO}_2$ was then determined by adding 10 ml of 0.5 M BaCl_2 to the NaOH solutions. The resulting precipitates of BaCO_3 were separated by vacuum filtration (glass fiber filter) and dried at 80°C for 8 h. The isotopic excess was measured by mass spectrometry, after elemental dissociation of the BaCO_3 precipitate in the presence of a catalyst (PbO_2). Isotopic C remaining in $< 50\ \mu\text{m}$ and $> 50\ \mu\text{m}$ soil fractions was measured by grinding the soil to $80\ \mu\text{m}$ and analyzing it with an elemental analyzer (NA 1500, Fisons Instruments) coupled to a mass spectrometer (Isochrom, Fisons instruments).

Soil mineral N was extracted with 1 M KCl (30 min shaking at 20°C , soil-to-solution ratio 1/4) and centrifuged 20 min ($5800 \times g$) before being frozen pending analysis. Mineral N in soils and residues extracts was analyzed by continuous flow colorimetry (TRAACS 2000, Bran & Luebbe). Concentrations of NO_3^- and NO_2^- were determined by adapting the method proposed by Kamphake et al. (1967). Ammonium ions were determined following the method of Krom (1980). Isotopic excess of inorganic N in soil extracts was determined following the microdiffusion technique described by Fillery and Recous (2001). Briefly, 10 ml of KCl soil extract was added to a glass jar containing a mixture of KCl, MgO, Devarda's alloy and surfactant (Brij 35). Acidified glass fiber filters ($10\ \mu\text{l}$ 1 M H_2SO_4) were used to trap NH_3 . A single filter was mounted on a stainless wire hook which was glued to the under side of the glass jar lid. After the lids were replaced, the jars were kept at 20°C for 7 d. The acidified filters were then removed and placed into a tin foil capsule. Isotopic excess measurements (^{15}N) was measured within 24 h. Standard solutions were used to check that total recovery of NH_3 has been obtained.

Total C and N contents of soils and their isotopic excesses were measured after 134 d of incubation by grinding the soil to $80\ \mu\text{m}$ and analyzing it with an elemental analyzer (NA 1500, Fisons Instruments) coupled to a mass spectrometer (Isochrom, Fisons instruments).

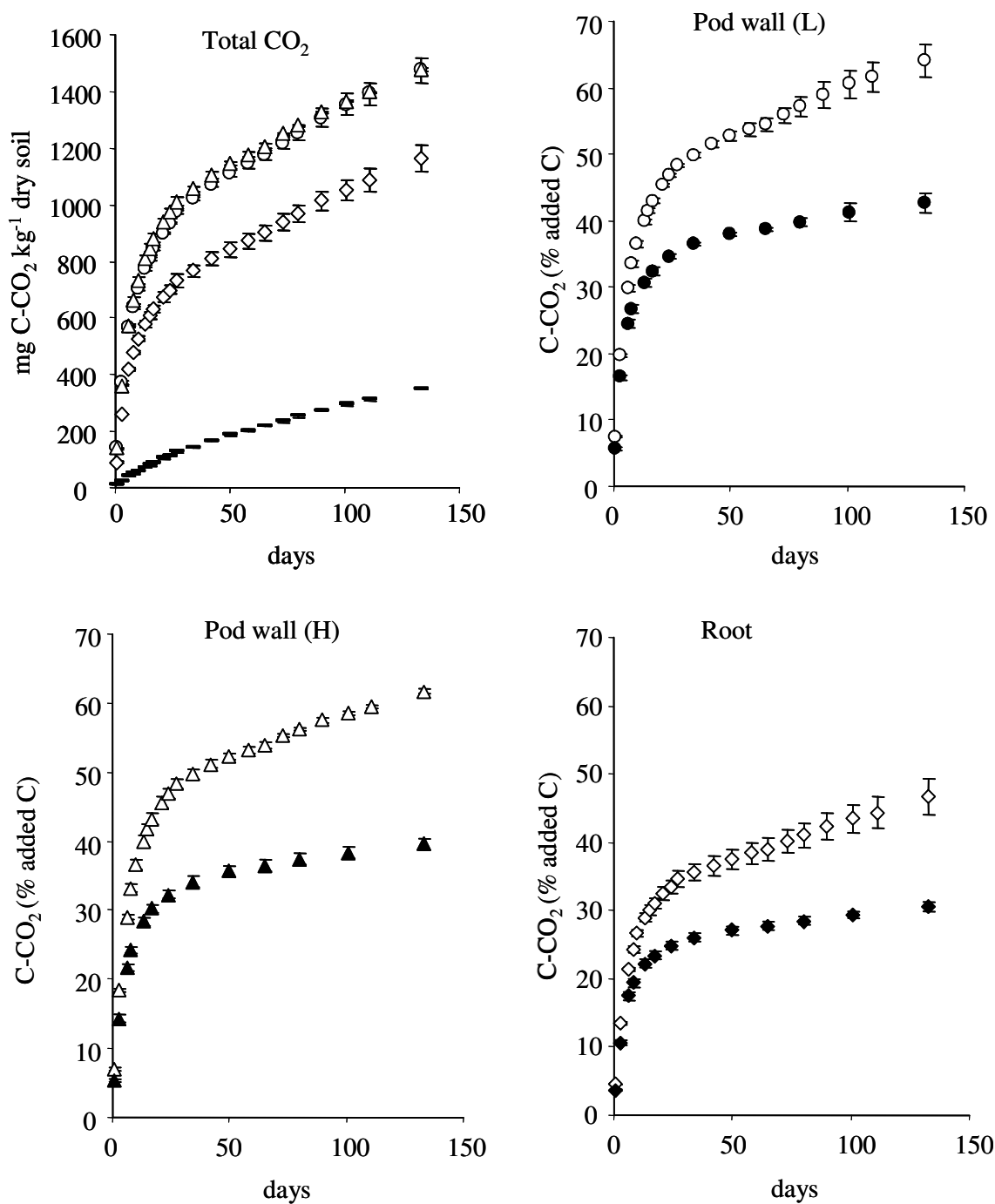


Figure 1 : Amount of CO₂ mineralized in soils without residues (— control) and after addition of ¹³C ¹⁵N rape residues: ○ pod wall (L); △ pod wall (H) and, ◇ root. Data are expressed as cumulative C mineralization during the whole incubation period (134 days) and only the 0N treatment is shown. Empty and full symbols represent total CO₂ and residue-derived C (R-¹³CO₂), respectively. Bars are standard deviation values (n = 4).

2.5. Calculations

The apparent C mineralisation of residue was calculated as the difference in CO₂ evolved between the amended (CO₂-amended) and control (CO₂-control) soils for each treatment. The mineralization of the residue-derived C (R-¹³CO₂) was calculated from the labeled ¹³CO₂ evolved.

The ¹³C balance was calculated at the end of the incubation by summing up the cumulative amount of ¹³C mineralized (R-¹³CO₂) plus the total ¹³C in the unfractionated soil (total ¹³C soil).

The priming effect was the excess of mineralised ¹²CO₂ from the soil and was deduced from the following equations:

$$[\text{CO}_2\text{-amended}] - [\text{R-}^{13}\text{CO}_2] = \text{R-SOMC} \quad (1)$$

$$\text{PE} = [\text{R-SOMC}] - [\text{CO}_2\text{-control}] \quad (2)$$

With CO₂-amended and CO₂-control being the cumulative amount (mg kg⁻¹) of C mineralized in the residue amended and in the control soil, respectively. R-SOMC represents the amount of soil organic matter (SOM) C mineralized in the presence of residues. The priming effect was then deduced from the difference between the mineralization of SOM in the presence of residue (R-SOMC) and in the control soil (CO₂-control).

The variations in soil organic C stock (ΔC_{org}) induced by the addition of residues were deduced from the equation published by Fontaine et al. (2004):

$$\Delta C_{\text{org}} = [\text{Residue-derived C soil}] - \text{PE} \quad (3)$$

With Residue-derived C soil being measured by the residual total ¹³C in soil. This calculation was made after for incubation 134 d.

The data was analyzed using one-way ANOVA (Microsoft StatView software, Microsoft Corporation) and the mean values were compared using Student's t-test (P < 0.05).

3. Results

3.1. C-CO₂ mineralization

C-CO₂ respiration was not significantly affected by the addition of inorganic N (data not shown). Compared to the control soil, the presence of residues increased the amount of C

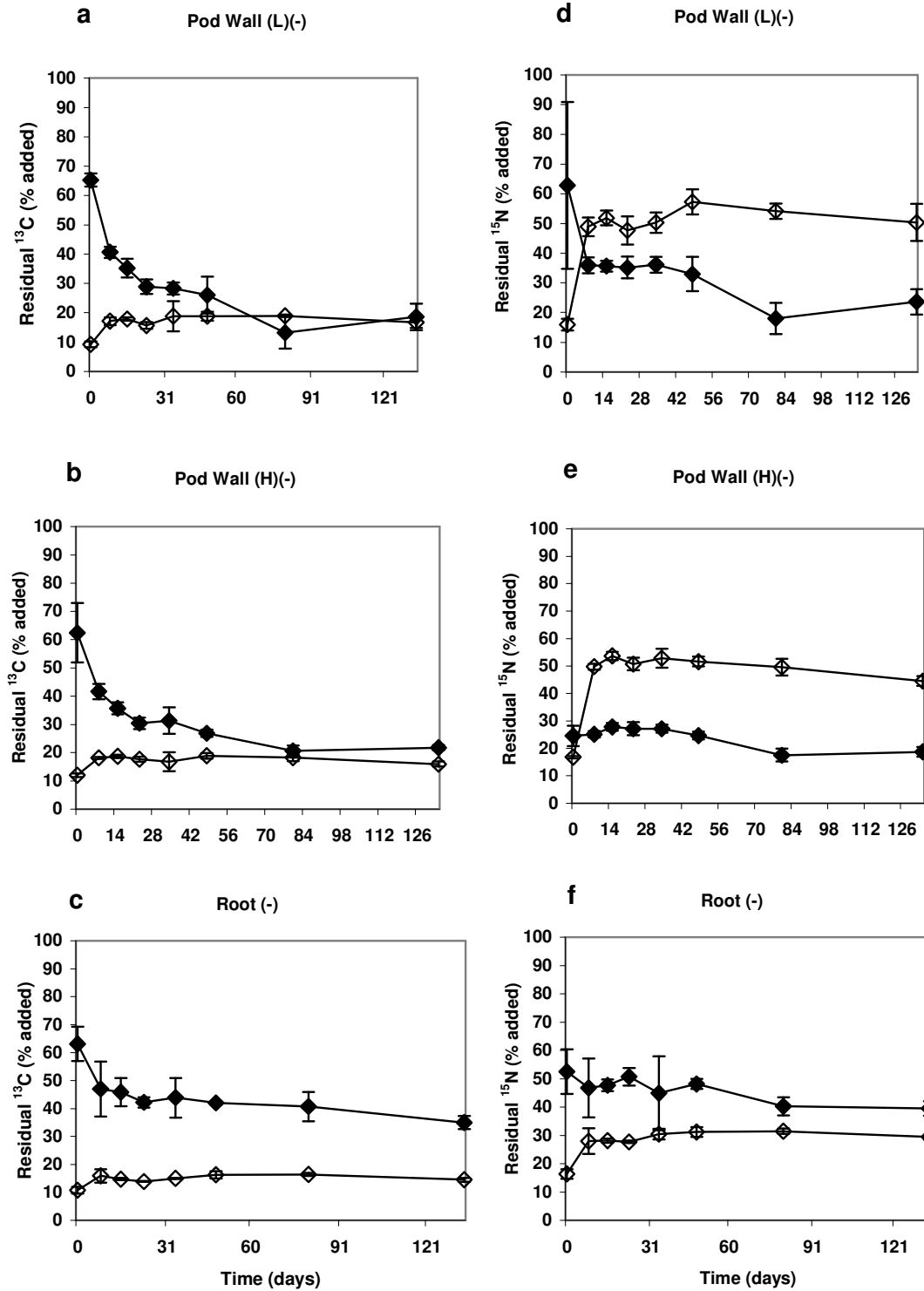


Figure 2: ^{13}C and ^{15}N remaining in fine ($F < 50\ \mu\text{m}$) and coarse ($F > 50\ \mu\text{m}$) soil fractions. Treatments without (-) N added were represented. Bars represent SD values, $n=3$

mineralized. After incubation for 134 d, the total amount of C-CO₂ respired in the amended soils was 4.2 and 3.3 times greater in the Pod walls-amended soils and the root-amended soil than that in the control soil, respectively (Fig. 1). A very similar pattern of C-CO₂ evolution was recorded for the soils amended with the two pod walls while the roots mineralized less C from the beginning of the incubation. Thereafter, similar rates were obtained in the different treatments. Cumulative apparent mineralisation (calculated by difference with the control) for the entire incubation accounted for $65 \pm 3\%$, $63 \pm 1\%$ and $48 \pm 3\%$ of the C added with the pod wall (L), pod wall (H) and root, respectively. The corresponding residue-derived mineralisation (R-¹³CO₂) was lower and amounted to $43 \pm 2\%$, $40 \pm 1\%$ and $30 \pm 1\%$ of the added ¹³C (Fig. 1).

3.2. Dynamics of residues-derived ¹³C in the soil fractions

The mean weight recoveries of particle-size fractions amounted to $99.1 \pm 0.6\%$ whatever the treatments and the sampling dates (data not shown). Indeed, no significant variation of total C and N content of the different fractions were recorded over time incubation.

No significant difference was recorded on the kinetics of labeled C remaining in the soil fractions (¹³C soil fractions) for the fertilized (40N) and unfertilized (0N) treatments (data not shown). Therefore, we represented on Figure 2 (a, b and c) only the remaining ¹³C without (0N) added N.

At the time zero (T0) sampling date the sum of the ¹³C contained in the soil fractions accounted for 74.4%, 74.5 and 73.8% of the total amount of ¹³C added with the pod wall (L), pod wall (H) and roots, respectively. The undercover ¹³C (25%) might be explain probably by the ¹³C soluble fraction leached during the fractionation procedure. As the soluble ¹³C was not determined, we mainly focus on the results for the recoveries after soil fractionation of organic ¹³C. For all residues amended soil, a substantial amount of the added ¹³C (on the whole 10%) were present in fine fraction (< 50 µm). The initial ¹³C of this fraction was probably due to the very fine particle passing through the sieve (residues were ground to 1 mm sieve).

The amount of ¹³C isolated in the particle-size fraction > 50 µm decreased during the incubation (Fig. 2a, 2b, 2c). The decrease was sharper for the pod wall residues (Fig. 2a and 2b) than for the roots (Fig. 2c): almost half of the amount present initially (T0) disappeared within the very first day of incubation in the pod wall amended soils, while less than 1/3

	0N treatment			40N treatment		
	Root	Pod wall (H)	Pod wall (L)	Root	Pod wall (H)	Pod wall (L)
<i>% added ¹³C</i>						
Total ¹³ C soil	63.0 (3.3)	44.3 (8.7)	43.6 (1.4)	66.3 (2.0)	63.8 (9.5)	56.8 (4.0)
R- ¹³ CO ₂	30.5 (0.6)	39.6 (0.7)	44.6 (1.4)	28.1 (0.5)	38.1 (0.8)	41.3 (0.6)
¹³ C balance	93.5 (3.8)	83.9 (9.9)	88.3 (2.2)	94.4 (2.3)	101.9 (10.7)	98.1 (4.6)
<i>% added ¹⁵N</i>						
¹⁵ N min	12.8 (1.4)	18.8 (0.8)	14.5 (2.7)	12.5 (0.8)	15.0 (1.1)	18.2 (0.7)
¹⁵ N balance	91.8 (10.4)	88.1 (11.2)	118.9 (12.2)	92.5 (13.5)	102.5 (10.5)	123.0 (36.4)

Table 2: ¹³C and ¹⁵N balances at the end of the incubation period (134 days) in the treatments with (40N) and without (0N) mineral nitrogen added to the soil. ¹³C recovery was determined as the sum of the ¹³C remaining in the unfractionated soil (Total ¹³C soil) and the ¹³C mineralized (R-¹³CO₂). All the data are expressed as percent of the amount of ¹³C or ¹⁵N added with the residues. Values in parentheses are standard error of the mean (n = 4 for ¹³C; n = 3 for ¹⁵N).

	0N treatment			40N treatment		
	Root	Pod wall (H)	Pod wall (L)	Root	Pod wall (H)	Pod wall (L)
Priming Effect	282 (44)	403 (20)	376 (31)	278 (36)	375 (16)	384 (4)
Δ C _{org}	819 (94)	422 (196)	390 (52)	881 (63)	794 (241)	612 (98)

Table 3: Priming effect measured at the last sampling date using the R-¹³CO₂ data. Δ C_{org} is the change, after 134 days of incubation, in soil organic C due to residues addition. Δ C_{org} was calculated as the difference between the residual total ¹³C in soil and the amount of ¹²C lost due to the excess of mineralized soil C. All the data are expressed as mg C kg⁻¹ soil. Values in parentheses are standard error of the mean (n = 4).

disappeared during the same period in the root amended soil. At the end of the incubation the amount of labeled C remaining in the soil fraction $> 50 \mu\text{m}$ was significantly less for the two pod walls (18 and 22% of added C respectively for pod wall (L) and pod wall (H)) than for the root residue (35% of added C). Inversely, in the $0-50 \mu\text{m}$ fraction, similar amounts of ^{13}C were recovered for both types of residues (16% for two pod walls and 14% for roots). This fine fraction appears to be early enriched with soluble ^{13}C , and remains constant toward the end of experiment.

3.3. ^{13}C recovery and priming effect

Total ^{13}C in soil (Total ^{13}C soil) were measured at the last sampling on unfractionated soil samples. The ^{13}C recoveries averaged 93.4% (ranging from 83.9% to 101.9%) of applied ^{13}C (Table 2). The residues derived $^{13}\text{C}\text{-CO}_2$ ($\text{R-}^{13}\text{CO}_2$) varied from 44.6% (pod walls (L)) to 30.5% (roots) of the input, the difference being significant (Table 2).

The priming effect induced by the addition of residues resulted in an extra amount of C mineralized from the SOM pool ranging from 282 mg C kg^{-1} (root-amended soil) to 403 mg C kg^{-1} (pod wall (H)-amended soil) for the 0N treatment (Table 3). Moreover the priming effect was residue-type dependent with a lower priming effect in the root- than in the pod wall amended soils. However, no significant differences were found between the treatments with (40N) and without (0N) added inorganic N. The effect of the introduction of different residues on endogenous soil organic matter ($\Delta\text{C}_{\text{org}}$) could be viewed by calculating the variation in soil organic C stock following equation 3. Results showed a positive budget for all residues indicating that soil residue-C remaining after 134 d of incubation, counterbalanced SOM lost due to priming effect. Therefore, the root amendments increased the concentration of SOM more than the pod wall additions. The addition of mineral N to soil slightly increased the soil carbon budget for root amended soil.

