

ACADÉMIE DE MONTPELLIER
UNIVERSITÉ DES SCIENCES
ET TECHNIQUES DU
LANGUEDOC

CENTRE NATIONAL DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE
CENTRE D'ETUDES
PHYTOSOCIOLOGIQUES ET
ECOLOGIQUES L.EMBERGER

DIPLOME D'ETUDES APPROFONDIES D'ÉCOLOGIE

**ETUDE DE LA BIOMASSE MICROBIENNE
DANS UN SOL SOUS GRAMINEES :
MISE AU POINT METHODOLOGIQUE .**

PAR

NATALIE GANDAIS

SOUTENU LE 5 OCTOBRE 1981 DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

JURY : MM. AMANIEU
GODRON
LOSSAINT
BILLES

ETUDE DE LA BIOMASSE MICROBIENNE
DANS UN SOL SOUS GRAMINEES
MISE AU POINT METHODOLOGIQUE

par

NATALIE GANDAIS

Travail effectué au Département d'Ecologie du Sol du C.E.P.E.
Directeur: P.LOSSAINT-Sous la direction scientifique de G.BILLES

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	5
CHAPITRE I - Influence des racines sur la détermination de la biomasse microbienne	9
INTRODUCTION.....	9
I PROTOCOLE EXPERIMENTAL	9
A Principe	9
B Fumigation.....	11
C Incubation.....	11
D Technique de dosage.....	12
1 CO ₂	12
2 Azote minéral échangeable	12
II RESULTATS.....	13
A Respiration.....	13
1 Expression des résultats.....	13
2 Respiration journalière.....	13
B Interprétation et discussion des résultats de respirométrie.....	15
1 Mesure de la biomasse microbienne.....	15
2 Action du chloroforme sur la biodégradation de racines fraîches dans un sol.....	16
3 Minéralisation simultanée de cadavres microbiens et de racines fumigées.....	18
C Azote minéral.....	20
1 Expression des résultats.....	20

2 NH ₄	20
3 NO ₃	23
4 Conclusion	24
CONCLUSION.....	25
CHAPITRE II - Origines du carbone minéralisé dans les sols fumigés	
avec racines.....	27
INTRODUCTION.....	27
I PROTOCOLE EXPERIMENTAL.....	27
A Principe	27
B Culture de marquage	27
1 Principe.....	27
2 Fonctionnement de la chambre de marquage.....	27
3 Résultats du marquage.....	29
C Respirométrie.....	30
1 Fonctionnement.....	30
2 Répétitions	32
3 Témoins	32
II RESPIROMETRIE PAR MESURE DU DEGAGEMENT DE CO ₂	33
A Résultats	33
1 Remarques préalables.....	33
2 Expression des résultats	33
3 Respiration horaire	33
B Interprétation et discussion	35
1 Biodégradation des racines	35
2 Influence des racines sur la biodégradation des composés carbonés non radioactifs.....	35
III RESULTATS DES MESURES DE CONSOMMATION D'OXYGENE. QUOTIENT	
RESPIRATOIRE.....	37
 A Quotient respiratoire et nature du substrat.....	39
 B Quotient respiratoire et activité microbienne.....	39
 C Discussion	39
CONCLUSION	40
CONCLUSION.....	41
BIBLIOGRAPHIE	43

- I N T R O D U C T I O N -

Le sol est un milieu vivant au sein duquel se déroulent des phases fondamentales du cycle biologique des éléments chimiques dont est constituée la matière organique.

Les tissus des végétaux et des animaux morts sont décomposés par la faune et surtout par la microflore du sol, qui les transforme :

- d'une part en éléments minéraux (CO_2 , NH_4 , NO_3 , Fe, S...) qui sont ainsi remis à la disposition des plantes pour de nouvelles synthèses.

- d'autre part en substances de réserve, les humus, qui sont liés à la fraction minérale du sol, et qui seront plus ou moins lentement minéralisés.

Les études de dynamique de minéralisation d'un substrat végétal dans le sol passent par l'établissement de bilans à l'intérieur des différents compartiments dans lesquels transitent ou se stockent les composés carbonés et azotés issus de ce substrat.

Ces compartiments peuvent être définis par l'extraction de leurs composés organiques dans différents solvants, selon la méthode décrite par PERSSON (1968). On parlera ainsi d'humus plus ou moins facilement extractible.

L'étude précise du compartiment "microflore du sol" ne peut être réalisée de cette façon : en effet, deux extractions (H_2SO_4 0,5N et 6 N à chaud) fournissent en bloc, selon JANSSON et PERSSON (1968), la microflore vivante, des produits de synthèses microbiennes, et des microorganismes morts.

Une technique récente, à l'origine une technique de mesure de la biomasse microbienne du sol (JENKINSON et POWLSON 1976 e), permet de mieux approcher le transit des composés organiques à travers la microflore :

Il s'agit d'une technique de stérilisation partielle. L'agent stérilisant est le chloroforme, qui n'agit pas sur la matière organique native du sol (selon JENKINSON 1966, POWLSON et JENKINSON 1976 b, ANDERSON et DOMSCH 1978). Après avoir exposé un échantillon de sol aux vapeurs de chloroforme, on le réensemence par une petite quantité de sol frais. Les microorganismes tués par le traitement constituent un apport de substrat, que ceux qui ont survécu au traitement ainsi que ceux provenant du réensemencement consomment : ceci se traduit par un important dégagement de CO_2 , que l'on mesure. Le surcroît de CO_2 dégagé pendant dix jours par l'échantillon fumigé (par rapport à un témoin) est proportionnel à la biomasse microbienne qui se trouvait dans le sol avant le traitement.

La fumigation au chloroforme provoque aussi une accumulation d' NH_4 : MNEIMNE (1981) émet l'hypothèse que ce NH_4 , comme le surcroît de CO_2 , provient de la minéralisation des cadavres microbiens. Pour appuyer cette hypothèse, on peut citer JENKINSON (1966) qui avait obtenu, après fumigation au chloroforme et incubation de sols calcaires, un rapport $\frac{\text{C} (\text{CO}_2) \text{ dégagé}}{\text{N minéralisé}}$ égal à 7,2, proche du C/N microbien (de l'ordre de 5-7).

Dans le cadre d'une étude sur la décomposition de matériel végétal marqué aux ^{14}C et ^{15}N , l'analyse isotopique du CO_2 et du NH_4 produits à la suite d'une fumigation, s'ils proviennent exclusivement de la minéralisation des cadavres microbiens, doit permettre de connaître la proportion de composés - provenant du matériel végétal fourni - qui se trouvait dans le compartiment "biomasse microbienne" du sol au moment de la fumigation.

Dans une prairie, la restitution de matériel végétal mort a lieu principalement dans le sol, sous forme de litières racinaires, et on doit tenir compte, pour étudier leur biodégradation, de la présence des racines vivantes. En effet, celles-ci exsudent des composés, principalement glucidiques, hautement énergétiques, qui diffusent dans une mince couche de sol adhérent aux racines, la rhizosphère, et qui permettent dans cette zone le développement d'une intense activité microbienne.

On regroupe sous le terme " d'effet rhizosphère " tous les phénomènes liés à la présence conjointe de la microflore et des exsudats racinaires, et de nombreux auteurs ont montré son importance concernant : la fixation asymbiotique de l'azote (BALANDREAU et HAMAD FARES - 1975), la nitrification et la dénitrification (WOLDENDORP 1975 - GARCIA 1975), la solubilisation d'éléments minéraux (TARDIEUX 1975), la détoxification des sols (ROVIRA et BOWEN 1966).