3.4. Dynamics of mineral nitrogen in soils

Figure 3 presents the evolution of mineral N in soil for each residue without (0N) and with (40N) addition of N. For the control soils, positive net N mineralization was recorded over the whole experiment. By contrast, three different phases could be observed for the residue-amended soils. During the first 8 d of incubation there was a decrease in mineral N (immobilisation). Then, during the 8-15 d period, the concentrations of mineral N remained

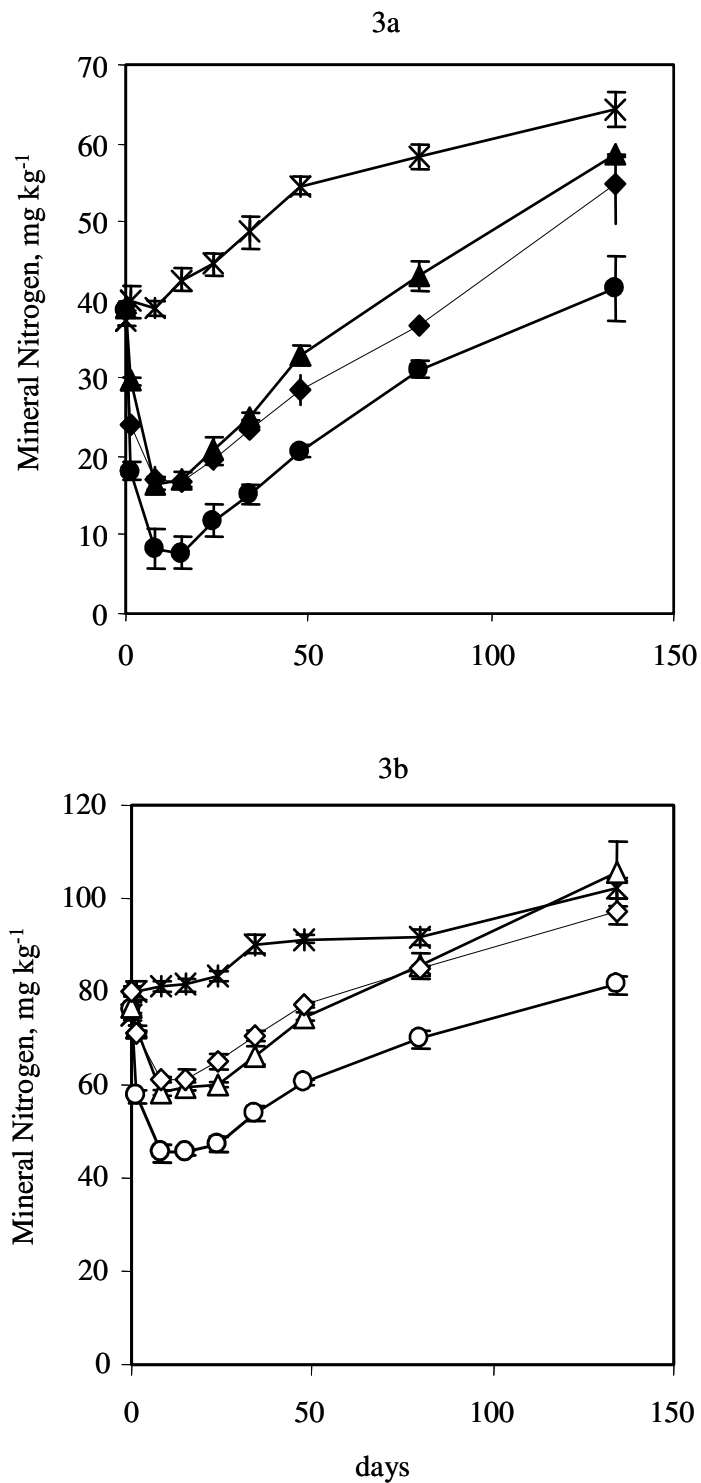


Figure 3 : Evolution of net mineral N in soil after addition of rape residues and as a function of time (days). The following symbols were used for the different rape residues: x control; o pod wall (L); Δ pod wall (H) and ◇ root. Full symbols (3a) and empty symbols (3b) represent the treatments without (0N) and with (40N) mineral N added to the soil, respectively. Bars are standard deviation values ($n = 3$).

stable but increased steadily until the end of the incubation thereafter (Fig. 3). Whatever the treatment, the soil mineral N content was never limiting the decomposition process: the lowest value of soil mineral N being 7.7 mg N kg^{-1} at 15 d which corresponded to the pod wall (L) (0N) treatment (Fig. 3a). Expressed as a function of C mineralisation, the maximum net immobilization (37 mg N kg^{-1} dry soil) occurred with the pod walls (L) (Fig. 4a). The amounts of mineral N accumulated in this treatment remained below those of the control soil until the end of the incubation period. The pod walls (H) and root showed lower net immobilisation at a maximum of 26 and 27 mg N kg^{-1} dry soil, respectively (Fig. 4b, 4c). Only the pod wall (H) (40N) showed a higher accumulation of mineral N than in the control soil after 134 d, i.e. a net mineralization (Fig. 4b). Roots induced a remineralization of N when 40% of the added C was mineralized while the pod walls still induced immobilization of N.

The addition of inorganic N (40N) did not influence the dynamics of N mineralization during the first 4 to 5 weeks until the maximum of immobilisation was reached (Fig. 4a, 4b, 4c). After that, the soils having a higher initial N content (40N treatments) showed a faster phase of mineralization compared to the 0N treatments. This difference in rate was more pronounced for the pod wall (H) and root having higher N content (Fig. 4b, 4c). In addition, it appeared that the addition of N (40N) also modified the start of the net mineralization phase, which began earlier in all fertilised treatments.

The incorporation of added organic matter into the fine fractions during the incubation, was performed after extraction the mineral ^{15}N . The release of ^{15}N mineral from the different amended soil was therefore estimated only at the end (Table 2) of incubation. Inorganic ^{15}N accumulated in soil represented 12 to 19% of applied ^{15}N with a maximum for pod wall (H)(-)-amended soil (18.8%), and minimum for root (12.8 %). The amount of mineral ^{15}N accumulated in the soil at the end of the incubation showed a low net mineralisation (accumulation) of the residue N in soil, and this was slightly lower for the root residues than for the pod walls.

Whatever the treatments and the sampling date, residues derived inorganic N represented less than 2% of total inorganic N (Data not shown).

Except for the pod wall (L) amended soil (^{15}N recovery > 100% of applied ^{15}N), the ^{15}N balances were close to 100% of applied ^{15}N (Table 2).

The distribution of the organic ^{15}N among the two fractions of soil, shown in figures 2d, 2e and 2f, was different to that of ^{13}C . Recoveries of added ^{15}N were 78.8, 41.3 and 68.9% respectively for pod wall (L), pod wall (H) and root amended soil. The amount (24.5%) of the

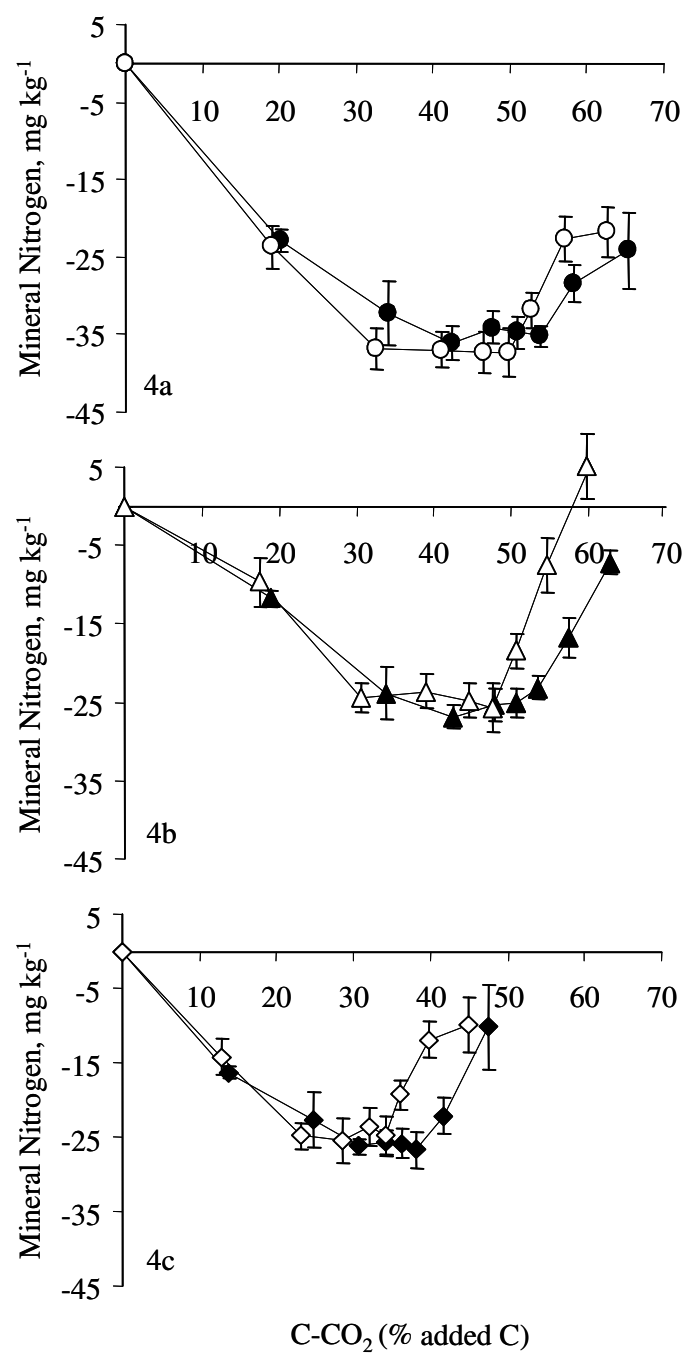


Figure 4: Relationship between net mineral N and C mineralization of the residues. The following symbols were used: \circ for the pod walls (L)(4a); Δ for the pod walls (H) (4b) and \diamond for the root (4c). Empty and full symbols represent the treatments with (40N) and without (0N) mineral N added to the soil, respectively.

added ^{15}N recovered in the fraction $> 50\ \mu\text{m}$ for pod wall (H) was unexpectedly small compared to pod wall (L). This may explain by an experimental error or also a possibility for this residue to content large quantity of soluble ^{15}N . As we considered for ^{13}C , the initial organic ^{15}N (on the whole, 16%) of the fine fraction probably result to the particle passing through sieve.

During the 8 day after incubation, the relative quantity of ^{15}N increased faster from 16 to 49% for the two pod walls and 16 to 28% for root. A more detailed examination of the different treatments showed that the proportion of residual ^{15}N at the end within the pod walls was superior on the fraction $< 50\ \mu\text{m}$. In contrast, in the root-amended soil, the residual ^{15}N was superior in fraction $> 50\ \mu\text{m}$. Consequently, less N mineralization occurred in root than in pod walls.

4. Discussion

4.1. *Effect of residue quality on C dynamics*

The experiment was designed was to distinguish the effects of residue N content and residue biochemical composition on C and N dynamics occurring during the decomposition process in soil. To do so, two residues having close biochemical quality but contrasting concentrations of N (Pod walls with low (L) and high N (H)) and two residues with close N concentrations but contrasted biochemical qualities (root and Pod wall (H)) were chosen (Table 1). As expected from their biochemical composition, the pod walls having larger soluble C fraction but lower C associated to the lignin-like fraction mineralised faster and quantitatively more C than root, confirming the general pattern of crop residues decomposition (Broadbent and Nakashima, 1974; Puget and Drinkwater, 2001; Trinsoutrot et al., 2000). Trinsoutrot et al. (2000), decomposing the same organic residues in a calcareous soil under laboratory conditions, indicated that the early stage of residue decomposition was positively related to their concentration in soluble carbohydrates. The lower extent of root mineralization could be attributed to the presence of N-lignin recalcitrant compounds (Camiré et al., 1991; Trinsoutrot et al., 2000, Abiven et al., submitted).

This lower C mineralization translated into higher residual root-C in soil compared to pod wall-C (Fig. 2). It is noticeable that most of the extra residual root-C was found into the $>50\ \mu\text{m}$ coarse fraction. This also suggests that the higher stabilisation of root-C might be due

to an intrinsic recalcitrance of the root tissues rather than to a higher physical stabilisation of root-C into the fine (< 50 μm) soil fraction after decomposition.

Carbon mineralization of exogenous organic matter could be calculated either from the apparent ^{12}C - CO_2 mineralization or by using the labeled data (^{13}C - CO_2). The difference between these two calculations being the so-called priming effect (PE). The PE is defined as the extra mineralization of SOM associated to the input and decomposition of recently added organic matter (Bingeman et al., 1953; Liljeroth et al., 1994). The stimulation of the endogenous microbial biomass, and the production of enzymes, or the development of fresh microbial biomass are often proposed to explain the origin of this extra amount of C- CO_2 respired in the presence of an exogenous source of C (Tate, 1987; Pascual et al., 1998; Kuzyakov et al., 2000). According to Fontaine et al. (2003), the priming effect results from the competition between r- and K-strategist microorganisms for energy and nutrients source (e.g. SOM and exogenous components). However, our results clearly demonstrate that the incorporation of roots and pod walls resulted in a stimulation of C mineralization from endogenous organic compounds. The PE with roots was lower than that with pod walls. The priming effects have not previously been quantified with complexe and recalcitrant organic substances like those used here. The difference in biochemical composition between the pod walls and the roots might explain the difference in the intensity of the priming effect. As underlined above, roots contained an important quantity of suberized cell walls as well as a typical cell wall architecture (Casparian bands) both constituting an efficient barrier to microbial attack (Kolattukudy, 1981; Zeier et al., 1999; Lal, 2002). Therefore, we hypothesised that after having decomposed the more accessible root C fraction, microorganisms were not adapted to degrade the remaining tissues (more recalcitrant). In addition, it is also possible that substances such as suberins presents a “toxic” effect to the soil biota leading to a decrease in microbial activity that could explain the lower PE and C mineralization observed.

The higher root-derived C content in the coarse size fraction > 50 μm also suggests a lower intimate contact with the SOM that might have influenced the priming effect.

The changes in soil C stock at the end of incubation calculated with the formula of Fontaine et al. (2004), showed an increase of total soil C. This indicated that the extra organic matter mineralization is counter-balanced by the stabilisation of residue-C, contrary to Fontaine et al. (2004) who found that the input of cellulose to soil decreased the total soil C. This could be explained by the quantity of C input. As a matter of fact, on average 1752 mg C kg^{-1} were added in our soil compared to 495 mg C kg^{-1} used by those authors. Nevertheless,

the variation in C stock in soils amended with root was higher than pod walls due to a more pronounced contribution of residual root-C in soil and a lower PE.

4.2. Effect of residue and soil N availability

Our study aimed at assessing the effects of residue N content independently of the residue C quality, by comparing on the one hand the pod wall (H) and (L) varying mainly by their N content and on the other hand the pod wall (H) and root having quasi similar N content but different C quality. Residue having similar chemical composition (pod wall (H) and pod wall (L)) did not show any difference in C kinetics of mineralization whatever their N content meaning that only the C quality and content were the controlling factors of C decomposition (Fig. 1). Residues having different chemical quality but similar C-to-N ratios (pod wall (H) and root) showed different C mineralization kinetics, with a higher rate of decomposition obtained for the pod wall (H) than for the root. These two residues also showed similar initial kinetics of net N immobilisation until the immobilisation rate was maximal (Fig. 3). Conversely net remineralization began earlier for root, at 34% of C mineralized compared to 47% for pod wall (H) (Fig. 4). This matched well with a smaller easily decomposable C pool in root, the exhaustion of which induced earlier decrease of newly-formed decomposer microorganisms and net N remineralization. Therefore these results clearly demonstrate that the N content or C to N ratio of the residues cannot predict the crop residue C decomposition, unless the N availability itself is the limiting factor for decomposition or unless the residue N content is an indirect consequence of plant maturity or plant type and is correlated to other biochemical factors (e.g. young plant having high soluble content and high N content). As expected from numerous studies the higher the residue N content was, the lower the immobilisation of soil mineral N was during decomposition. In non limiting conditions of soil N availability, residue C to N ratio is a fairly good indicator of the dynamics and extent of N immobilisation confirming earlier findings (Trinsoutrot et al., 2000)

The two soil N concentrations investigated combined with residue having different N content corresponded to an initial N availability (residue N plus soil N) varying from 38 mg N g⁻¹ added C (pod wall (L) 0N) to 73 mg N g⁻¹ added C (pod wall (H) 40N). Expressed on a % residue dry matter basis N availability ranged from 1.7% (pod wall (L) 0N) to 3.2% (pod wall (H) 40N). The inorganic N pools never became depleted during decomposition suggesting that the two soil N concentrations were not limiting for decomposition. For all the three

residues (pod walls H, L and root) there was no effect of increasing soil N concentration on C mineralization, at least on the duration of the experiment. Furthermore the extra availability of soil N provided by the N addition did not modify the maximal immobilisation for the three residues, indicating that there was no extra consumption of N during decomposition.

Very interestingly, the only difference created by the two soil N concentration appeared when remineralization of previously immobilized N was remineralized: the higher soil N content showed earlier net remineralization of N (Fig. 4). This suggests that different soil microorganisms having different physiological characteristics (turnover rate, N content) may act during the subsequent phase of decomposition when the recycling of biomass becomes more important.

In addition, no significant modification of the priming effect was recorded in our soil as a result of the application of exogenous inorganic N. It is well accepted that the quality of organic residues and the nutrient soil concentration determine the development of r-strategist microorganisms (Hu et al., 1999) and their contribution to the priming effect. Fontaine et al. (2004) compared the intensity of the priming effect in a N deficient tropical soil in the presence or not of a source of inorganic N. They observed a higher priming effect in the unfertilized treatment, compared to that in the presence of available inorganic N. The lack of inorganic N impeded the development of r-strategist micro-organisms, and the K-strategist community become more competitive. Thus, the N concentration of our soil did not constrain the activity of the whole microbial community.

These results support the concept of critical N availability presented by Recous et al. (1995) and Henriksen and Breland (1999) above which C quality drives the decomposition, and below which C dynamics is driven by the availability of N. This threshold was found to be at about 1.1 –1.2% of dry matter by these authors, above which are the six treatments investigated here.

Acknowledgements

We are grateful for the excellent technical assistance of G. Alavoine, S. Millon, M.J. Herre, F. Barrois and O. Delfosse in France (INRA in Reims and Laon), and K. Assigbetsé, M. Gueye and M. Diouf in Senegal (IRD in Dakar).

DEUXIEME PARTIE

Effet de la qualité des résidus et de l'azote minéral exogène sur les activités enzymatiques et la diversité des structures des communautés microbiennes

Chapitre non publié

1. Introduction

Les communautés microbiennes du sol sont les principaux acteurs de la décomposition. Elles libèrent dans leur environnement des enzymes capables de dégrader les molécules organiques. Leur importance sur les processus de décomposition des résidus végétaux a été longtemps reconnue et plusieurs travaux ont montré la modification des communautés microbiennes après addition d'amendements organiques et inorganiques (Sarniguet et al., 1992; Harrison et Shaw, 2001). La structure de ces communautés varie considérablement dans le temps et dans l'espace. Cette variation est en relation étroite avec les caractéristiques des populations, leur habilité à utiliser des substrats spécifiques selon les étapes de la décomposition. Cependant les relations entre la succession des populations microbiennes et la qualité des résidus décomposés au cours du temps ont été généralement étudiées en utilisant des approches basées sur les techniques de culture et isolement sur milieu solide ou liquide (Dilly et al., 2001; Rosenbrock et al., 1995). Ces approches ont été utilisées dans des études séparées pour la succession des communautés bactériennes (Dilly et al., 2004) ou fongiques (Thormann et al., 2003) ou encore pour leurs fonctions cataboliques (Degens, 1998; Fioretto et al., 2000). La communauté microbienne du sol étant difficilement cultivable (entre 1 et 10 % des cellules cultivables, Torsvik et al., 1996), les effets de la décomposition de résidus sur l'ensemble des micro-organismes cultivables et non-cultivables sont faiblement documentés.

L'approche moléculaire utilisant l'amplification enzymatique de l'ADN et séparation par électrophorèse en gradient de gel dénaturant (PCR-DGGE) permet la prise en compte de l'ensemble des communautés microbiennes, occultant les étapes de culture sur milieu.

L'objectif de cette étude est de caractériser la dynamique des communautés bactériennes et fongiques en fonction de la qualité biochimique des résidus et de ses interactions avec la disponibilité de N minéral du sol.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Incubation

Les échantillons utilisés dans cette partie sont ceux provenant de l'expérience précédente conduite avec les résidus de Colza (*Brassica napus L. cv. Star*) et le sol sableux de Thyssé Kaymor (Chap. IV. Première Partie). Les activités enzymatiques ont été mesurées sur les

prélèvements 0, 8, 15, 23, 34, 48, 80 et 134 jours, alors que les dénombrements des bactéries et champignons ainsi la diversité des structures des communautés ont été effectués sur les prélèvements faits à 0, 15 et 134 jours.