~~L'effet rhizosphère d'une culture de graminées sur la biodégradation~~
d'une litière racinaire dans un sol a été étudié par BILLES et BOTTNER (1981) qui ont observé, en fonction du stade phénologique des plantes, des variations de la minéralisation et de l'humification des composés de la litière. Ces variations ont été observées grâce à des extractions successives, selon la méthode de PERSSON déjà citée. Il sera nécessaire de s'intéresser par la suite au transit de ces composés azotés et carbonés à travers le compartiment biomasse microbienne du sol.

Pour les raisons précédemment exposées, il serait intéressant d'utiliser à cette fin la technique de JENKINSON. Mais cette technique s'applique sur des sols tamisés, donc débarassés de la plupart des racines qui s'y trouvent, notamment des racines vivantes et d'une partie de leur microflore rhizosphérique. Or, d'une part il est techniquement impossible d'extraire d'un sol la totalité de ses racines, et d'autre part il est également impossible de détacher des racines la totalité de leur microflore rhizosphérique. Si on veut utiliser cette technique pour étudier l'effet rhizosphère sur la biodégradation de matériel végétal, il est donc indispensable de pouvoir l'appliquer sur des sols non tamisés, contenant des racines et leur microflore rhizosphérique. Or, on peut imaginer que les vapeurs de chloroforme aient un effet sur les racines fraîches, par exemple elles pourraient attaquer les parois et membranes cellulaires, et ainsi faciliter la biodégradation des contenus cellulaires, ce qui se traduirait par un dégagement de CO₂ et fausserait la mesure de biomasse.

L'objet de ce travail est donc de tester cette méthode sur du sol auquel on incorpore des racines fraîches.

On comparera d'abord la minéralisation du carbone et de l'azote dans un sol auquel on mélange des racines fraîches et qu'on fumige, à ce qu'on observe dans le même sol fumigé mais sans racines. Les mesures seront faites tous les deux ou trois jours.

Puis on s'intéressera de plus près au CO₂ respiratoire, en utilisant des racines marquées au ¹⁴C et en faisant des mesures toutes les heures.

CHAPITRE I

INFLUENCE DES RACINES SUR LA DETERMINATION DE LA BIOMASSE MICROBIENNE

INTRODUCTION

On applique la technique de JENKINSON simultanément à un sol sans racines et à un sol identique auquel on incorpore des racines fraîches.

On suit la minéralisation du carbone par respirométrie cumulative, afin de comparer le surcroît de CO_2 obtenu dans les deux cas. Sachant que le surcroît de CO_2 dégagé du sol fumigé correspond à la minéralisation d'une proportion connue de la masse microbienne de ce sol, si le surcroît de CO_2 dégagé du sol fumigé avec racines est le même, on considèrera qu'il provient de la minéralisation des cadavres microbiens dans les mêmes proportions, et que la présence de racines fraîches dans le sol ne perturbe pas l'utilisation de cette technique.

On suit également la minéralisation de l'azote.

I PROTOCOLE EXPERIMENTAL.

- A - Principe -

Cinq types d'incubations ont été réalisées afin de tester l'effet de la fumigation au chloroforme sur la biodégradation de racines fraîches dans un sol.

- Deux incubations de sol sans racines

- Une incubation de sol témoin, n'ayant subi aucun traitement. (ST)
- Une incubation de sol fumigé. (SF)

Ces deux incubations permettront de connaître la biomasse microbienne du sol utilisé.

- Trois incubations de sol avec racines

- Une incubation de sol avec racines, l'ensemble n'ayant subi aucun traitement. (S+RNF).
- Une incubation de sol avec racines, les racines ont été mélangées au sol, puis le tout a été fumigé. (S+R)F
- Une incubation de sol non fumigé auquel ont été incorporées des racines fumigées (S+RF)

Cette dernière combinaison permettra éventuellement, dans le cas où la minéralisation du carbone et de l'azote de (S+R)F présenterait des points inexplicables, de savoir si ceux-ci sont ou non imputables à l'action du chloroforme sur les racines.