2.2. Activités chitinase et β -glucosidase

L'activité chitinase (N- acétyl- β -glucosamidase) a été déterminée par la méthode adaptée de Hayano (1973). Brièvement 100 mg de sol sont incubés pendant 2 heures à 37°C avec 100 μ l de 5 mM paranitrophényl N- acétyl- β -glucosaminide (Sigma) et 400 μ l de tampon citrate phosphate à pH 5.8. La réaction est arrêtée en alcalinisant le milieu avec 3 ml de carbonate de sodium à 0,2 %.

La coloration jaune correspondant à la quantité de pNP libérée est mesurée au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 400 nm après 15 min de stabilisation à la température ambiante. La lecture se fait contre un témoin eau. Les résultats sont exprimés en μ g pNP libéré $g^{-1} h^{-1}$.

L'activité β -glucosidase est déterminée dans les mêmes conditions avec comme substrat le paranitrophenyl β -D-glucopyranoside (Sigma).

2.3. Dénombrement des bactéries et champignons

La méthode utilisée pour l'estimation de l'abondance des micro-organismes dans les différents prélèvements (15 et 134 jours) est la culture sur milieu solide à partir de suspensions dilutions (Parkinson et al., 1971).

Brièvement, 2 g de sol, préalablement bien homogénéisés, sont agités dans 18 ml de solution dispersante (1.2g de bactopectone, 6g de Pyrophosphate de sodium, dissous dans 1L d'eau distillée) stérile pendant 30 min. Différentes dilutions de la suspension ont été étalées de façon homogène sur des boîtes de 90 mm de diamètre contenant un milieu donné selon les micro-organismes à déterminer. Les boîtes ainsiensemencées, à raison de 5 répétitions par dilution, sont incubées dans une chambre de culture à la température de 30° C. Le nombre d'unités formant des colonies (CFU) a été régulièrement compté jusqu'au cinquième jour.

Traitement	0N				40N			
	Temoin	R	SHT	SBT	Temoin	R	SHT	SBT
<i>0-15 jours</i>								
β -glucosidase	21.2 a	83.4 bc	91.5 c	66.6 b	17 a	98.8 c	81.6 bc	86.0 c
N-AGE	-0.4 a	43.9 b	58.4 c	46.8 bc	2.0 a	47.2 bc	49.6 bc	40.1 b
<i>15-134 jours</i>								
β -glucosidase	- 3.9 a	29.1 b	14.0 b	22.2 b	- 7.2 a	24.6 b	22.7 b	24.6 b
N-AGE	5.0 a	30.5 bc	21.1 b	21.2 b	0.5 a	43.5 cd	56.4 d	43.0 c

Table 1: Variations des activités β -glucosidase et β -N-acetyl-glucosamidase (N-AGE) entre les intervalles 0-15 et 15-134 jours avec (40N) et sans (0N) ajout de N minéral. Avec R : Racine, SHT : Silique Haute Teneur en N, SBT : Silique Basse Teneur en N. Sur une même ligne, des lettres différentes indiquent une différence significative pour un même paramètre et une intervalle donnée ($p < 0.05$).

Pour dénombrer les bactéries, le milieu non-sélective (Trycase-Soy Agar TSA dilué 1/10, contenant la cycloheximide à 70 mg l⁻¹) a été utilisé. Et pour les champignons, l'ensemencement a été effectué sur milieu de Sabouraud additionné de Chloramphenicol (0.05%). Le milieu Sabouraud (10 g de peptone, 40 g de glucose, 20 g d'agar et 1L eau distillée) est un milieu sélectif, spécifique des champignons.

2.4. Diversité des structures génétiques

La diversité des structures génétiques a été déterminée sur les séquences amplifiées des extraits d'ADN totaux des prélèvements de 15 et 134 jours. Les ADN totaux sont extraits par la méthode de Porteous et al. (1997). On procède à une lyse physique au moyen d'un mini-beadbeater (Biospec Product, Inc.) pendant 2 X 60 s. La suspension de sol est ensuite centrifugée. 600 µl du surnageant est précipité par un mélange de 75 µl d'acétate de potassium 5 M et 250 µl de PEG 8000 à 40 %, puis centrifugé. Le culot est purifié par incubation pendant 15 min à 68°C en présence 900 µl de CTAB 2 % (1.4M NaCl ; 0.1 M EDTA ; 2 % CTAB). Les ADN sont extraits par 900µl de chloroforme puis précipités par 600µl d'iso-propanol. Le culot est récupéré après centrifugation est pré-purifié par ajout de 450µl d'acétate d'ammonium (2.5M) et 1 ml d'éthanol absolu pendant 15 min à -20°C puis lavé avec 1 ml d'éthanol 70°, centrifugé. Le culot est alors évaporé à sec et repris dans 20µl d'eau ultra pure.

Tous les cycles de centrifugation ont été effectués sur centrifugeuse (Sigma 15K) à 4°C à la vitesse de 13 000 x g pendant 15 min à 4°C, et les précipitations à -20°C pendant 15 min.

Pour les communautés bactériennes, les amplifications PCR ont été effectuées sur des séquences spécifiques 16SrDNA à partir de 30 ng d'ADN en utilisant les amorces spécifiques F338 et r518 (Muyzer et al., 1993). Elles ont été réalisées dans un thermocycler (Gene Amp System 2400 PERKIN ELMER) selon les conditions suivantes: 5 min à 94°C, 20 cycles de dénaturation de 94°C à 30s, hybridation à de 65°C (touchdown) 30s et une phase d'élongation de 72°C à 1 min. Ensuite, 10 cycles de dénaturation de 94°C à 30s, hybridation à de 55°C 30s et une phase d'élongation de 72°C à 1 min. Et pour finir, une phase de synthèse de 72°C à 10 min.

Pour les communautés fongiques, les amorces spécifiques F403 et r662 (Sigler et Turco, 2002) ont été utilisées pour les séquences 16S rDNA. Après 5 min à 94°C, 35 cycles d'une phase de dénaturation de 94° à 30s, hybridation de 50°C à 1 min et une phase d'élongation de 72°C à 2 min. Et pour finir, une fin de synthèse de 72°C à 15 min.

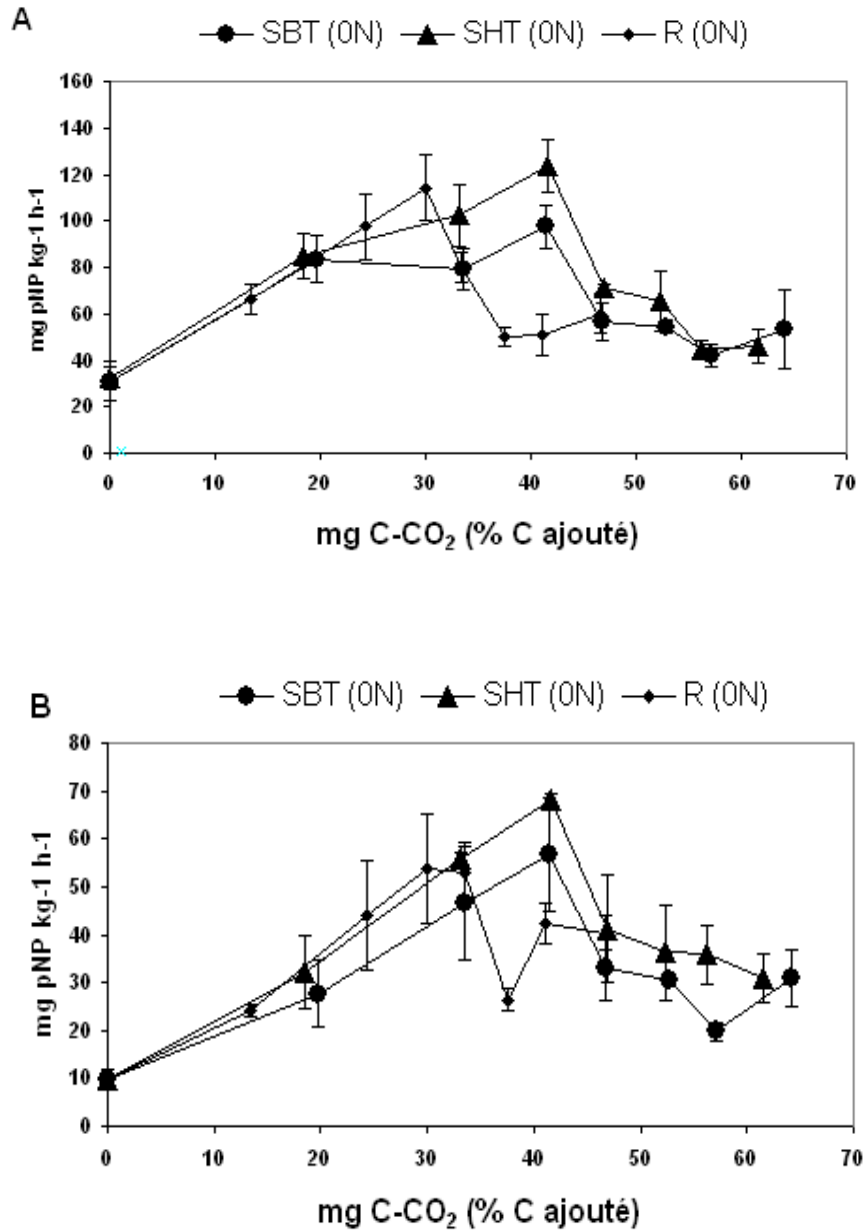


Figure 1: Relation entre l'activité β -glucosidase (1A), l'activité N-acetyl- β -glucosamidase (1B) et la minéralisation du C des résidus pour les traitements sans ajout (0N) de N minéral.. Les barres représentent les valeurs des écart-types.
R : Racine, SHT : Silique Haute Teneur en N, SBT : Silique Basse Teneur en N.

Les produits de la PCR obtenus sont résolus par migration DGGE sur un gel d'acrylamide/bisacrylamide 40 % (37.5 : 1) avec un gradient de migration 45-70 % pour les bactéries et 30-70 % pour les champignons. La migration est effectuée avec un tampon de TAE (0.5 x) à 60°C, pour un voltage constant de 100 V et une durée de 17h (communautés bactériennes) et 150 V pour 4h (communautés des champignons).

Les gels ont été colorés au Bromure d'éthidium (BET) pendant 30 min et rincés à l'eau MilliQ avant d'être visualisés grâce à un trans-illuminateur UV (Lourmat) mini d'un programme informatique Biocapt.

La comparaison des bandes (position et intensité) a été effectuée par similarité selon l'indice de Dice.

3. Résultats

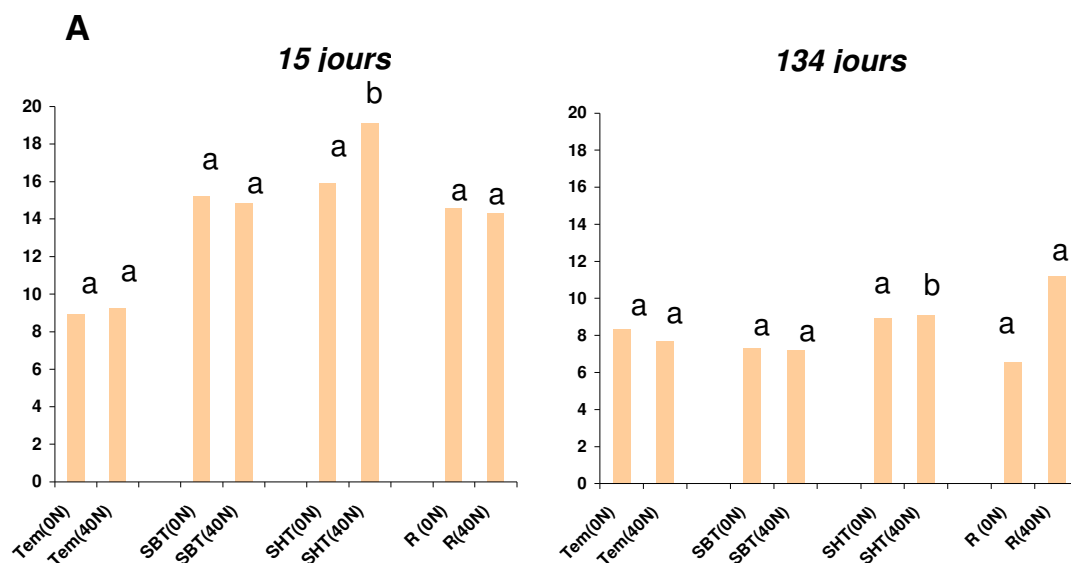
3.1. Activités enzymatiques

Le tableau 1 donne la variation des activités enzymatiques de la β -glucosidase et la chitinase pendant les périodes 0-15 et 15-134 jours. Dans les sols amendés, les résultats ont montré une forte augmentation des activités dans la première période d'incubation (0-15 jours). Les activités sont plus élevées dans le sol amendé avec la Silique haute teneur (SHT). Durant la période 15-134 jours, aucune différence significative n'est notée entre les siliques haute et basse teneur en N et la racine. La variation de l'activité β -glucosidase est négative pour le sol témoin indiquant une diminution de cette activité, alors que l'activité de la N-acetyl- β -glucosamidase augmente légèrement à la même période. Par ailleurs, les sols amendés présentent une forte diminution de l'activité β -glucosidase et une diminution moins prononcée pour la chitinase.

Exprimées en fonction du C minéralisé, les évolutions des deux activités sont similaires (Figure 1A et 1B) (les résultats de C sont ceux de la première partie de ce chapitre).

Les activités enzymatiques augmentent jusqu'à 40 % de décomposition, puis diminuent jusqu'à la fin de l'expérience pour les sols amendés avec les siliques. Il est important de noter la chute rapide d'activité du sol amendé avec la racine (à 30 % de décomposition). Et donc pour le même taux de décomposition, les activités enzymatiques du sol amendé avec la racine diminuent plus rapidement que celles des sols amendés avec les siliques du fait de la disponibilité en substrat décomposable.

A: Nombre bactéries x 10^5 g⁻¹ sol



B: Nombre champignons x 10^4 g⁻¹ sol

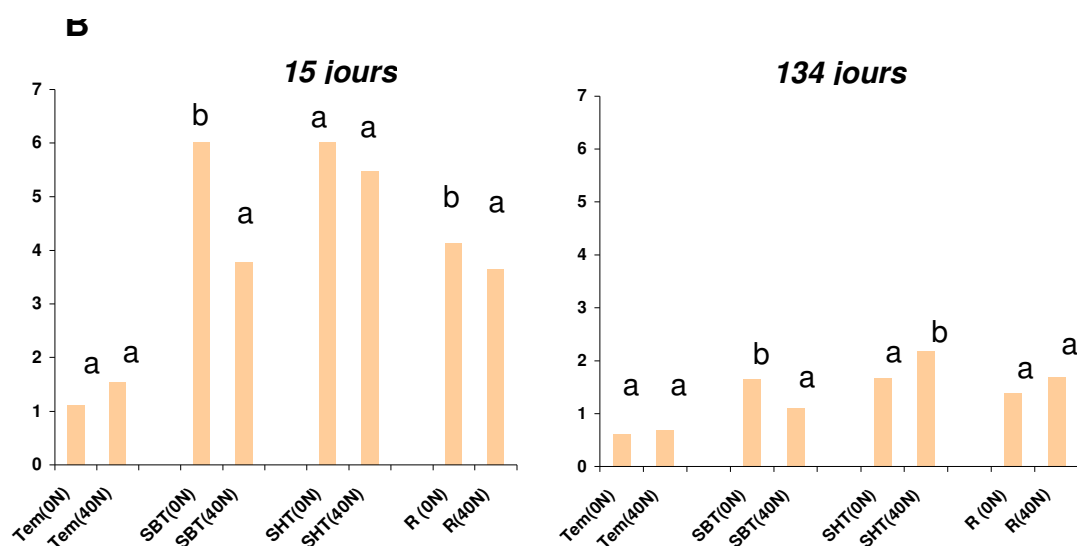


Figure 2: Comparaison des densités de bactéries (Figure 2A) et de champignons (Figure 2B) à 15 et 134 jours après incubation. Pour un même traitement et un temps donné, les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative.

R : Racine, SHT : Silique Haute Teneur en N, SBT : Silique Basse Teneur en N

Dans les sols amendés, l'addition de N minéral augmente significativement l'activité de la β -glucosidase à 15 jours d'incubation. Par la suite, il n'y a pas d'effet de N sur cette activité à 134 jours. Par contre, l'effet de N sur l'activité de la N- acetyl- β -glucosamidase est contraire avec une augmentation significative de la variation à 134 jours.

3.2. Dénombrement des bactéries et champignons

La figure 2 donne les densités de bactéries (Figure 2A) et de champignons (Figure 2B) à 15 et 134 jours après incubation. A 15 jours d'incubation, comparée au sol non amendé, l'abondance des bactéries et champignons est significativement plus élevée dans les sols amendés. Il n'y a pas un effet qualité significatif entre les traitements amendés. A la fin de l'incubation, l'abondance des bactéries diminue et devient égale au sol non amendé, alors que celle des champignons diminue aussi, mais reste supérieure au sol témoin.

L'ajout de N minéral a un effet variable selon les traitements. Pour la densité bactérienne, on note une augmentation significative uniquement pour le sol amendé avec la silique haute teneur (15.9×10^5 et 19.1×10^5 respectivement pour SHT 0N et SHT 40N).

Par contre, pour les champignons, il y'a un effet négatif de N exogène sur la densité à 15 jours d'incubation. Cet effet est significatif pour la Silique basse teneur et la Racine.

3.3. Diversité des structures génétiques

La diversité des structures bactériennes et fongiques a été déterminée par PCR-DGGE des fragments 16S rDNA en utilisant des amorces spécifiques sur les échantillons prélevés à 15 et 134 jours. La comparaison des gels de DGGE spécifique aux bactéries dans les différents échantillons n'a montré aucune différence significative entre les profils. Cependant, la DGGE spécifique des communautés fongiques a montré des profils différents selon les traitements. Par conséquent, par la suite, seuls les profils des communautés des champignons sont représentés. Ces profils sont donnés dans la figure 3. Cette figure montre des bandes complexes difficiles à comparer. En conséquence, pour déterminer la similarité ou la différence entre les structures des communautés de champignons, le coefficient de Dice a été calculé sur la base de la présence et l'absence de bandes. Le dendrogramme de similarité est donné à la figure 4. A 15 jours d'incubation, les traitements amendés et non amendés se séparent en deux clusters. La communauté des champignons dans le sol avant incubation (Sol initial) est similaire à celle du sol témoin (sans ajout de résidus). Ces deux sols non amendés

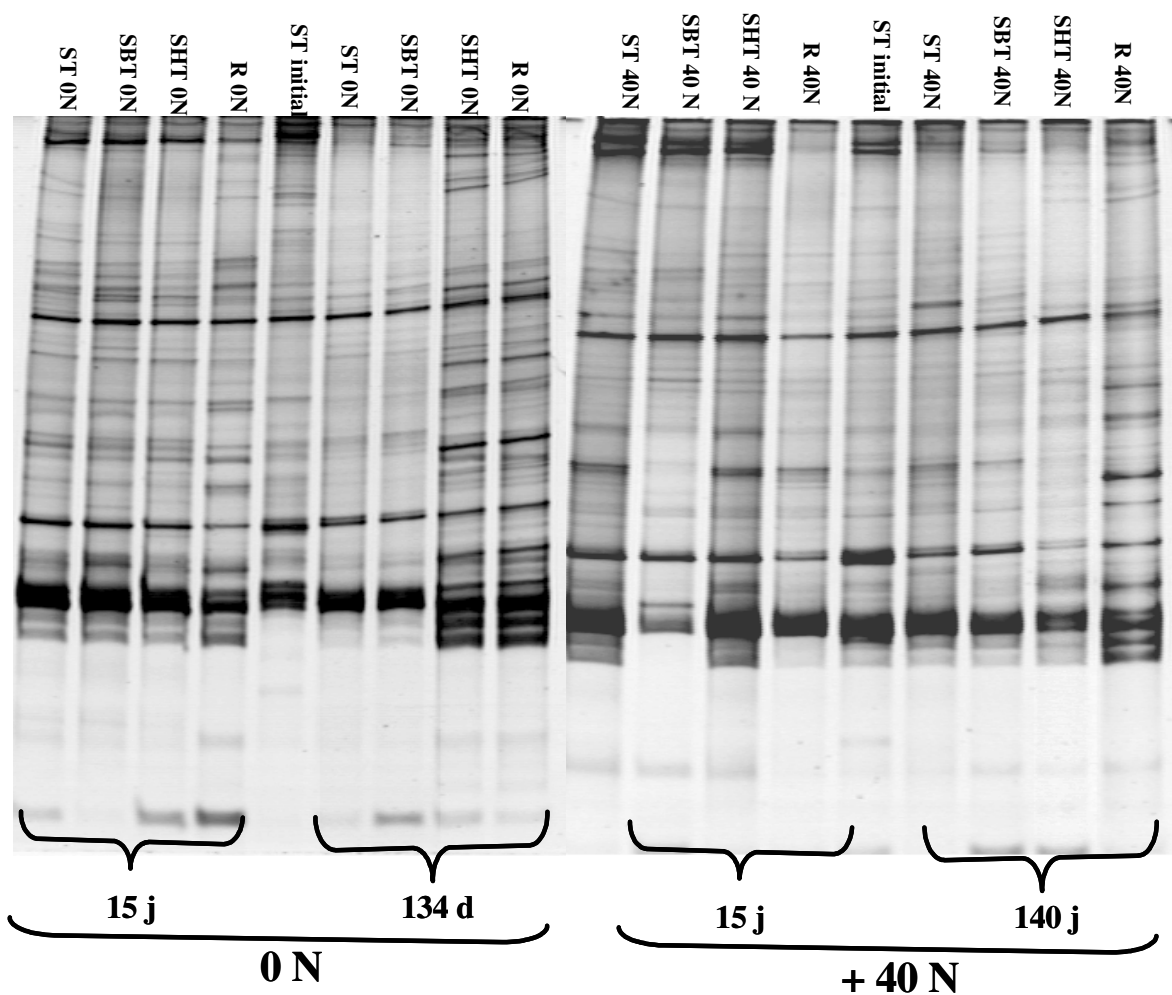


Figure 3: Profil DGGE des fragments 16S rDNA des échantillons de sols amendés à 15 et 134 jours après incubation. Avec: 0N et 40N respectivement sans ajout et avec ajout de N minéral. R : Racine, SHT : Silique Haute Teneur en N, SBT : Silique Basse Teneur en N

sont différents des sols amendés avec les résidus. Il y'a une modification de la structure des communautés des champignons due à l'apport de résidus. Indépendamment de la fertilisation azotée, la communauté des champignons du sol amendé avec la racine (R 0N) diffère de celle des sols amendés avec les siliques (SBT 0N et SHT 0N).

De la même manière, les sols amendés sans ajout (0N) et avec ajout (40N) de N minéral se distinguent des sols témoins. De plus, il apparaît deux principaux clusters qui séparent nettement les sols amendés sans ajout de N et ceux avec ajout de N minéral (Figure 4). L'ajout de N exogène entraîne une différence entre les sols amendés avec les siliques (SHT 0N et SBT 0N) et le sol amendé avec la racine (R 0N).

4. Discussion

4.1. Dynamique des communautés

L'apport de résidus végétaux constitue la base énergétique nécessaire aux organismes hétérotrophes. Il est généralement admis que leur incorporation dans le sol peut affecter les communautés microbiennes. Les différences de composition biochimique de ces apports induisent des spécificités sur la nature des organismes décomposeurs. Les champignons sont les principaux décomposeurs des résidus à C/N élevé alors que les bactéries sont les organismes clés pour la dégradation des résidus à C/N faible (Lundquist et al., 1999). Les composés facilement dégradables tels que les sucres, les protéines et les acides organiques sont utilisés par la plupart des micro-organismes, alors que ceux difficilement dégradables sont métabolisés que par un nombre limité d'espèces microbiennes (Moorhead et Sinsabaugh, 2000). Une des conséquences est la succession de types microbiens (Winogradzky, 1949 ; Zvyagintsev, 1994 ; Kuzyakov, 2000 ; Fontaine et al., 2003) et d'enzymes (Swift et al., 1979) pendant la décomposition, en parallèle avec la modification des substrats disponibles.

Dans notre étude, l'analyse des enzymes (β -glucosidase et chitinase) impliquées dans la décomposition des résidus végétaux, nous indique cependant, qu'il n'y a pas d'effet significatif de la qualité biochimique des différents apports. Nous avons observé uniquement, une augmentation des activités enzymatiques étudiées durant les étapes initiales et une baisse vers la fin de l'incubation. Cela est en accord avec certains travaux (Martens et al., 1992 ; Bol et al. 2003) qui ont montré que les activités β -glucosidase et β -N-acetyl-glucosamidase sont élevées après apport de matière organique, et que le changement temporaire observé ne dépend pas de la quantité ajouté. Cette variation des activités enzymatiques reflèterait

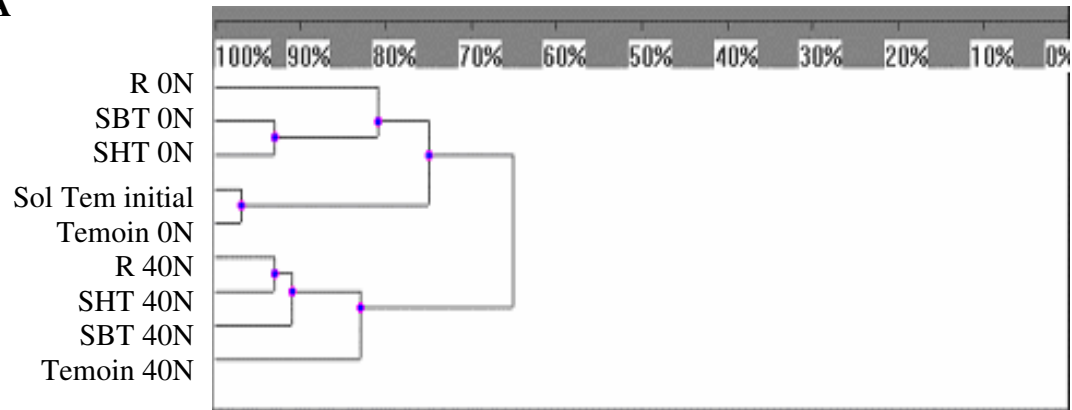
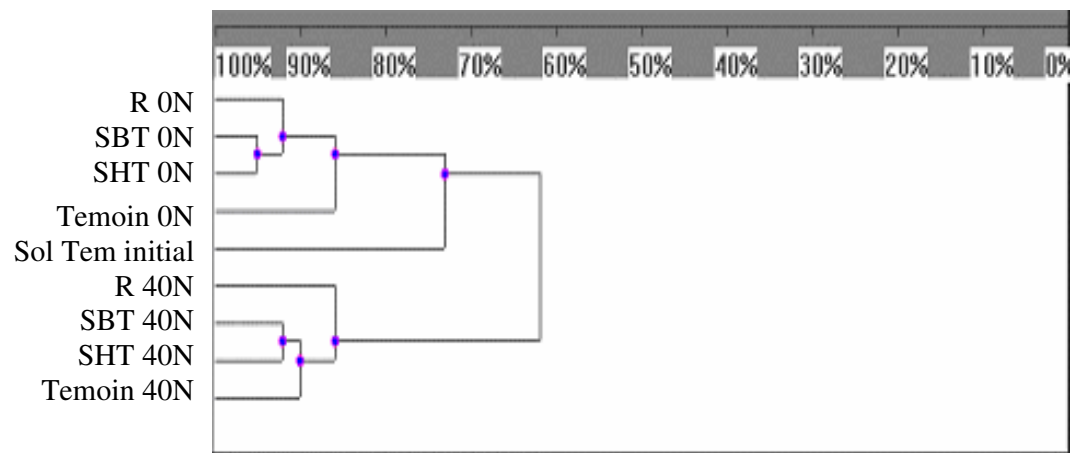
A**B**

Figure 5 : Dendrogramme de similarité pour la diversité des champignons obtenu à partir de l'analyse du gel DGGE des fragments 16S rDNA des échantillons de sol à 15 jours incubation (A) et 134 jours après incubation (B).

probablement une modification au cours du temps de la disponibilité des substrats pour les communautés microbiennes. La présence de composés facilement dégradables entraîne une augmentation de la biomasse microbienne et des activités enzymatiques (Küsel et Drake, 1999) et favorise la croissance de micro-organismes classés r-stratégistes comparés aux micro-organismes classés K-stratégistes qui décomposent en continue les composés récalcitrants (Pianka, 1970).

Cependant, la caractérisation des communautés microbiennes par l'approche moléculaire (DGGE) ne nous a pas permis d'identifier des différences majeures aux seins des populations bactériennes et fongiques. Il y'a une forte similarité entre les profils du sol non amendé et les sols amendés avec les résidus. Ce résultat inattendu est différent de ceux obtenus récemment par d'autres travaux (Thormann et al., 2003; Dilly et al., 2004). Ces auteurs ont montré respectivement une variation de la diversité fongique et bactérienne au cours de la décomposition de litières végétales. Cette contradiction avec nos résultats pourrait s'expliquer par des différences méthodologiques. En effet, l'analyse de la diversité des communautés dans ces travaux cités a été effectuée directement sur les échantillons de litières en contact avec le sol, alors que notre étude a porté directement sur le sol. Nous avons utilisé des résidus broyés et mélangés au sol. Dans de telles conditions, il serait possible que la succession des communautés microbiennes au cours de la décomposition ne soit pas visible directement sur le sol. En effet, les travaux de Ronn et al. (1996) ont établi que les effets des résidus sur les activités microbiennes et la population des décomposeurs sont très localisés selon le contact sol-résidu. De plus, Gaillard et al. (1999) ont évalué une zone limite de 4 à 5 mm d'influence de la résidusphère dans laquelle, la composition biochimique contrastée des résidus est à l'origine des quantités différentes de C et N qui migrent par gradient dans le sol et stimulent différemment l'activité et la croissance des micro-organismes. Cela suppose alors une hétérogénéité spatiale de la biodégradation des résidus dans le sol que nous devrions prendre en compte pour percevoir des différences majeurs.

Aussi, du point de vue écologique, les organismes assurant la décomposition des litières sont bien décrits par leurs stratégies adaptatives, mais la DGGE ne permet pas d'identifier les organismes r et K au cours de la décomposition. Cette technique moléculaire utilisée dans ce travail est simplement une méthode comparative. Elle permet de rendre compte des modifications dans la structure génétique de l'ensemble des communautés d'une situation à une autre. Des travaux récents ont montré que l'utilisation de cette technique de « fingerprint » moléculaire peut donner des profils similaires là où des différences significatives sont raisonnablement attendues (Heuer et al., 1997; Felske et Akkermans,

1998). Cependant, la DGGE des communautés totales bactériennes et fongiques ne permet pas de distinguer les micro-organismes en activité de ceux en dormance. Il aurait fallu cibler des bactéries à croissance rapide classées r-stratégistes (*Pseudomonas*) et celles à croissance lente classées K-stratégistes (*Actinomycètes*).

De plus, une caractérisation taxonomique et fonctionnelle en utilisant le marquage isotopique (^{13}C -ADN) permettra de mieux comprendre et préciser les changements survenus dans la composition des communautés pendant les processus de décomposition des résidus végétaux (Radajewski et al., 2000).

4.2. Effet de N minéral exogène

Plusieurs travaux ont montré que l'effet de N exogène sur les enzymes catalysant les processus de minéralisation de C et N dépend de plusieurs facteurs tels que la localisation et le type d'enzymes (Skujins, 1976, Nannipieri, 1994). La β -glucosidase hydrolyse la celliobiose et la cellodextrine pour donner du glucose, source majeur de C pour les micro-organismes. Nos résultats sont en accord avec ceux de Ajwa et al., (1999) et Henriksen et Breland (1999) qui ont montré que l'activité β -glucosidase augmente avec la disponibilité en N minéral dans des sols de prairie et agricoles.

Par ailleurs, la chitinase hydrolyse la chitine qui est une importante source de N dans les sols (Sinsabaugh et al., 1993). Ces auteurs suggèrent que l'activité chitinase est induite dans des conditions de faible teneur en N, alors qu'à forte concentration en N inorganique, une inhibition devrait apparaître. Nous n'avons trouvé aucun effet significatif de N exogène sur cette activité à 15 jours. Cependant, il apparaît une augmentation à 134 jours.

L'étude de la diversité génétique fongique montre un effet drastique de N exogène sur les champignons. La différence entre les sols amendés et fertilisés et non fertilisés est considérable (37 % et 46 % pour les parois de silique (L) et (H) et 36 % pour la racine). Cela indique clairement que l'addition N exogène modifie la communauté fongique.

L'importance des communautés microbiennes dans la décomposition de la matière organique est bien connue et certaines investigations ont conclu à une modification de la structure des populations microbiennes après additions d'amendements organiques ou inorganiques (Sarniguet et al., 1992; Harrison et Shaw, 2001). Particulièrement, Donnison et al. (2000) ont montré des réponses différentes des champignons du sol à la fertilisation, alors que Sarathchandra et al. (2001) ont trouvé que la fertilisation azotée diminue l'abondance des

espèces fongiques. Nos résultats ont déterminé un nombre de bande moins élevé dans les amendements fertilisés que ceux non fertilisés. En conséquence, la fertilisation azotée, dans ce travail, diminue les espèces fongiques. Ce résultat est conforté par un dénombrement des champignons par CFU qui a montré moins de champignons dans les sols fertilisés.

Les mécanismes à l'origine du changement de ces communautés, particulièrement les composantes fongiques, restent largement inconnus dans la littérature. Néanmoins, Donnison et al. (2000) ont suggéré que la réponse des champignons à la fertilisation semble être directement liée à l'effet de N inorganique sur la croissance et l'activité des champignons. Un effet provenant d'une augmentation du pH du sol qui induit alors un effet osmotique toxique (Söderström, 1983). Cet effet semble être spécifique aux espèces et par conséquent, variable selon les sols étudiés.

Cependant, les résultats de cette étude ne peuvent être généralisés, car nous avons travaillé uniquement sur trois types de résidus végétaux et deux niveaux de N. Bien qu'il y'ait des modifications effectives des communautés fongiques, il serait nécessaire de pouvoir comprendre pourquoi l'équilibre des r et K stratégistes n'est pas affecté. La technique moléculaire développée par Radajewski et al. (2000) permettrait certainement d'apporter une réponse.

CONCLUSIONS PRELIMINAIRES CHAPITRE IV

Dans ce chapitre, l'utilisation de résidus organiques (parties aériennes versus racines) doublement marqués ($^{13}\text{C}^{15}\text{N}$) nous a permis de tracer le devenir de C et N apportés et l'impact de leur composition biochimique sur les flux. Par ailleurs, nous avons précisé l'impact d'un ajout d'azote minéral sur ces flux ainsi que sur la diversité des communautés microbiennes. Les conclusions concernant ce chapitre sont les suivantes :

- les taux de décomposition des parties aériennes sont plus élevés que celui de la racine (environ 40% et 30% du C apporté, respectivement). Cette différence est attribuée à la présence de complexes récalcitrants lignine-N de la racine;
- l'apport de résidus stimule fortement la décomposition de la matière organique native du sol;
- cette stimulation (Priming effect) dépend de la composition biochimique des résidus;
- dans nos conditions expérimentales, l'apport d'azote minéral n'a pas eu d'effet significatif sur les flux de carbone et d'azote;
- le seul effet de cet apport azoté a été constaté sur la diversité des communautés fongiques.

Ces conclusions mettent en exergue d'abord, le fait que les flux réels provenant des résidus végétaux incorporés dans les sols sableux sont largement inférieurs aux flux de C apparents mesurés. Ces résultats montrent qu'il existe bien un priming effect dans les sols sableux qui dépend de la qualité biochimique des apports. Cela a pour conséquence de faire varier le stock de C des sols. Dans les sols sableux, il faut arriver à entretenir les stocks de MO qui sont faibles et gérer les MO exogènes. Et donc, pour un meilleur stockage de C dans ces sols, il est important de tenir compte de la qualité biochimique des MO exogènes induisant le minimum de priming effect.

Par ailleurs, nous mettons en évidence la nécessité ou non d'apporter de l'azote pour les résidus en décomposition dans des sols sableux. L'effet négatif de cet azote trouvé sur les champignons a pour conséquence principale, dans les sols sableux, un effet négatif sur l'agrégation. En effet, pour ces sols à texture sableuse, contrairement aux sols argileux, seuls les hyphes des champignons sont capables de relier les particules abondantes de sables pour former des agrégats stables. Cette stabilité des agrégats est importante sur les processus qui maintiennent une agriculture durable par la formation des réservoirs de fertilité.

DISCUSSION GENERALE

Ce travail s'inscrit dans le cadre général d'un programme de mise en place de stratégies permettant la maîtrise des flux de carbone et d'azote essentielle à la durabilité des systèmes agricoles paysans dans la zone semi-aride du Sénégal. Ce programme porte sur l'analyse du fonctionnement du compartiment microbien et la définition des équilibres qui conditionnent ces flux. Dans ce contexte, notre travail a porté spécifiquement sur l'étude des processus microbiologiques de transformation des litières dans les étapes initiales, à travers les relations entre leur qualité biochimique et les communautés microbiennes responsables de leur décomposition. La décomposition des résidus végétaux met en jeu divers facteurs tels que les conditions physiques et chimiques du sol, la qualité biochimique de la litière et la physiologie et l'écologie des communautés microbiennes. Une revue de la littérature existante montre que les facteurs physiques et biochimiques sont largement documentés (Reinersten et al., 1984; Vanlauwe et al., 1996; Berhard-Reversat, 1982 et 1999; Samba, 2001). Cependant, force est de constater que leur connaissance ne permet pas d'expliquer et de prévoir avec précision la cinétique de décomposition d'une litière dans le temps et dans l'espace. L'une des raisons de cet échec tient au fait que ces travaux, et les modèles associés, imposent un accès sans limites de toutes les formes de matières organiques à tous les micro-organismes. Ce postulat n'est que très rarement vérifié dans le sol. En effet, le sol est aussi un milieu complexe hébergeant une grande diversité de micro-organismes possédant des capacités métaboliques très variées (Swift et al., 1979). Il convient dès lors, pour mieux élaborer les modèles de décomposition, de développer des approches tenant compte aussi bien de la qualité biochimique des litières en décomposition, que de la dynamique des populations microbiennes et de leurs diversités fonctionnelles.

Dans les travaux qui sont présentés dans ce mémoire, nous avons tenté de répondre à trois questions majeures pour la compréhension des processus de décomposition,

- i) Quel est l'effet de la qualité biochimique des litières végétales sur l'activité, l'abondance et la diversité des micro-organismes ?
- ii) Peut-on établir une relation entre la diversité (génétique, catabolique) de la communauté microbienne et les processus de décomposition ?
- iii) Quel est l'effet de la disponibilité en N minéral sur ces processus ?

Quel est l'effet de la qualité biochimique des litières végétales sur l'activité, l'abondance et la diversité des micro-organismes ?