Dans le cas des sols incubés avec racines, on a réalisé un mélange contenant 3,3 g de racines fraîches pour 100 g de terre sèche, en essayant de se rapprocher des proportions obtenues dans des pots sous culture dense de graminées par BILLES (communication personnelle).

- B - Fumigation -

Le sol, avec ou sans racines, est disposé en minces couches dans des coupelles qu'on place dans un dessiccateur dont le fond est garni de papier filtre imbibé d'eau. Durant trente minutes, on applique le vide dans le dessiccateur. (Le papier filtre maintient suffisamment de vapeur d'eau dans le dessiccateur pour que le sol reste humide). On y introduit ensuite 100 ml de chloroforme purifié, sous forme vapeur. Après avoir rétabli la pression atmosphérique, on place le dessiccateur à l'obscurité, à 28°C.

Vingt quatre heures plus tard, on sort le sol, on rince le dessiccateur pour éliminer le chloroforme condensé sur les parois, on remet au fond du papier filtre mouillé et on replace le sol dedans. On élimine alors le chloroforme du sol en appliquant des vides successifs de dix minutes, ceci cinq fois.

Le même traitement, sans apport de chloroforme, est appliqué aux témoins.

Dans S+RNF, les racines ont été incorporées au sol à la sortie du dessiccateur : on a supposé que, dans les vapeurs de chloroforme, l'activité microbienne était stoppée, donc que la biodégradation des racines fumigées n'aurait pas lieu pendant la fumigation ; dans ces conditions il ne fallait pas que la biodégradation des racines non fumigées commence avant les mesures de respirométrie (auquel cas on n'aurait pas pu comparer la biodégradation des racines fumigées et des racines non fumigées).

Tous les échantillons de sol sont réensemencés par du sol frais dans les proportions 3 g pour 100 g.

- C - Incubation -

- Sol.

On utilise un sol rouge lessivé, décarbonaté, ceci pour éviter la fixation dans le sol du CO_2 respiré et les dégagements de CO_2 d'origine non biologique.

Le sol est humidifié à 80 % de son humidité équivalente (soit 10 ml d'eau pour 100 g de sol sec), ceci une semaine avant la fumigation, et placé en pré-incubation à 28°C.

- Racines.

Ce sont des racines de blé (variété Florence Aurore) cultivé sur gravier avec solution nutritive (RIVIERE 1960). Après extraction, elles ont été abondamment rincées à l'eau distillée, pour éliminer les restes de solution nutritive et une partie de la microflore rhizosphérique.

- Capture du CO_2 dégagé.

33 g de sol humide, fumigés ou non, mélangés ou non à 1 g de racines fraîches, sont placés dans un béccher, au fond d'un bocal étanche d'un litre.

20 ml d'eau dans le bocal maintiennent l'humidité de l'air et par conséquent celle du sol.

Le CO_2 respiratoire est absorbé dans 20 ml de soude N/4 contenue dans un flacon à col évasé, placé à côté du béccher de sol.

La soude est renouvelée et dosée tous les deux ou trois jours, les bocaux sont aérés à cette occasion.

Chaque combinaison (ST, SF, S+RNF, S+RF, (S+R)F) est répétée cinq fois.

- Dispositif permettant les extractions d'azote minéral.

Parallèlement, 700 g du même sol humide, contenant ou non la même proportions de racines, sont incubés dans des Erlenmeyer de trois litres, fermés avec du coton.

L'humidité du sol est maintenue pendant la durée de l'incubation.

On prélève tous les deux ou trois jours 50 g de sol pour extraire et doser l'azote minéral,

- Température.

Les bocaux et les Erlenmeyer sont placés dans une chambre d'incubation à 28°C.

- D - Techniques de dosage -

.1. CO₂.