Nous avons évalué les réponses microbiologiques (CO_2 et N minéral produits, activités enzymatiques, diversité moléculaire de la communauté microbienne du sol) à l'apport de différents composés organiques (carbohydrates, acides aminés et organiques, protéines, tanins...), d'extrait soluble de litière et de litières entières. Nous avons montré que la décomposition des modèles les plus complexes, à savoir les litières, ne peut être appréciée à partir des résultats obtenus sur les composés élémentaires qui entrent dans leur constitution. Par exemple la quantité de CO_2 respiré lors de la décomposition d'une litière ne se déduit pas de la somme du CO_2 produit par l'ensemble de ses constituants. Pour les substrats élémentaires (glucose, histidine, amidon, acides gallique et tannique), nos résultats ont montré que le taux de décomposition est proportionnel à la quantité de C du substrat. Cependant, cette proportionnalité ne s'avère pas vérifiée en présence de plusieurs substrats. Il apparaît ainsi un aspect important des différentes interactions entre les substrats pendant la décomposition. Ces interactions sont probablement dépendantes des types de composés présents. En cela, deux mélanges de composés organiques à même teneur en C peuvent avoir des vitesses de minéralisation différentes. Nos résultats montrent que la quantité totale de C d'un mélange ou d'un extrait ne peut être utilisée pour prédire la décomposition. On devra forcément tenir compte du fait que les micro-organismes ont accès à différentes sources énergétiques de C et N.

Nous avons suivi la décomposition de différentes litières tropicales (*Faidherbia albida*, *Casuarina equisetifolia*, *Andropogon gayanus*) et celle de différents résidus (racines, parties aériennes) de colza (*Brassica Napus L.*), incubés respectivement pendant 60 jours et 134 jours. Ces différentes expériences ont permis de confirmer que la minéralisation de C dans les étapes initiales dépend fortement de la composition biochimique du résidu végétal. La minéralisation de l'azote est, par contre, très nettement dépendante de la teneur en N du résidu. L'incorporation de la litière au sol stimule significativement les activités enzymatiques et augmente la biomasse microbienne, confirmant les résultats obtenus dans d'autres travaux (Swift et al., 1979; Nannipieri, 1994; Crecchio et al., 2001; Marschner et al., 2003). Nos travaux ont par ailleurs permis de préciser l'impact de la composition biochimique des litières

ajoutées sur les processus microbiens (Trinsoutrot et al., 2000; Thuriès et al., 2002). Comparés à ces travaux de la littérature, dont les conclusions ont été établies en utilisant la méthode de Van Soest (1963) pour définir la composition des résidus végétaux, les résultats présentés dans ce mémoire ont mis l'accent sur la nécessité de tenir compte de la concentration en polyphénols. Nous avons montré, avec les différentes corrélations obtenues, que durant la phase initiale de décomposition, la concentration en composés solubles (sucres, acides aminés) conditionne l'amplitude des processus, mais que la présence de polyphénols inhibe ces processus. Par exemple le flux de CO₂ enregistré au cours du second jour d'incubation est le plus faible (*Casuarina equisetifolia* < *Faidherbia albida* = *Andropogon gayanus*) dans le sol amendé avec la litière la plus riche en hydrosolubles (*Casuarina equisetifolia* > *Faidherbia albida* = *Andropogon gayanus*). La forte teneur en phénols solubles et insolubles (39.6 mg g⁻¹) de la litière de *Casuarina equisetifolia*, comparée à celle des deux autres litières (10.5 et 12.5 mg g⁻¹ respectivement pour *Faidherbia albida* et *Andropogon gayanus*) peut expliquer un tel résultat. Un effet inhibiteur direct sur les communautés microbiennes et/ou la formation de composés récalcitrants sont évoqués (Sall et al., 2003).

L'utilisation des traceurs isotopiques (¹³C, ¹⁵N) nous a permis, par ailleurs, de différencier la contribution du C des résidus de celui de la matière organique du sol dans les flux de CO₂ et ainsi mesurer l'impact de la composition biochimique de 3 résidus végétaux sur ces grandeurs. Nous avons montré une décomposabilité de la racine moins élevée comparée aux parois de siliques utilisées (30 % contre 43 et 40 respectivement) à 134 jours d'incubation. Ces quantités de C des résidus effectivement minéralisées sous forme de ¹³C-CO₂ sont très en dessous des quantités totales de C-CO₂ (47 %, 64 % et 62 % respectivement la racine, la silique basse teneur et la haute teneur). Une grande quantité de la matière organique native du sol a donc été minéralisée suite à l'ajout des résidus. Ce phénomène appelé « priming effect » est discuté plus loin.

L'azote minéral ¹⁵N accumulé dans le sol représente 12 à 19 % de ¹⁵N apporté. Quel que soit le traitement et la date de mesure, l'azote minéral dérivé des résidus représente moins de 2% de l'azote minéral total. Le principal impact de l'apport de résidu organique porte sur les phases immobilisation – minéralisation de l'azote. Toutes les litières testées dans notre étude ont stimulé une immobilisation nette de l'azote dont l'intensité et la durée sont fortement reliées à leur teneur en N. L'immobilisation est d'autant plus forte que les litières sont pauvres en azote. Ensuite une phase de minéralisation nette positive s'installe. Il est important de souligner l'effet manifeste de la composition biochimique sur la minéralisation

de N. En effet, nous avons montré qu'à un taux de décomposition identique (40 %) entre les parois de siliques et la racine, le sol amendé avec la racine re-minéralise plus vite que les autres traitements. Il apparaît ainsi, dans nos travaux, une relation forte entre la disparition des composés facilement décomposables (C soluble), la baisse des activités enzymatiques et la re-minéralisation de l'azote. La croissance et les activités microbiennes sont contrôlées par la disponibilité de substrats énergétiques contenus dans les résidus. En conséquence, ces composés, en quantité moins élevée dans la racine, sont rapidement métabolisés et limitent l'immobilisation de l'azote du sol. Ces résultats confirment l'importance de l'activité des micro-organismes sur les processus de décomposition des apports organiques exogènes et les cycles de l'azote et du carbone dans les sols. De nombreux travaux ont montré que la décomposition des résidus est effectuée par des micro-organismes possédant des capacités métaboliques spécifiques (Swift et al., 1979; Hu et al., 1999; Dilly et al., 2001). La qualité biochimique des litières varie au cours de la décomposition, induisant par conséquent une succession de communautés microbiennes différentes. Jusqu'à un passé récent, la succession de ces acteurs microbiens a été généralement établie en décrivant les différents morphotypes isolés sur des milieux de culture (Rosenbrock et al., 1995; Dilly et al., 2001). Ces approches ont longtemps souffert de la faible représentativité des colonies isolées, celles-ci ne représentant qu'à peine 10% des organismes présents dans le sol (Torsvik et al., 1996). Nous avons, dans ce mémoire, utilisé des approches moléculaires récentes adaptées à l'étude des communautés bactériennes et fongiques (Dilly et al., 2004). La comparaison des communautés bactériennes et celle des communautés fongiques, appréciées à partir des profils DGGE n'a pas révélé d'effet significatif de la composition biochimique des substrats organiques (racines, parties aériennes), à l'inverse de résultats obtenus dans d'autres études (Thorman et al., 2003; Dilly et al., 2004). Dans nos travaux, l'analyse de la communauté microbienne a été conduite sans tenir compte de la proximité des résidus. Ronn et al. (1996) montrent que les effets des résidus sur les activités microbiennes et la population des décomposeurs sont localisés dans la zone de contact sol-résidu. Gaillard et al. (1999) confirment l'importance de cette zone dans les processus de décomposition. Ces auteurs démontrent que l'impact de la composition biochimique d'un débris végétal se limite à une zone distante de 4 à 5 mm de la surface du résidu. Il est donc primordial de prendre en considération l'hétérogénéité spatiale des processus de décomposition. Par ailleurs, Radajewski et al. (2000) ont développé une technique pleine de promesse sur la caractérisation des pools microbiens. Leurs investigations ont permis de séparer, à partir d'une source de ^{13}C dans le sol, le ^{13}C -ADN et ^{12}C -ADN par centrifugation par gradient de

densité. Cette technique permettra de calculer la biomasse microbienne active par multiplication avec le ratio entre ADN marqué et non marqué et la biomasse microbienne totale du sol. De plus, la caractérisation taxonomique et fonctionnelle du ^{13}C -ADN permettra de mieux comprendre et préciser les changements survenus dans la composition des communautés pendant les processus de décomposition des résidus organiques.

Le fractionnement granulométrique associé au traçage isotopique permet de caractériser la nature du carbone et de l'azote des résidus restant dans le sol ainsi que d'étudier leurs transformations lors du processus d'humification (Feller et al., 1983; François et al., 1991; Aita et al., 1997). Les approches granulométriques utilisées pour caractériser la matière organique dans les fractions sont déterminantes dans l'interprétation des résultats (Feller, 1995). Dans nos travaux, le fractionnement granulométrique adopté a permis de caractériser la dynamique d'incorporation du C apporté dans la fraction fine (fraction < 50 μm) du sol. Nous avons montré que le carbone de la fraction grossière (fraction > 50 μm) est très vite minéralisé, ce qui justifie la rapide décomposition des résidus dès les premiers jours. Cela correspond probablement à une décomposition rapide des composés solubles et une accumulation du stock de C dès les premières semaines dans la fraction fine. Par la suite les quantités restent relativement constantes. Les résultats obtenus par Aita et al. (1997), en accord avec les nôtres, ont montré que l'essentiel des transformations du C après incorporation des résidus, s'effectue dans les premières semaines d'incubation. Ces auteurs ont montré à partir d'expérience *in situ*, que cette fraction est celle où le C s'accumule très rapidement et reste relativement stable à partir de 6 mois d'incubation. Cette stabilité relative obtenue rapidement dans notre expérience dès la deuxième semaine d'incubation est probablement due aux conditions contrôlées et à une température plus élevée utilisée.

Peut-on établir une relation entre la diversité (génétique et catabolique) de la communauté microbienne des sols et les processus de décomposition ?

L'importance de la biodiversité dans le fonctionnement des agro-écosystèmes est une question majeure en écologie. Il s'agit notamment, à partir d'un inventaire des espèces présentes définissant la biodiversité, d'apprécier ou de prédire la capacité d'un système à remplir ses fonctions, à résister aux perturbations et/ou recouvrir un niveau de fonctionnement antérieur à celui d'une perturbation. Ces capacités de résistance et de résilience déterminent la stabilité d'un agro-écosystème (McNaughton, 1994). Cependant, force est de constater que la relation directe entre biodiversité et fonction n'est pas établie

pour toutes les composantes du milieu. En écologie végétale, une relation a été clairement définie entre nombre des espèces présentes et biomasse produite (Loreau et al., 2001). Elle montre que la production végétale croît avec le nombre des espèces jusqu'à un seuil maximal. Au-delà, l'augmentation des espèces résulte en une diminution de la biomasse produite. Pour les sols et les processus de décomposition, cette relation est moins évidente. En effet, peu d'études ont permis de préciser l'importance de la diversité de la communauté microbienne dans le fonctionnement des sols (Pankhurst et al., 1996; Giller et al., 1997). Les travaux qui se sont intéressés à l'impact de la diversité microbienne sur les processus de décomposition de la matière organique dans les sols ont essentiellement mis en oeuvre des expérimentations dans lesquelles la communauté microbienne a été manipulée (Degens, 1998; Degens et al. 2001; Griffiths et al., 2000, 2001; Chander et al., 2002; Nannipieri et al., 2003). Nous avons volontairement choisi une approche dans laquelle la fonction de décomposition est étudiée dans un sol dont la diversité microbienne a été modifiée sous l'effet des pratiques culturales (e.g. un sol en jachère depuis 21 ans versus un sol sous culture depuis 4 ans installée après une période de jachère de 17 ans). La relation entre diversité de la communauté microbienne et fonction de décomposition est appréciée en comparant le comportement de ces sols en présence ou non d'un substrat organique (*Faidherbia albida*).

Dans les sols non-amendés, la quantité de CO₂ produit au cours de l'incubation, les activités enzymatiques (i.e. β -glucosidase, phosphatase et uréase) sont plus élevées dans le sol en jachère que dans le sol sous culture. Ces différences sont à mettre en relation avec les propriétés de ces deux situations: teneur en carbone plus élevée, biomasse microbienne plus importante, diversité microbienne (fonctionnelle et moléculaire) plus élevée dans le sol en jachère, comparé au sol sous culture. Ces résultats confirment ceux de la littérature. Sarmiento et Bottner (2002), ainsi que Saggar et al. (2001) indiquent que la minéralisation potentielle d'un sol est positivement corrélée à sa teneur en carbone et tout particulièrement à sa richesse en carbohydrates et en acides aminés. Par ailleurs, Degens et al. (2000) montrent que l'activité des micro-organismes, mesurée à partir des quantités de CO₂ libéré, dépend très étroitement des différents pools de matière organique des sols. Ces pools déterminent également les capacités cataboliques des communautés microbiennes.

En présence d'un substrat organique complexe, e.g. la litière de *Faidherbia albida*, la quantité de CO₂ respiré, les activités enzymatiques, à l'exception de l'activité uréase, sont plus élevées dans le sol en jachère que dans le sol sous culture. Il est à noter que ces activités sont plus importantes que celles enregistrées dans les sols non amendés. Cela est en accord avec plusieurs travaux qui ont montré que l'apport de matière organique dans les sols, induit une

augmentation des activités enzymatiques (Crecchio et al., 2001; Bol et al., 2003; Ajwa et al., 1999; Bonmati et al., 1985; Rezende et al. 2004). Dans notre étude, les variations par rapport aux activités initiales sont significativement plus élevées dans le sol en jachère pour les activités phosphatase et β -glucosidase (Falih et Wainwright, 1996; Nannipieri et al., 1996; Eivazi et Bayan, 1996). En présence de litière, la quantité cumulée de CO₂ respiré est plus importante dans le sol de jachère que dans le sol sous culture. Ce résultat est exclusivement dû à une réponse respiratoire différente entre ces deux sols au cours des étapes initiales de l'incubation. En effet, le flux enregistré au cours des 8 premières heures dans le sol en jachère est significativement supérieur à celui mesuré dans le sol sous culture. Ce flux se maintient à ce niveau durant les 24 premières heures de l'incubation. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres travaux qui mettent en évidence une réponse rapide de la communauté microbienne due aux composés hydrosolubles du substrat organique ajouté (Heal et al., 1997; Trinsoutrot et al., 2000; Sall et al., 2003). Pour le sol sous culture, ce flux maximal n'est atteint que lors de la période 8-24 heures. Cette réponse respiratoire différente entre les deux sols enregistrée au cours de la phase initiale de l'incubation est à mettre en relation avec les réponses cataboliques établies selon la méthode préconisée par Degens et Harris (1997). Les réponses respiratoires, pour tous les substrats, sont supérieures pour le sol en jachère comparé au sol sous culture. Dans cette méthode, les substrats carbonés apportés sont calculés afin de couvrir la demande énergétique de base de la communauté microbienne sur une courte période (0-4 heures) sans pour autant conduire à sa multiplication (Anderson et Domsch, 1978). En conséquence, la communauté microbienne du sol en jachère possède les capacités enzymatiques nécessaires à la dégradation immédiate des composés contenus dans les hydrosolubles de la litière de *Faidherbia albida*. A l'inverse, toutes les fonctions cataboliques ne sont pas présentes au sein de la communauté microbienne du sol sous culture, pour dégrader immédiatement ces substrats. Néanmoins, une fois cette période de latence dépassée, nos résultats indiquent que ces fonctions ont été acquises par cette communauté, probablement au cours de la multiplication cellulaire stimulée par la présence des substrats carbonés de la litière. Dans ce cas, on pourrait supposer que les fonctions de décomposition des populations microbiennes qui s'installent sont les mêmes au cours de la décomposition de la litière ajoutée, même si les diversités cataboliques et microbiennes initiales sont différentes entre les sols. Cette conclusion a été aussi énoncée dans certains travaux qui ont montré que la modification de la diversité microbienne des sols par une approche destructive (fumigation) ou une approche constructive (inoculation) ne permet pas de modifier les fonctions de décomposition (Degens, 1998; Griffiths et al., 2001; Nannipieri et al., 2003). La redondance

des fonctions est considérée comme la principale raison de l'absence de relation significative entre la diversité microbienne et les processus de décomposition. Cela signifie que la réduction des communautés microbiennes suite à des traitements destructifs, par exemple dans notre étude, la mise en culture d'une jachère, a très peu d'impact sur l'ensemble des processus de décomposition. La communauté microbienne du sol sous culture retrouve très rapidement des fonctions équivalentes à celles de la communauté du sol en jachère. Domsch et al. (1983) arrivent à la même conclusion dans une étude portant sur l'impact des pesticides sur les activités biologiques des sols. Cette capacité des communautés microbiennes à retrouver ses fonctions peut cependant être altérée, certains changements pouvant être irréversibles comme le montre Chaussod (1996) dans le cas des sols pollués ou soumis à la déforestation.

Nous avons montré que dans les sols non-amendés, l'activité microbienne ne peut-être liée uniquement à la diversité de la communauté microbienne des sols. En effet, d'autres paramètres comme la teneur en matière organique, la disponibilité des nutriments, l'abondance des micro-organismes peuvent expliquer les résultats que nous avons obtenus. Dans ce contexte, il est important de déterminer à l'échelle des communautés microbiennes et de leur fonction l'impact des pratiques culturales sur les services microbiologiques rendus par le sol au sein des agro-écosystèmes. Ceci afin de préciser les seuils critiques au delà desquels la communauté microbienne du sol aura perdu de façon irréversible l'une de ses fonctions.

Quel est l'effet de la disponibilité en N sur la décomposition ?

L'utilisation, par les microorganismes du sol, de l'énergie (carbone) contenu dans les résidus organiques apportés au sol se fait en présence d'une source d'azote dont l'origine peut être multiple: l'azote du résidu, l'azote minéral contenu dans la solution du sol et/ou l'azote des cellules microbiennes (Mary et al., 1996). L'impact de la disponibilité de ces formes d'azote sur les processus de décomposition fait l'objet d'une abondante littérature dont les conclusions sont souvent contradictoires (Fog, 1988; Prescott et al., 1992; Berg et Matzner, 1997; Michel et Matzner, 2002). Les travaux de Recous et al. (1995) et Henriksen et Breland (1999) indiquent qu'il existe un seuil de disponibilité de l'azote (1.1-1.2 % de matière sèche) qui contrôle les processus de décomposition et conditionne les effets de tout apport d'azote minéral supplémentaire. Au-dessus de ce seuil, les apports minéraux ne modifient pas la dynamique du carbone. Nos travaux confirment ce résultat. En effet, la concentration en azote des sols incubés (1.7 % à 3.2 % de matière sèche) est supérieure à cette valeur seuil. Aucun

effet significatif de l'ajout d'azote n'a été enregistré. Cependant, il faut nuancer l'impact de ce facteur seuil. De ce fait, celui-ci ne prend pas en considération la composition biochimique des litières et tout particulièrement, il ne tient pas compte de la présence de composés phénoliques qui peuvent, en s'associant avec l'azote apporté, modifier la dynamique du carbone.

C'est ainsi que, l'ajout de N minéral a un effet positif sur la décomposition de la litière de *Casuarina equisetifolia*. La quantité de C minéralisée pour cette litière est significativement plus élevée en présence de N minéral exogène (668 mg C-CO₂ kg⁻¹ sol) qu'en absence de N minéral (571 mg C-CO₂ kg⁻¹ sol). L'azote minéral pourrait complexer les phénols responsables de l'inhibition de l'activité microbienne. Cependant, il peut aussi s'agir d'un effet négatif sur la décomposition des litières riches en lignine en formant des complexes récalcitrants à la décomposition. C'est le cas de la litière de *Faidherbia albida* riche en lignine (22 %) dont la quantité de C minéralisée est significativement plus faible avec ajout de N minéral (555 mg C-CO₂ kg⁻¹ sol) que sans ajout (740 mg C-CO₂ kg⁻¹ sol).

En ce qui concerne l'effet de N exogène sur la diversité des communautés microbiennes, aucun impact significatif sur la diversité bactérienne globale n'a été trouvé. Cependant, l'ajout de N influence spécifiquement la population fongique. Nos résultats montrent que les profils DGGE obtenus sont très différents en présence ou non de N minéral exogène dans les sols amendés avec des résidus. Un dénombrement des champignons cultivables a permis de conforter ce résultat. Nos résultats confirment ainsi les travaux énonçant l'effet négatif de la fertilisation azotée sur la biomasse fongique (Donnison et al., 2000; Sarathchandra et al., 2001; Bossuyt et al., 2001). De plus, l'originalité de notre approche est la prise en compte aussi bien des champignons cultivables que les non-cultivables. Néanmoins, les mécanismes à l'origine de cet effet négatif sur la population fongique spécifique restent encore inconnus. Söderström (1983) a suggéré que la réduction de la biomasse fongique après ajout de N minéral proviendrait d'un stress osmotique.

Cet aspect de l'étude de la disponibilité de N pendant la décomposition des litières est l'un des rares abordé dans les autres travaux concernant les sols sableux. Il est connu que dans ces sols, la formation et la stabilité de l'agrégation des particules du sol ne sont assurées principalement que par les champignons à travers leurs hyphes. Ce qui est différent des sols argileux où les bactéries ont aussi un rôle important à jouer. Donc, un effet négatif de cet azote trouvé sur les champignons a pour conséquence principale, dans les sols sableux, un effet négatif sur l'agrégation. Cette stabilité des agrégats est importante sur les processus qui maintiennent une agriculture durable par la formation des réservoirs de fertilité.

Il nous paraît dès lors, important d'améliorer les connaissances sur ces effets en utilisant des doses différentes de N minéral et en suivant la dynamique des populations avec les techniques moléculaires.

Le « priming effect »

Le « priming effect » peut être défini par une modification du turn-over de la matière organique du sol. L'ajout de matière organique fraîche par exsudation racinaire ou par amendement organique, d'engrais minéral, des cycles d'humectation - dessiccation, le travail du sol...etc, sont autant d'actions qui peuvent être responsables de ce processus. L'ampleur de ce processus, ses déterminants ont fait, depuis les travaux de Löhnis (1926) puis de Bingeman et al. (1953), l'objet d'une abondante littérature (voir revue de Kuzyakov et al., 2000). L'examen de cette littérature montre i) que la plupart des études se sont intéressées à l'impact de l'ajout de matière organique fraîche et ii) que les modalités de mise en évidence de ce processus varient quelque peu si l'on s'intéresse au cycle du carbone ou de l'azote. Pour l'azote, le priming effect correspond, par rapport au sol témoin, à la quantité d'azote supplémentaire provenant de la matière organique du sol qui est absorbée par la plante en présence d'un engrais minéral (Jenkinson et al., 1985). Pour le carbone, il correspond au surplus d'activité respiratoire en présence d'une source organique fraîche, comparée à celle d'un sol non amendé (Dalenberg et Jager, 1989). La définition du priming effect met en avant une augmentation des quantités de C ou de N en présence d'une source exogène. Néanmoins, dans certains cas des processus d'inhibition dus à des métaux toxiques (Merckx et al., 2001) ou à une décomposition incomplète des sources de C et N, une protection physico-chimique ou une forte immobilisation des substances organiques (Saggar et al., 1999; Kuzyakov et al., 2000) ajoutées sont constatés. Quel que soit le sens des variations (stimulation versus inhibition), leur quantification repose sur la mesure des flux de C et N, rendus possibles par l'utilisation des isotopes (^{14}C , ^{13}C , ^{15}N).

Les travaux reportés dans ce manuscrit ont concerné les processus microbiens de décomposition de différents constituants organiques (composés simples et résidus végétaux). Des flux nets de CO_2 et N minéral ont été mesurés dans différentes expérimentations. Seule l'utilisation de résidus enrichis en ^{13}C et ^{15}N a permis de quantifier l'impact de la qualité des apports organiques sur le priming effect. Dans cette expérience, l'apport des résidus induit une augmentation de la décomposition de la matière organique native. Ce priming effect (PE) positif, comparé à la respiration du sol non amendé, varie en fonction de la composition

biochimique du résidu apporté et non en fonction de son rapport C/N. En effet les deux résidus (Siliques haute teneur (H) et basse teneur (L) en N) de composition biochimique similaire avec des ratios C/N différents (34 et 58 respectivement) induisent des PE significativement équivalents (403 et 376 mg C kg⁻¹ respectivement), alors que la racine de C/N (37) voisine de la silique (H) et de composition biochimique différente, présente un PE environ deux fois inférieur (282 mg C kg⁻¹) à celui de la Silique (H). Le priming effect dépend ainsi de la qualité biochimique des résidus. La richesse en composés solubles semble déterminer la réponse du sol à l'ajout d'un résidu organique, le priming effect le plus élevé étant mesuré dans le sol amendé avec les résidus riches en composés hydrosolubles. Dans la plupart des travaux de la littérature le PE a été effectivement mesuré dans des sols enrichis en substrats organiques simples (glucose, cellulose...) limitant les comparaisons avec ce travail (Dalenberg et Jagger, 1989; Hamer et al., 2002; Fontaine et al., 2004a).

Les processus à l'origine du priming effect ont été longuement discutés. Il a été attribué soit à une augmentation de l'activité microbienne ou la production d'enzymes par les micro-organismes après addition de matière organique fraîche (Kuzyakov et al., 2000) soit à la formation d'une nouvelle biomasse microbienne décomposant la matière organique du sol lorsque la matière organique fraîche est épuisée (Tate, 1987; Pascual et al., 1998). Dans une série de travaux récents Fontaine et al. (2003, 2004a et 2004b), montrent que l'intensité du priming effect dépend principalement des communautés microbiennes et de leur capacité métabolique pour l'acquisition de l'énergie et des nutriments. Leur hypothèse met en jeu deux types de micro-organismes différents : un type de micro-organismes à croissance rapide appelés r-stratégistes qui décomposent la matière organique fraîche apportée, mais sont dépendants d'une source de nutriment (N en particulier). Un autre type à croissance lente appelés K-stratégistes et qui décomposent la matière organique du sol. Ces derniers sont adaptés à leur environnement et sont moins sensibles à la limitation en nutriment. Selon ces auteurs, si la décomposition d'un résidu organique est le seul fait des r-stratégistes, le PE sera faible voir nul, le gain en CO₂ respiré, comparé au sol non amendé, n'étant dû qu'à la décomposition du résidu amendé. A l'inverse, si les deux communautés sont impliquées, l'intensité du PE dépendra de la compétition entre ces deux micro-organismes. Dans une étude conduite en conditions contrôlées de laboratoire et en utilisant la cellulose comme modèle d'apport, ces auteurs ont confirmé que le priming effect dépendrait de la compétition entre les r et K-stratégistes (Fontaine et al., 2004a). Dans notre étude, la plus forte réponse enregistrée pour les litières riches en hydrosolubles, reconnues pour leur diffusion dans la matrice minérale (Chotte et al., 1998; Gaillard et al., 1999), tend à conforter l'importance de

la communauté K-stratégiste dans le PE. Par ailleurs, nous n'avons pas obtenu d'effet significatif de N exogène sur le PE, alors que Fontaine et al. (2004b) ont montré que la compétition entre ces deux communautés microbiennes peut être modifiée par des facteurs extérieurs comme la disponibilité en azote. En effet ils ont établi que le priming effect induit par un apport de cellulose dans un sol pauvre en N minéral est deux fois plus intense que celui induit dans un sol riche en N minéral. La teneur en azote minéral de notre sol ($> 35 \text{ mg N kg}^{-1}$), supérieure au seuil de N minéral limitant proposé par Recous et al. (1995) peut expliquer ce résultat.

La principale conséquence qui découle d'une stimulation forte de la minéralisation de la matière organique native après un apport de litières, est le déstockage net de carbone du sol (Fontaine et al., 2004b). Ces auteurs ont montré que l'apport d'un substrat organique exogène pouvait provoquer une perte nette du carbone du sol. Dans ce cas, le surplus de matière organique minéralisée, comparé à un sol non-amendé, n'est pas comblé par le carbone résiduel provenant du résidu non-décomposé. Dans notre travail, cette situation n'a jamais été enregistrée malgré de forte différence dans les valeurs de Priming Effect en fonction de la composition des litières testées. Ces conclusions, obtenues à partir d'essais en conditions contrôlées de laboratoire, sont à affiner. Il est important de prendre en considération les conditions de terrain (cycles d'humectation – dessiccation des sols, variations de température) et les quantités de litières apportées. Dans toutes les expériences menées dans ce travail, la quantité de résidus que nous avons apportée varie, en condition équivalente de champs, entre 6 et 15 t ha^{-1} et demeure largement supérieure aux doses de 2,5 à $3,5 \text{ t ha}^{-1}$ habituellement recommandées (GRET, 2004).

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ce travail de thèse a permis de mettre en exergue l'intérêt d'aborder l'importance des communautés microbiennes des sols dans les processus de décomposition des résidus organiques et les flux d'azote (N minéral) et de carbone (CO₂). La qualité de la litière, les micro-organismes (leur abondance et leur diversité) ainsi que leur besoin en nutriment (N minéral) ont été considérés comme les déterminants majeurs des processus de décomposition. Les différentes expériences conduites ont permis de préciser les effets de la qualité biochimique des litières sur l'activité et la diversité des micro-organismes au cours des processus de décomposition dans un sol ferrugineux tropical de l'Afrique de l'Ouest.

Si l'objectif a été d'améliorer les connaissances scientifiques sur les déterminants biologiques durant les processus initiaux de décomposition des intrants organiques, il n'en demeure pas moins qu'une des conséquences importantes de cette étude porte sur l'amélioration des systèmes de production agricole par une optimisation de la gestion des amendements organiques. En effet, le fait de pouvoir contrôler l'activité des micro-organismes et donc maîtriser les flux de nutriments durant la décomposition des litières est un enjeu important pour déterminer, parmi les sources organiques disponibles à l'échelle des terroirs, celles qui permettent le maintien de la production de biomasse et l'entretien du stock organique essentiel aux propriétés des sols. Cela a notamment pour conséquence directe d'assurer la synchronisation de la libération de ces nutriments et la demande des plantes en croissance (Myers et al., 1994). En Afrique de l'Ouest, le déficit annuel en nutriments est évalué en moyenne à 20 kg N ha⁻¹, 3 kg P ha⁻¹ et 15 kg K ha⁻¹ (Sanginga et al., 2003). La gestion de ce déficit ne peut pas uniquement s'envisager par la gestion des ressources organiques produites en trop faible quantité et/ou indisponible (utilisées à d'autres fins) à l'échelle du terroir. Il convient dès lors de proposer des solutions qui passent par la gestion de la qualité des ressources en proposant des pratiques combinant des apports organiques de qualités différentes. L'objectif est d'ajuster la minéralisation de l'azote aux besoins des plantes en apportant des combinaisons de litières dites « minéralisatrices » et des litières dites « immobilisatrices » vis-à-vis de l'azote. En effet, les résidus pauvres en N, mais avec une quantité élevée en lignine et en polyphénols libèrent lentement et tardivement leur azote. De fait, une faible quantité de l'azote du résidu apporté est disponible pour les cultures à un instant donné bien qu'une bonne partie reste complexée dans le sol. Les résidus riches en N, mais de faibles concentrations en lignine et polyphénols, libèrent rapidement une forte quantité d'azote pendant les premières périodes de la croissance des cultures et ne peuvent contribuer à la stabilité de la matière organique du sol. La combinaison de ces résidus de différentes qualités biochimiques pourrait modifier l'évolution de N minéral dans le sol

(Myers et al., 1994; Quemada et Cabrera, 1995; Handayanto et al., 1997). Cela suggère qu'en modifiant la cinétique de décomposition d'un résidu riche en N par ajout de résidu pauvre en N, il est possible d'augmenter la stabilisation de N dans la MO du sol à travers une augmentation de l'immobilisation de N diminuant ainsi temporairement les pertes par lessivage. Au Sénégal, ce lessivage est important du fait de la texture sableuse des sols et des pluies violentes.

De plus, la maîtrise de la cinétique de minéralisation de C et N a une implication directe importante sur le moment et la quantité de fertilisant azoté généralement ajoutée lorsque les résidus végétaux sont incorporés dans le sol. Cela permet d'éviter une déficience en N lorsqu'une immobilisation survient, ou d'éviter un excès de disponibilité de N lorsque les résidus libèrent de l'azote inorganique. Ainsi, du point de vue agronomique, si des litières de C/N élevé ou riches en phénols sont incorporés dans le sol, il convient alors d'ajouter un fertilisant d'azote inorganique. La stabilisation de la matière organique dans le sol sera favorisée par une addition d'azote minéral simultanément à une addition de résidus végétaux de C/N élevé. Par contre, pour des litières à C/N faible, riches en N, il n'est pas nécessaire d'ajouter un fertilisant azoté au risque d'induire une phase de minéralisation précoce. De plus cet azote peut avoir un effet négatif sur les champignons et par conséquent la formation des agrégats. En effet, dans les sols tropicaux sableux, contrairement aux sols argileux tempérés, la stabilité des agrégats est fortement influencée par les hyphes des champignons.

Cet aspect de l'étude de la disponibilité de N pendant la décomposition des litières est l'un des rares abordé dans les autres travaux concernant les sols sableux. Il est connu que dans ces sols, la formation et la stabilité de l'agrégation des particules du sol ne sont assurées principalement que par les champignons à travers leurs hyphes. Ce qui est différent des sols argileux où les bactéries ont aussi un rôle important à jouer. Donc, un effet négatif de cet azote trouvé sur les champignons a pour conséquence principale, dans les sols sableux, un effet négatif sur l'agrégation. Cette stabilité des agrégats est importante sur les processus qui maintiennent une agriculture durable par la formation des réservoirs de fertilité.

Par ailleurs, nous avons vu que l'on ne peut décrire les processus de décomposition des litières sans tenir compte de la contribution intrinsèque du sol. Nous avons suggéré que la compréhension totale des processus de décomposition et donc la fiabilité des modèles de prévisions des flux à élaborer doit nécessairement prendre en compte le rôle important des micro-organismes, de leur diversité fonctionnelle et de la structure et la dynamique de leurs

populations. Il est à l'heure actuelle difficile de relier la diversité des communautés microbiennes et leurs fonctions de décomposition dans le long terme. Cela est dû probablement à la complexité du milieu sol. La décomposition des résidus végétaux dépend de la matière organique native du sol et de la compétition entre les populations microbiennes (r et K-stratégistes). De plus, cette matière organique n'est pas accessible à tous les micro-organismes. Il apparaît une distribution hétérogène des matières organiques et des micro-organismes dans le sol avec des conséquences directes sur l'activité microbienne, les flux de nutriments et de gaz selon les sites de décomposition. Il convient donc de prendre en compte d'une part, l'hétérogénéité spatiale des interactions entre matière organique et micro-organismes, et d'autre part l'hétérogénéité de la structure des populations microbiennes. De plus, la taille des résidus végétaux constitue aussi un facteur important influençant la décomposition. Elle induit des surfaces de contact plus ou moins différentes faisant varier la dégradabilité des résidus.

Il est ainsi, nécessaire d'étudier tous ces facteurs pour mieux préciser leurs effets et les intégrer dans les modèles de transformation des composés organiques. Au-delà de la nécessité d'enrichir nos connaissances sur les relations entre la qualité des litières et leur décomposition, il demeure que ce travail a été effectué dans des conditions expérimentales qui ne reflètent évidemment pas les conditions en milieu naturel. En effet, contrairement aux incubations contrôlées en laboratoire, la décomposition en milieu naturel (aux champs) est fortement affectée par le climat (Bernhard-Reversat, 1981; Vanlauwe et al., 1996) et l'activité de la faune sol (Tian et al., 1995). Ces contraintes rendent encore plus réels certains aspects des interactions entre la qualité des résidus végétaux et leur décomposition. Les interactions entre les polyphénols et l'azote des résidus pourraient être réduites en condition de champs, du fait du lessivage des polyphénols ou de N des résidus (Handayanto et al., 1994).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aber J.D., Melillo L.M. (1982). Nitrogen immobilization in decaying hardwood leaf litter as a function of initial nitrogen and lignin content. *Canadian Journal of Botany* 60: 2263-2269.

Adler T. (1977). Lignin chemistry: past, present and future. *Wood Science and Technology* 11: 69-218.

Aita C., Recous S., Angers D.A. (1997). Short-term kinetics of residual wheat straw C and N under field conditions: characterization by $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$ tracing an soil particle size fractionation. *European Journal of Soil Science* 48: 283-294.

Ajwa H.A., Dell C.J., Rice C.W. (1999). Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as affected to burning and nitrogen fertilization. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 769-777.

Allard J.L., Bertheau Y., Drevon J.J., Ganry F. (1983). Ressources en résidus de récolte et potentialités pour le biogaz au Sénégal. *Agronomie Tropicale* 38: 213-221.

Allison F.E., Klein C.J. (1962). Rate of immobilization and release of nitrogen following addition of carbonaceous materials and nitrogen in soils. *Soil Science* 93: 383-386.

Amato M., Ladd J.N. (1988). Assay for microbial biomass based on ninhydrin-reactive nitrogen in extracts of fumigated soils. *Soil Biology and Biochemistry* 20: 107-114

Amato M., Ladd J.N. (1992). Decomposition of ^{14}C -labelled glucose and legume material in soils: properties influencing the accumulation of organic residues C and microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* 24: 455-464.

Anderson J.P.E., Domsch K.H. (1978). A physiological method for measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 10: 215-221.

Andrews J.H., Hall R.F. (1986). r and K selection an microbial ecology. *Advances in Microbial Ecology* 9: 99-147.

Anonymous (1994). Model DR/700 Portable Colorimeter Instrument Manual. HACH Company, Loveland 69: 7-12.

Badalucco L., Pomare F., Grego S., Landi L., Nannipieri P. (1994). Activity and degradation of streptomycin and cycloheximide in soil. *Biology and Fertility of Soils* 18: 334–340.

Baker G.C., Smith J.J., Cowan D.A. (2003). Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of Microbiological Methods* 55: 541-555.

Bandick A.K., Dick R.P. (1999). Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1471-1479.

Béguin P., Aubert J.P. (1994). The biological degradation of cellulose. *FEMS, Microbiology Reviews* 13: 25-28.

Berg B., Wessen B., Ekbohm G. (1982). Nitrogen level and lignin decomposition in Scots pine needle litter. *Oikos* 38: 291–296.

Berg B. (1986). Nutrient release from litter and humus in coniferous forest soils – a mini review. *Scandin. J. Forest Research* 1: 359-369.

Berg B., Matzner E. (1997). Effect of N deposition on decomposition of plant litter and soil organic matter in forest ecosystems. *Environmental Review* 5: 1-25.

Bernhard-Reversat F. (1981). Note sur l'influence du régime thermique et hydrique sur l'ammonification et la nitrification dans un sol de savane sahélienne. *Cahier ORSTOM, Série Pédologie* Vol. XVIII, n° 2, 147-152.

Bernhard-Reversat F. (1982). Biogeochemical cycle of nitrogen in a semi-arid savannah. *Oikos* 38:321-332.

Bernhart-Reversat F. (1999). Changes in relationships between initial litter quality and CO₂ release during early decomposition of tropical leaf litters. *European Journal of Soil Biology* 34: 117-122.

Bingeman C.W., Varner J.E., Martin W.P. (1953). The effect of the addition of organic materials on the decomposition of an organic soil. *Soil Science Society America Proceedings* 29: 692–696.