Le CO₂ réagit avec la soude :



On fait précipiter le carbonate formé par Ba Cl₂ en excès :



La soude non carbonatée est transformée par Ba Cl₂ :



Ba (OH)₂ est dosé par HCl N/4 (titrisol)



La quantité de CO₂ dégagée dans chaque bocal est calculée par différence avec des témoins.

.2. Azote minéral échangeable.

- a - Extraction (RICHARDSON 1938).

On ajoute à 25g de sol humide 75 ml d'une solution de K₂ SO₄ (35 g/l). L'ensemble est agité pendant une heure puis centrifugé pour séparer le sol de l'extrait aqueux.

L'utilisation d'une solution saline est nécessaire pour extraire NH₄ lié au complexe absorbant du sol : les ions K⁺ déplacent les ions NH₄⁺ correspondant à l'ammonium échangeable du sol. Les nitrates hydrosolubles sont dissous par la solution saline.

- b - Dosage (BREMNER 1965).

. Distillation - 1^{er} temps -

50 ml du filtrat, auxquels on ajoute 20 ml d'eau distillée sont versés dans un ballon contenant quelques grammes de magnésie calcinée (Mg O) et portés à ébullition. En milieu basique, NH₄⁺ passe sous la forme NH₃ volatil et est entraîné par la vapeur d'eau.

Les vapeurs sont condensées et recueillies dans 10 ml d'acide borique qui stabilise l'ammoniac du fait de son pH acide.

. Distillation - 2^{ème} temps -

On ajoute dans le ballon quelques grammes d'alliage Devarda et 200 ml d'eau distillée. L'alliage, en milieu basique, produit de l'hydrogène naissant qui réduit les nitrites et les nitrates en ammonium. De l'ammoniac se forme à nouveau que l'on recueille comme précédemment.

. Titration -

Les dosages sont effectués au titrimètre.

L'acide borique n'intervient que dans la fixation des ions ammonium en solution aqueuse.

L'ammoniaque est dosé directement par H₂ SO₄ N/50 (titrisol)



. Répétitions -

Les deux premières extractions ont été effectuées en simple, les suivantes ont été doublées.

II RESULTATS

- A - Respiration -

.1. Expression des résultats.

Les quantités de CO₂ dégagées sont exprimées en mg de Carbone CO₂ pour 100 g de terre sèche (mg C (CO₂) / 100 g T.S.)

.2. Respiration journalière.

Tableau I

-CO₂- Dégagement quotidien -

	Nombre de jours d'incubation					
	1	3	6	8	10,5	13
ST	1	1,6	1,4	1,5	1	1,2
SF	6,2	4,1	2	2,1	1	1,2
S+RNF	1,4	4	3,4	3,9	1,9	2,2
S+RF	2,8	4,9	2,9	3,1	2,1	2,2
(S+R)F	10,8	4,8	4,1	3,7	2,1	2,2

Chaque résultat, exprimé en mg C (CO₂)/100g TS correspond à la moyenne de cinq mesures.

- Voir figures n° 1 et 2. Ces courbes donnent une idée de la dynamique de biodégradation des substrats.

. Sol témoin.

Le CO₂ dégagé provient de la minéralisation de la matière organique native du sol. L'augmentation qu'on note du 1^{er} au 3^{ème} jour correspond selon JENKINSON et POWLSON (1976.e) aux différents 'chocs' subis pendant la préparation des échantillons (agitation, vide, etc...).