Bonmati M., Pujola M., Sana J., Soliva M., Felipo M.T., Garau M., Ceccanti B., Nannipieri P. (1985). Chemical properties, populations of nitrite oxidizers, urease and phosphatase activities in sewage sludge-amended soils. *Plant Soil* 84 : 79–91.

Bonsignore A., Leoncini G., Siri A., Ricci D. (1973). Polymerization of methylglyoxal in the presence of ltsine. *Italian Journal of Biochemistry* 22:55-64.

Bol R., Kandeler E., Amelung W., Glaser B., Marx M.C., Preedy N., Lorenz K. (2003). Short-term effects of dairy slurry amendment on carbon sequestration and enzyme activities in a temperate grassland. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 1411-1421.

Bossuyt H. , Deneff K., Six J., Frey S.D., Merckx R., Paustian K. (2001). Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Applied Soil Ecology* 16: 195-208.

Boufalas A., Pellissier F. (1994). Allelopathic effect of phenolic mixtures on respiration of two spruce mycorrhizal fungi. *J. Chem. Ecol.* 20: 2283-2289.

Bremer E., Van Houtoum W., Kessel C. (1991). Carbon dioxide evolution from wheat and lentil residues as affected by grinding, added nitrogen and the absence of soil. *Biology Fertility of Soils* 11: 221-227.

Bremner J.M. (1965). Inorganic forms of nitrogen. In: C.A. Black et al. (eds) *Methods of soil analysis. Part 2 Agron. Monogr.* 9, ASA, SSSA, Madison, WI. pp 1179-1237

Brewer R. (1976). Fabric and Mineral Analysis. R.E. Krieger, Publishing Co., Inc. New York, 482 p.

Broadbent F.E., Nakashima T. (1974). Mineralization of carbon and nitrogen in soil amended with carbon-13 and nitrogen-15 labeled plant material. Soil Science Society of America Proceedings 38: 313-315.

Camiré C., Côté B., Brulotte S. (1991). Decomposition of roots of black alder and hybrid poplar in short-rotation plantings: N and lignin control. Plant and Soil 138: 123-132.

Chander K., Ulrich E., Joergensen R.G., Klein T. (2002). Decomposition of ^{14}C labelled wheat straw in repeatedly fumigated and non-fumigated soils with different levels of heavy metal contamination. Biology and Fertility of Soils 35: 86–91.

Chaussod R. (1996). La qualité biologique des sols: évaluation et implications. Etude et Gestion des Sols 3, 4: 261-277.

Chaussod R., Nicolardot B., Catroux G. (1986). Mesure en routine de la biomasse microbienne des sols par la méthode de fumigation au chloroforme. Science du Sol 2 : 201-211.

Chesson A. (1997). Plant degradation by ruminants: parallels with litter decomposition in soils. *In* Driven by nature: plant litter quality and decomposition (Cadisch G., Giller K.E. eds.), pp. 47-66. CAB INTERNATIONAL, Wallingford, UK.

Chotte J.L., Ladd J.N., Amato M. (1998). Sites of microbial assimilation and turnover of soluble and particulate ^{14}C -labelled substrate decomposing in a clay soil. Soil Biology and Biochemistry 30: 205-218.

Constantinides M., Fownes J.H. (1994). Nitrogen mineralization from leaves and litter of tropical plants: relationships to nitrogen, lignin and soluble polyphenol concentrations. Soil Biology and Biochemistry 26: 49-55.

Coleman D.C., Oades J.M., Uehara G. (1989). Dynamics of soil organic matter in tropical ecosystems. NifTAL project, University of Hawaii Press, Honolulu, 249p.

Coûteaux M.M., Bottner P., Björn B. (1995). Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 63-66.

Coûteaux M.M., McTiernan K.B., Szuberla D., Dardenne P., Bottner P. (1998). Chemical composition and carbon mineralization potential of Scots pine needles at different stages of decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 583-595.

Cragg R.G., Bardgett R.D. (2001). How changes in soil faunal diversity and composition within a tropic group influence decomposition processes. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 2073-2081.

Crecchio C., Curci M., Mininni R., Ricciuti P., Ruggiero P. (2001). Short-term effects of municipal solid waste compost amendments on soil carbon nitrogen content, some enzyme activities and genetic diversity. *Biology and Fertility of Soils* 34: 311-318.

Dalenberg J.W., Jager G. (1989). Priming effect of some organic additions to ¹⁴C-labelled soil. *Soil Biology and Biochemistry* 21: 443-448.

Darwis S. (1993). Effet des modalités de gestion de la paille de blé sur l'évolution du carbone et de l'azote au cours de sa décomposition dans le sol. Thèse de doctorat, Institut National Agronomique, Paris-Grignon, 196 p.

De Nobili M., Contin M., Mondini C., Brookes P.C. (2001). Soil microbial biomass is triggered into activity by trace amounts of substrate. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1163-1170.

Dehority B.A. (1967). Rate of isolated hemicellulose degradation and utilization by pure cultures of rumen bacteria. *Applied Microbiology* 15: 987-993.

Degens B.P., (1998). Decrease in microbial functional diversity do not result in corresponding changes in decomposition under different moisture conditions. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 1989-2000.

Degens B.P., Harris J.A. (1997). Development of a physiological approach to measuring the metabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 29: 1309-1320.

Degens B.P., Schipper L.A., Sparling G.P., Duncan L.C. (2001). Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance? *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1143–1153.

Degens B.P., Shipper L.A., Sparling G.P., Vojvodic-Vukovic M. (2000). Decrease in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 189-196.

Dilly O., Bartsch S., Rosenbrock P., Buscot F., Munch J.C. (2001). Shifts in physiological capabilities of the microbiota during the decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (Gaertn.) L.) forest. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 921-930.

Dilly O., Bloem J., Vos A., Munch J.C. (2004). Bacterial diversity in agricultural soils during litter decomposition. *Applied and Environmental Microbiology* 70: 468-474.

Dommergues Y., Mangenot F. (1970). *Ecologie microbienne du sol*. Masson (ed.) Paris, France, 796 p.

Domsch K.H., Jagnow G., Anderson T.H. (1983). An ecological concept for the assessment of side-effect of agrochemicals and soil micro-organisms. *Residue Reviews* 86: 65-105.

Donnison L.M., Griffith G.S., Bardgett R.D. (2000). Determinants of fungal growth and activity in botanically diverse hay meadows: effects of litter type and fertilizer additions. *Soil Biology and Biochemistry* 32:289-294.

Duponnois R., Chotte J.L., Sall S.N., Cadet P. (2001). The effect of organic amendments on the interactions between a nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora* and the root knot nematodes *Meloidogyne mayaguensis* parasitizing tomato plants. *Biology and Fertility of Soils* 34: 1-6.

Eivazi F., Bayan M.R. (1996). Effects of long-term prescribed burning on the activity of selected soil enzymes in an oak-hickory forest. *Canadian Journal of Forest Research* 26: 1799-1804.

Ettema C.H. (1998). Soil nematode diversity : species coexistence and ecosystem function. *Journal of Nematology* 30: 159-169.

Falih A.M.K., Wainwright M. (1996). Microbial and enzyme activity in soils amended with a natural source of easily available carbon. *Biology and Fertility of Soils* 21 : 177–183.

Fall S. (2002). Réponse des communautés microbiennes d'un sol Sahélien à la modification de ses habitats: cas de l'activité de construction d'un termite humivore *Cubitermes niokolensis*. Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard Lyon 1, France. 176 p.

FAO (1998). World reference base for soil resources. World Soil Resources reports, Food and Agricultural Organization, Rome, pp. 98.

Feller C. (1995). La matière organique du sol: un indicateur de la fertilité. Application aux zones sahélienne et soudanienne. *Agriculture et Développement* 8 :35-41.

Feller C., Guiraud G., Hetier J.M., Marol C. (1983). Study by size fractionation of organic matter in a cultivated tropical soil fertilized with labelled crop residues ($^{14}\text{C}^{15}\text{N}$) and urea (^{15}N). *International Journal of tropical Agriculture* 1: 123-130.

Felske A., Akkermans A.D.L. (1998). Spatial homogeneity of abundant bacterial 16S rRNA molecules in grassland soils. *Microbial Ecology* 36: 31-36.

Fillery I.R.P., Recous S. (2001). Use of enriched ^{15}N sources to study soil N transformations. In: *Stable isotope techniques in study of biological processes and functioning*

of ecosystems. Unokovich M., Pate J., McNeill A. and Gibbs D.J. (eds). Kluwer Academic Publishers. Chapter 9, p. 167-194.

Fioretto A., Papa S., Curcio E., Sorrentino G., Fuggi A. (2000). Enzyme dynamics on decomposing leaf litter of *Cistus incanus* and *Myrtus communis* in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1847-1855.

Floret C., Pontanier R. (1993). Recherche sur la jachère en Afrique tropicale. In: Floret C., Pontanier R., Serpentié G. (eds) *La Jachère en Afrique Tropicale*, Mab UNESCO, pp 11-54.

Fog K. (1988). The effect of added nitrogen on the rate of decomposition of organic matter. *Biology Review* 63: 433-462.

Fontaine S., Bardoux G., Abbadie L., Mariotti A., (2004b). Carbon input to soil may decrease soil carbon content. *Ecology Letters* 7: 314-320.

Fontaine S., Bardoux G., Benest D., Verdier B., Mariotti A., Abbadie L. (2004a). Mechanisms of the priming effect in a savannah soil amended with cellulose. *Soil Science Society of American Journal* 68: 125-131.

Fontaine S., Mariotti A., Abbadie L. (2003). The priming effect of organic matter : a question of microbial competition ? *Soil Biology and Biochemistry* 35: 837-843.

François C., Feller C, Guiraud G., Louri J., Boudot J.P. (1991). Immobilization of nitrogen from urea and plant residues in a ferrallitic soil. Study by size-fractionation. *Biologie Fertility of Soils* 12: 182-188.

Gaillard V., Chenu C., Recous S., Richard G. (1999). Carbon, nitrogen and microbial gradients induced by plant residues decomposing in soil. *European Journal of Soil Science* 50: 567-578.

Gignoux J., House J., Hall D., Masse D., Nacro H.B., Abbadie L. (2001). Design an test of a generic cohort model of soil organic matter decomposition: the SOMKO model. *Global Ecology an Biogeography* 10: 639-660.

Giller K.E., Cadisch G. (1997) Driven by nature : A sense of arrival or departure ? In: Driven by nature. Plant Litter Quality and Decomposition Caddisch G, Giller KE (eds) CAB International, Wallingford, UK, pp 393-399

Giller K.E., Beare M.H., Lavelle P., Izac A.M.N., Swift M.J. (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Applied Soil Ecology* 6, 3-16.

Goering H.K., Van Soest P.J. (1970). Forage fibre analysis (apparatus, reagent, procedure and some application). USDA Agric. Handbook No. 379, U.S. Govt. Printing Office, Washington D.C.

Grenet E. (1997). Aspects microscopiques de la dégradation microbienne des tissus végétaux dans le rumen. *INRA Prod. Anim.* 3: 241-249.

GRET (2004). Groupe de Recherche et d'Echanges Technologiques. Jachères, fertilité, dynamiques agraire, innovations paysannes et collaborations chercheurs/paysans. *Coopérer aujourd'hui* N° 36, 62 p.

Griffiths B.S., Ritz K., Bardgett R.D., Cook R., Christensen S., Ekelund F., Sørensen S., Bååth E., Bloem J., de Ruiter P., Dolfing J., Nicolardot B. (2000). Ecosystem response of pasture soil communities to fumigation-induced microbial diversity reductions: an examination of the biodiversity–ecosystem function relationship. *Oikos* 90: 279–294.

Griffiths B.S., Ritz K., Wheatley R., Kuan H.L., Boag B., Christensen S., Ekelund F., Sorensen S.J., Muller S., Bloem J. (2001). An examination of the biodiversity-ecosystem function relationship in arable soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1713-1722.

Haider K., Martin J.P., Filip Z. (1975). Humus biochemistry. In: Paul EA, McLaren AD (eds.) *Soil Biochemistry*, vol. 4. Marcel Dekker, New York, pp. 195-244.

Haldeman D.L., Amy P.S., Ringelberg D., White D.C., Garen R.E., Ghiorse W.C. (1995). Microbial growth and resuscitation alter community structure after perturbation. *FEMS Microbiology Ecology* 17: 27-38.

Hamer U., Marschner B. (2002). Priming effects of sugars, amino acids, organic acids and catechol on the mineralization of lignin and peat. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165: 261–268.

Hammel K.E. (1997). Fungal degradation of lignin. In: Cadish, G., Giller, K.E. (Eds.). *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. CAB International, Wallingford, UK, pp. 33–45.

Handayanto E., Cadisch G., Giller K.E. (1994). Nitrogen release from prunings of legume hedgerow trees in relation to quality of the prunings and incubation method. *Plant and Soil* 160: 237-248.

Handayanto E., Cadisch G., Giller K.E. (1997). Nitrogen mineralization from mixtures of legume tree prunings of different quality and recovery of nitrogen by maize. *Soil Biology and Biochemistry* 29: 1417-1426.

Harborne J.B. (1997). Role of phenolic secondary metabolites in plants and their degradation in nature. In: Cadisch G., Giller K.E. (Eds.). *Driven by Nature: Plant Litter Quality and Decomposition*. CAB International. Oxon, pp. 67-74.

Harrison U.J., Shaw H.D. (2001). Effect of soil pH and nitrogen fertility on the population dynamics of *Thielaviopsis basicola*. *Plant and Soil* 228: 147-155.

Hayano K. (1973). A method for determination of β -glucosidase activity in soil. *Soil Science and Plant Nutrition* 19: 103-108.

Haynes R.J., Beare M.H. (1996). Aggregation and organic matter storage in meso-thermal, humid soils. In: Carter M.R., Stewart B.A. (Eds.). *Soil Structure and Organic Matter Storage*. CRC/Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 213-262.

Heal O.W., Anderson J.M., Swift M.J. (1997). Plant litter quality and decomposition: an historical overview. In: Cadish, Giller KE (eds), *Driven by Nature, Plant Litter Quality and Decomposition*. CAB International, Wallingford, pp 47-66.

Hendrickson O.Q. (1985). Variation in the C:N ratio of substrate mineralized during forest humus decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 17: 435-440.

Henriksen T.M., Breland T.A. (1999). Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1121-1134.

Herman W.A., McGill W.B., Dormarr J.R. (1977). Effects of initial chemical composition on decomposition of roots of three grass species. *Canadian Journal of Soil Science* 57: 205-215.

Heuer H., Krsek M., Baker P., Smalla K., Wellington E.M.H. (1997). Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 3233-3241.

Hoefsloot H., Van Der Pol F., Roeleveld L. (1993). Jachères améliorées. Options pour le développement des systèmes de productions en Afrique de l'Ouest. Etude littéraire. Royal Tropical Institute, Développement Agricole, 83 p.

Hu S., van Bruggen A.H.C., Grünwald N.J. (1999). Dynamics of bacterial populations in relation to carbon availability in a residue-amended soil. *Applied Soil Ecology* 13: 21-30.

Jarrige R., Grenet E., Demarquilly C., Besle J.M. (1995). Les constituants de l'appareil végétatif des plantes fourragères. In: R. Jarrige et al. (eds) *Nutrition des ruminants domestiques. Ingestion et digestion*, 25-82. INRA, Paris.

Jenkinson D.S., Fox R.H., Rayner J.H. (1985). Interactions between fertilizer nitrogen and soil nitrogen: the so-called "priming" effect. *Journal of Soil Science* 36: 425-444.

Jenkinson D.S. (1988). Determination of microbial biomass carbon and nitrogen in soil. In: Wilson J.R. (ed.), *Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems*. CAB International, Wallingford, pp. 368-386.

Jenkinson D.S., Ayanaba A. (1977). Decomposition of carbon-14 labeled plant material under tropical conditions. *Soil Science Society America Journal* 41: 912-915.

Jensen E.S. (1994). Mineralization-immobilization of nitrogen in soil amended with low C:N ratio plant residues with different particle size. *Soil Biology and Biochemistry* 26: 519-521.

Joseleau J.P. (1980). Les hémicelluloses. In: B. Monties et al. (eds), *Les polymers végétaux, polymers parétaux et alimentaires non azotes*, Bordas, Paris, pp. 87-121.

Kamphake L.J., Hannah S.A., Cohen J.M. (1967). Automated analysis for nitrate by hydrazine reduction. *Water Research* 1: 205-216.

Kandeler E., Gerber H. (1988). Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils* 6, 68-72

King H.G., Heath G.W. (1967). The chemical analysis of small samples of leaf material and the relationship between the disappearance and composition of leaves. *Pedobiologia* 7: 192-197.

Kirk T.K., Farrel R.L. (1987). Enzymatic combustions—the microbial degradation of lignin. *Annual Review of Microbiology* 41: 465–505.

Kögel-Knabner I. (2002). The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 139-162.

Kowalenko C.G., Ivarson K.C., Cameron D.R. (1978). Effect of moisture content and nitrogen fertilization on carbon dioxide evolution from field soils. *Soil Biology and Biochemistry* 10: 417-423.

Kolattukudy P.E. (1981). Structure, biosynthesis, and biodegradation of cutin and suberin. *Annual Review of Plant Physiology* 32: 539–567.

Krom M.D. (1980). Spectrophotometric determination of ammonia: a study of a modified Berthelot reaction using salicylate and dichloroisocyanurate. *The Analyst* 105: 305-316.

Küsel K., Drake H.L. (1999). Microbial turnover of low molecular weight organic acids during leaf litter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 107–118.

Kuzyakov Y., Friedel J.K., Stahr K. (2000). Review of mechanisms and quantification of priming effects. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1485-1498.

Lal R. (2002). Soil carbon dynamics in cropland and rangeland. *Environmental Pollution* 116: 353-362.

Landi L., Renella G., Moreno J.L., Fachini L., Nannipieri P. (2000). Influence of cadmium on the metabolic quotient, L:D-glutamic acid respiration ratio and enzyme activity: microbial ratio under laboratory conditions. *Biology Fertility of Soils* 32: 8-19.

Lavelle P. (1997). Faunal activities and soil processes: adaptative strategies that determine ecosystem function. *Advances in ecological research* 27: 93-130.

Lavelle P., Spain A.V. (2001). *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, 654 p.

Liiri M., Setälä H., Haimi J., Pennanen T., Fritze H. (2002). Soil processes are not influenced by the functional complexity of soil decomposer food webs under disturbance. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1009-1020.

Liljeroth E., Kuikman P., Van Veen J.A. (1994). Carbon translocation to the rhizosphere of maize and wheat and influence on the turnover of native soil organic matter at different soil nitrogen level. *Plant and Soil* 161: 233-240.

Linères M., Djackovitch J.L. (1993). Caractérisation de la stabilité biologique des apports organiques par l'analyse biochimique. In: Decroux J., Ignazi J.C. (Eds.), *Matières organiques et agricultures - Quatrième journées de l'analyse de terre et cinquième forum de la fertilisation raisonnée*. GEMAS-COMIFER, Paris, pp. 59-168.

Linn D.M., Doran J.W. (1984). Effect of water-filled pore space on carbon dioxide and nitrous oxide production in tilled and non-tilled soils. *Soil Science Society of America Journal* 48: 1267-1272.

Löhnis F. (1926). Nitrogen availability of green manures. *Soil Science* 22: 253–290.

Loreau M., Naeem S., Inchausti P., Bengtsson J., Grime J.P., Hector A. et al. (2001). Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. *Science*, 294: 804–808.

Lowry O.H., Rosbrough N.J., Farr A.L., Randall R.I. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265.

Lueken H., Hutcheon W.L., Paul E.A. (1962). The influence of nitrogen on the decomposition of crop residues in the soil. *Canadian Journal of Soil Science* 42: 276-288.

Lundquist E.J., Jackson L.E., Scow K.M., Hsu C. (1999). Changes in microbial biomass and community composition, and soil carbon and nitrogen pools after incorporation of rye into three California agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 221-236.

Lyr H. (1962). Detoxification of heartwood toxins and chlorophenols by higher fungi. *Nature* 195: 289-290.

Maignien R. (1965). Carte pédologique du Sénégal. Notice explicative en 1/1000000. ORSTOM, Dakar, 63 p.

Mangenot F., Toutain F. (1980). Les litières. *Actualités d'Ecologie Forestière* (ed. P. Pesson), Gauthier-Villars, Paris, pp. 3-59.

Marschner P., Kandeler E., Marschner B. (2003). Structure and function of soil microbial community in long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry* 35: 453-461.

Marstrop H. (1996). Influence of soluble carbohydrates, free amino acids, and protein content on the decomposition of *Lolium multiflorum* shoots. *Biology and Fertility of Soils* 21: 257-263.

Martens D.A. (2000). Plant residue biochemistry regulates soil carbon cycling and carbon sequestration. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 361-369.

Martens D.A., Johanson J.B., Frankenberger W.T. (1992). Production and persistence of soil enzymes with repeated addition of organic residues. *Soil Science* 153: 53-61.

Martin J.P., Haider K. (1986). Influence of mineral colloids on turnover rates of soil organic carbon. *In: P.M. Huang and M. Schnitzer, Editors, Interactions of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes vol. 17*, Soil Science Society of America, Madison , pp. 283–304.

Martin J.P., Haider K., Kassim G. (1980). Biodegradation and stabilization after 2 years of specific crop, lignin, and polysaccharide carbons in soils. *Soil Science Society of America Journal* 44: 1250-1255.

Mary B., Recous S., Darwis D., Robin D. (1996). Interactions between decomposition of plant residues and nitrogen cycling in soil. *Plant Soil* 181: 71-82.

McClaugherty C.A., Pastor J., Aber J.D. (1985). Forest litter decomposition in relation to soil nitrogen dynamics and litter quality. *Ecology* 66: 266-275.

McGill W.B., Hunt H.W., Woodmansee R.G., Reuss J.O. (1981). PHOENIX, a model of the dynamics of carbon and nitrogen in grassland soils. *In: Clark, F.E., Rosswall, T., Terrestrial Nitrogen Cycles. Stockholm, Sweden, pp. 49-115.*

McNaughton S.J. (1994). Biodiversity and function of grazing ecosystems. *In: Schulze, E.D., Mooney, H.A. (Eds.), Biodiversity and Ecosystem Function. Springer, London, pp. 361–383.*

McTiernan K.B., Ineson P., Coward P.A. (1997). Respiration and nutrient release from tree leaf mixtures. *Oikos* 78: 527-538.

Meli S.M., Badalucco L., English L.C., Hopkins D.W. (2003). Respiratory responses of soil micro-organisms to simple and complex organic substrates. *Biology and Fertility of Soils* 37: 96-101.

Melillo J.M., Aber J.D., Muratore J.F. (1982). Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* 63: 621-626.

Merckx R., Brans K., Smolders E. (2001). Decomposition of dissolved organic carbon after soil drying and rewetting as an indicator of metal toxicity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 235-240.

Michel K., Matzner E. (2002). Nitrogen content of forest floor Oa layers affects carbon pathways and nitrogen mineralization. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1807-1813.

Mikola J., Setälä H. (1998). Relating species diversity to ecosystem functioning-mechanistic backgrounds and an experimental approach with a decomposer food web. *Oikos* 83: 180-194.

Molina J.E.A., Clapp C.E., Shaffer M.J., Chichester, F.W., Larson W.E. (1983). NC SOIL, a model of nitrogen and carbon transformations in soils: description, calibration, and behaviour. *Soil Science Society of America Journal* 47 : 85-91.

Monties B., Lapierre C. (1981). Données récentes sur l'hétérogénéité de la lignine. *Physiol. Vég.* 19: 327-348.

Moorhead D.L., Sinsabaugh R.L. (2000). Simulated patterns of litter-decay predict patterns of extracellular enzyme activities. *Applied Soil Ecology* 14: 71-79.

Müller T., Jensen L.S., Nielsen N.E., Magid J. (1998). Turnover of carbon and nitrogen in a sandy loam soil following incorporation of chopped maize plants, barley straw and blue grass in the field. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 561-571.

Muyzer G., de Wall E., Uitterlinden A. (1993). Profiling of complex microbial populations by DGGE of PCR-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 695-700.

Myers R.J.K., Palm C.A., Cuevas E., Gunatilleke I.U.N., Brossard M. (1994). The synchronisation of nutrient mineralisation and plant nutrient demand. In: Woomer P.L. and Swift M.J. (eds.). *The Biological Management of Tropical Soil Fertility*. Wiley, Chichester, pp. 81-116.

Nadelhoffer K.J., Giblin A.E., Shaver G.R., Laundre J.A. (1991). Effect of temperature and substrate quality on element mineralization in six arctic soils. *Ecology* 72: 242-253.

Nannipieri P. (1994) The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: Pankhurst CE, Double BM, Gupta VVSR, Grace PR (eds) *Soil biota: management in sustainable farming systems*. CSIRO, Australia, pp 238-244.

Nannipieri P., Ascher J., Ceccherini M.T., Landi L., Pietramellara G., Renella G. (2003). Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science* 54: 655-670.

Nannipieri P., Sastre I., Landi L., Lobo M.C., Pietramellara G. (1996). Determination of extracellular neutral phosphomonoesterase activity in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 28: 107-112.

Ndour N.Y.B., Chotte J.L., Pate E., Masse D., Rouland C. (2001). Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. *Applied Soil Ecology* 18: 229-238.

Néel C. (1996). Modélisation couplée du transfert et des transformations de l'azote: paramétrisation et évaluation d'un modèle en sol nu. Thèse de Doctorat, Université Paris VI, 254 p.

Nelson N. (1944) A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J Biol Chem* 153: 375-380.

Nye P.H., Greenland D.J. (1960). The soil under shifting cultivation. Commonwealth Agricultural Office. 153 p.

Ogram A. (2000). Soil molecular microbial ecology at age 20: methodological challenges for the future. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1499-1504.

Olsson K. (1984). Long-term changes in the woody vegetation in North Kordofan, Sudan. A study with the emphasis on *Acacia senegal*. Rapport och Notiser, Lunds Universitets Naturgeografiska Institution, Lund, 60 p.

Palm C.A., Sanchez P.A. (1991). Nitrogen release from leaves of some tropical legumes as affected by their lignin and polyphenolic contents. *Soil Biology and Biochemistry* 23: 83-88.

Pankhurst C.E., Ophel-Keller K., Doube B.M., Gupta V.V.S.R. (1996). Biodiversity of soil microbial communities in agricultural systems. *Biodiversity and Conservation* 5: 197-209.

Pankhurst C.E., Yu S., Hawke B.G., Harch B.D. (2001). Capacity of fatty acid profiles and substrate utilization patterns to describe differences in soil microbial communities associated with increased salinity or alkalinity at three locations in south Australia. *Biology and Fertility of Soils*, 33: 204–217.

Parkinson D., Gray T.R.G., Williams S.T. (1971). Isolation of micro-organisms. In: Parkinson D., Gray T.R.G., Williams S.T. (eds). *Methods for studying the ecology of soil micro-organisms*. London: Blackwell, 19: 36-56.

Parr J.F., Papendick R.I. (1978). Factors affecting the decomposition of crop residues by micro-organisms. In: Oschwald W.R. (ed.) *Crop Residue Management Systems*. Am. Soc. Agron., Madison, pp. 101-129.

Parton W.J., Schimel D.S., Cole C.V., Ojima D.S. (1987). Analysis of factors controlling soil organic matter levels in Great Plains grasslands. *Soil Science Society of America Journal* 51: 1173–1179.

Pascual J., Hernandez T., Garcia C., Garcia A. (1998). Changes in the organic matter mineralization rates of an arid soil after amendment with organic wastes. *Arid Soil Res. Rehabil.* 12: 63–72.

Paul E.A. (1992). Organic matter decomposition. *Encyclopedia of microbiology*. Vol. 3: 289-303.

Paul E.A., Clark F.E. (1989). *Soil microbiology and biochemistry*. Academic Press, London.

Pianka E.R. (1970). On r and K selections. *American Naturalist* 104: 592-597.

Porteous L.A., Seidler R.J., Watrud L.S. (1997). An improved method for purifying DNA from soil for polymerase chain reaction amplification and molecular ecology applications. *Molecular Ecology* 6: 787-791.

Prescott E.C., Corbin P.J., Parkinson D., (1992). Immobilization and availability of N and P in the forest floors of fertilized Rocky Mountain coniferous forests. *Plant Soil* 143: 1-10.

Puget P., Drinkwater L.E. (2001). Short-Term Dynamics of Root and Shoot-Derived Carbon from a leguminous Green Manure. *Soil Science Society of America Journal* 65: 771-779.

Quemada M., Cabrera M.L. (1995). Carbon and nitrogen mineralized from leaves and stems of four cover crops. *Soil Science Society of American Journal* 59: 471-477.

Radajewski S., Ineson P., Parekh N.R., Murrell J.C. (2000). Stable isotope probing as a tool in microbial ecology. *Nature, London* 403: 646-649.

Read D.J. (1991). *Frontiers in mycology*. Hawksworth D.L. (ed.), CAB International, Wallingford, England, pp. 101-130.

Recous S., Robin D., Darwis D., Mary B. (1995). Soil inorganic N availability: effect on maize residue decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 27: 1529-1538.

Reinersten S.A., Elliott L.F., Cochran V.L., Campbell G.S. (1984). Role of available carbon and nitrogen in determining the rate of wheat straw decomposition. *Soil Biology and Biochemistry* 16: 459-464.

Rezende L.A., Assis L.C., Nahas E. (2004). Carbon, nitrogen and phosphorus mineralization in two soils amended with distillery yeast. *Bioresource Technology* 94: 159-167.

Riederer M., Matzke K., Ziegler F., Kögel-Knabner I. (1993). Inventories and decomposition of the lipid plant biopolymers cutin and suberin in temperate forest soils. *Organic Geochemistry* 20: 1063–1076.

Ronn R., Griffiths B.S., Ekelund F., Christensen S. (1996). Spatial distribution and successional pattern of microbial activity and micro-faunal populations on decomposing barley roots. *Journal of Applied Ecology* 33: 662-672.

Rosenbrock P., Buscot F., Munch J.C. (1995). Fungal succession and changes in the fungal degradation potential during early stages of litter decomposition in black alder forest (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.). *European Journal of Soil Biology* 31: 1-11.

Saggar S., Parshotam A., Hedley C., Salt G. (1999). ¹⁴C-labelled glucose turnover in New Zealand soils. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 2025-2037.

Saggar S., Yeates G.W., Shepherd T.G. (2001). Cultivation effects on soil biological properties, microfauna and organic matter dynamics in Eutric Gleysol and Gleyic Luvisol soils in New Zealand. *Soil and Tillage Research* 58: 55-68.

Sakala W.D., Cadisch G., Giller K.E. (2000). Interaction between residues of maize and pigeonpea and mineral N fertilizers during decomposition and N mineralization. *Soil Biology and Biochemistry* 32: 679-688.

Sall S.N., Masse D., Bernhard-Reversat F., Guissé A., Chotte J.L., (2003). Microbial activities during the early stage of laboratory decomposition of tropical leaf litters: the effect

of interactions between litter quality and exogenous inorganic nitrogen. *Biology and Fertility of Soils* 39: 103-111.

Samba A.N.S. (2001). Effet de la litière de *Cordyla pinnata* sur les cultures : approche expérimentale en agroforesterie. *Annals of forest Science* 58: 99–107.

Sanginga N., Lyasse O., Diels J., Merckx R. (2003). Balanced nutrient management systems for cropping systems in the tropics: from concept to practice. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 100: 99-102.

Sarathchandra S.U., Ghani A., Yeates G.W., Burch G., Cox N.R. (2001). Effect of nitrogen and phosphate fertilizers on microbial and nematode diversity in pasture soils. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 953-964.

Sarmiento L., Bottner P. (2002). Carbon and nitrogen dynamics in two soils with different fallow times in the high tropical Andes: indications for fertility restoration. *Applied Soil Ecology* 19, 79-89.

Sarniguet A., Lucas P., Lucas M. (1992). Relationships between take-all, soil conduciveness to the disease, population of fluorescent pseudomonads and nitrogen fertilizers. *Plant and Soil* 145: 17-27.

Schmidt S.K., Gier M.J. (1990). Coexisting bacterial populations responsible for multiphasic mineralization kinetics in soil. *Applied and Environmental Microbiology* 56: 2692-2697.

Sigler W.V., Turco R.F. (2002). The impact of chlorothalonil application on soil bacterial and fungal populations as assessed by denaturing gradient gel electrophoresis. *Applied Soil Ecology* 21: 107-118.

Sinsabaugh R.L., Antibus K., Linkins A.E., McClaugherty C.A., Rayburn L., Reperd D., Weiland T. (1993). Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. *Ecology* 74: 1586-1593.

Skujins J. (1976). Extracellular enzymes in soil. *Crit. Rev. Microbiol.* 4: 383-421

Söderström B., Baath E., Lundgren B. (1983). Decrease in soil microbial activity and biomasses owing to nitrogen amendments. *Can. J. Microbiol* 29: 1500-1506.

Somogyi M. (1945). Determination of blood sugar. *J. Biol. Biochem.* 160: 61-68

Spain A.V., Hodgen M.J. (1994). Changes in the composition of sugarcane harvest residues during decomposition as a surface mulch. *Biology and fertility of Soils* 17: 225-231.

Steppler H.A., Nair P.K.R. (1987). Agroforestry: A Decade of Development. ICRAF, Nairobi, Kenya.

Stevenson F.J. (1986). Cycles of Soil: Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrients. John Wiley, New York.

Swift M.J. (1976). Species diversity and the structure of microbial communities in terrestrial habitats. *In: The role of Terrestrial and Aquatic Organisms in Decomposition Processes.* Anderson J.M. and Macfadyen A. (eds.), Blackwell Scientific Publication, Oxford, pp. 185-222.

Swift M.J., Heal O.W., Anderson J.M. (1979). Decomposition in terrestrial ecosystems. *Studies in Ecology*, vol. 5. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 372 p.

Szott L.T., Palm C.A., Davey C.B. (1994). Biomass and litter accumulation under managed and natural tropical fallows. *For. Ecol. Manage.* 67: 177–190.

Tabatabai M.A., Bremner J.M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1: 301-307.

Tate R.L. (1987). Soil organic matter: Biological and ecological effects. Wiley, New York.

Tate R.L. (1995). Soil microbiology. John Wiley & Sons, New York.

Thalman A. (1968) Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). Landwirtsch Forsch 21: 249-258

Theron J., Cloete T.E. (2000). Molecular techniques for determining microbial diversity and community structure in natural environments. Critical Reviews in Microbiology 26: 37-57.

Thormann M.N., Currah R.S., Bayley S.E. (2003). Succession of microfungi in decomposing peatland plants. Plant and Soil 250: 323-333.

Thuriès L., Pansu M., Larré-Larrouy M-C., Feller C. (2002). Biochemical composition and mineralization kinetics of organic inputs in sandy soil. Soil Biology and Biochemistry 34: 239-250.

Tian G., Brussaard L., Kang B.T. (1995). Breakdown of plant residues with contrasting chemical compositions under humid tropical conditions: effects of earthworms and millipedes. Soil Biology and Biochemistry 27: 227-280.

Torsvik V., Sorheim R., Goksoyr J. (1996). Total bacterial diversity in soil and sediment communities: a review. J. Ind. Microbiol. 17 : 170-178.

Toutain F. (1987). Les litières: sièges de systèmes interactifs et moteurs de ces interactions. Revue d'Ecologie et de Biologie du sol 24 : 231-242.

Trinsoutrot I., Recous S., Mary B., Nicolardot B. (2000). C and N flux of decomposing ¹³C and ¹⁵N *Brassica napus* L.: effect of residue composition and N content. Soil Biology and Biochemistry 32: 1717-1730.

Tsai C.S., Killham K., Cresser M.S. (1997). Dynamic response of microbial biomass, respiration and ATP to glucose additions. Soil Biology and Biochemistry 29: 1249-1256.

Van Soest P.J. (1963). Use of detergent in the analysis of fibrous feeds. I. Preparation of fiber residues of low nitrogen content. Journal of the Association of Official Agricultural Chemists 46: 825-835.

Vanlauwe B., Nwoke O.C., Sanginga N., Merckx R. (1996). Impact of residues quality on the C and N mineralization of leaf and root residues of three agro-forestry species. *Plant and Soil* 183: 221-231.

Vigil M. F., Kissel D. E. (1991). Equations for estimating the amount of nitrogen mineralised from crop residues. *Soil Science Society of American Journal* 57: 66-72.

Winkler J.P., Cherry R.S., Schlesinger W.H. (1996). The Q₁₀ relationship of microbial respiration in a temperate forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* 29: 1067-1072.

Winogradsky S. (1949). *Microbiologie du sol, Problèmes et Méthodes*. Masson et Cie, Paris

Wu J., Brookes P.C., Jenkinson D.S. (1993). Formation and destruction of microbial biomass during decomposition of glucose and ryegrass in soil. *Soil Biology and Biochemistry* 25: 1435–1441.

Zeier J., Ruel K., Ryser U., Schreiber L. (1999). Chemical analysis and immunolocalisation of lignin and suberin in endodermal and hypodermal/rhizodermal cell walls of developing maize (*Zea mays* L.) primary roots *Planta*. 209: 1-12.

Zvyagintsev D.G. (1994). Vertical distribution of microbial communities in soils. In Ritz K., Dighton J., and Giller K.E. (Eds.), *Beyond the biomass*. pp. 29-37. Blackwell Scientific Publications, Oxford, United Kingdom.

Résumé

L'influence de la qualité de la litière et le rôle des micro-organismes ainsi que leur besoin en nutriment (N minéral) sur les processus de décomposition ont été étudiés dans un sol sableux tropical. Différentes approches expérimentales complémentaires ont montré que l'activité (flux de C et N, activités enzymatiques) et la biomasse microbienne dépendent de la qualité des substrats apportés et des interactions possibles entre les molécules. L'influence des caractéristiques initiales de la communauté microbienne a été étudiée selon une approche dans laquelle la diversité microbienne (structure et fonction) a été modifiée sous l'effet de pratiques culturales. La disponibilité en N minéral a un effet variable sur l'activité, l'abondance des micro-organismes selon la composition de la litière ajoutée et influence par ailleurs la diversité moléculaire (DGGE) des communautés fongiques. La quantification des processus en utilisant des résidus marqués ^{13}C et ^{15}N a montré que le « Priming Effect » est fonction de la qualité du résidu apporté.

Mots clés : Qualité substrat organique; Minéralisation C et N; Activités enzymatiques, Diversité de fonction et de structure; N minéral exogène; Résidus marqués $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$; Priming Effect.

Abstract

The relationship between organic residues and the microbial communities in a tropical sandy soil and its effects on CO_2 and mineral N respiration were studied, taking into account the effect of the composition of the residues as well as the genetic and catabolic diversity of the microbial communities involved in this process. The experiments were carried out in controlled laboratory conditions and showed that the biochemical composition of the residues determined the activity (C and N respiration, enzyme activities) and the microbial biomass. However, the formation of complexes between the nitrogen released during decomposition and other components of the organic residues (phenols) slowed the process. The fungal community was the most sensitive to the addition of litter at the same time as mineral nitrogen. The addition of litter stimulated the decomposition of the organic matter in the soil (priming effect) to a degree that varied depending on the composition of the residues. The effect of the catabolic diversity of the microbial community was particularly evident during the initial hours of decomposition.

Keywords: Organic residues, Biochemical quality, C and N mineralisation, Enzyme activities, Microbial diversity, Exogenous mineral N, $^{13}\text{C}^{15}\text{N}$, Priming effect.