CO₂
mg C (CO₂)/100g TS

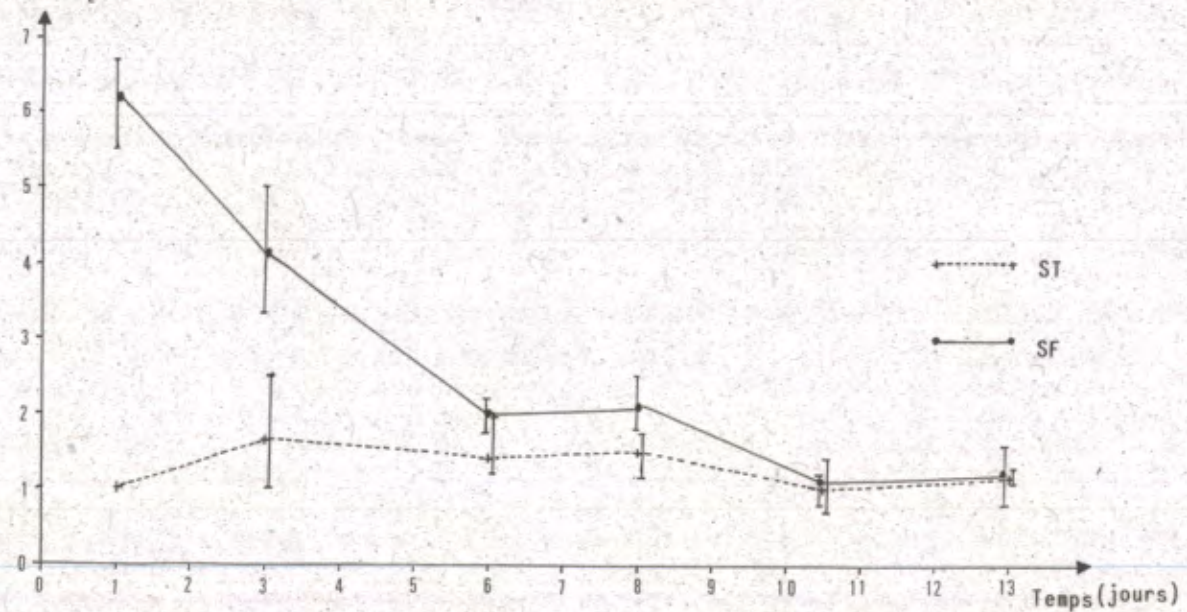


Figure n°1- Courbes d'intensité respiratoire - Sols sans racines -

CO₂
mg C CO₂ 100g TS

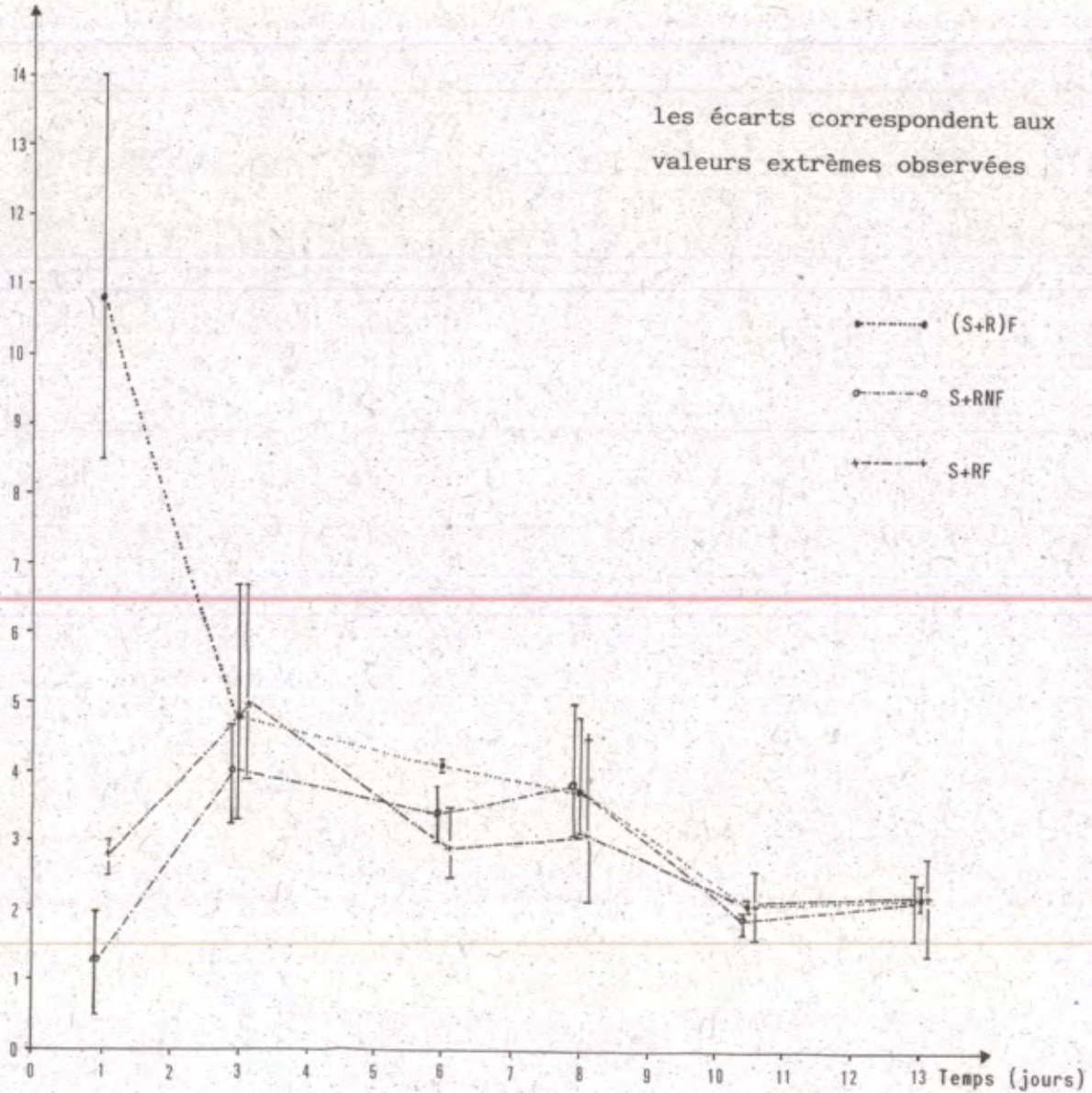


Figure n° 2 - Courbes d'intensité respiratoire - Sols avec racines

. Sol fumigé.

Le CO₂ provient de la minéralisation des cadavres microbiens et de la matière organique native du sol.

L'intensité respiratoire est maximum le 1^{er} jour.

Au bout de dix jours, la respiration des échantillons fumigés est identique à celle des témoins, ce qui correspond aux observations de JENKINSON (1966).

. Sol + Racines non fumigées.

Le CO₂ provient de la minéralisation des racines et de la matière organique native du sol.

L'intensité respiratoire est maximum du 3^{ème} au 8^{ème} jour.

. Sol + Racines fumigées.

Le CO₂ provient de la minéralisation des racines fumigées et de la matière organique native du sol.

Le pic respiratoire se situe le 3^{ème} jour.

Le 10^{ème} jour, l'intensité respiratoire de S+RF est la même que celle de S+RNF.

. (Sol + Racines) Fumigés.

Le CO₂ provient de la minéralisation des racines fumigées, des cadavres microbiens et de la matière organique native du sol.

Le pic respiratoire se situe le 1^{er} jour, comme dans le cas de SF.

Le 10^{ème} jour, l'intensité respiratoire de (S+R)F est identique à celles de S+RNF et S+RF.

- B - Interprétation et discussion des résultats de respirométrie -

. 1 . Mesure de la biomasse microbienne (BM).

Soient : B le poids du carbone de la biomasse microbienne du sol.

: F le poids de carbone dégagé sous forme de CO₂ par l'échantillon fumigé pendant dix jours d'incubation moins celui dégagé par l'échantillon témoin non fumigé pendant la même période.

: k la proportion du carbone de la biomasse microbienne minéralisé sous forme de CO₂ pendant l'incubation qui suit la fumigation.

$$B = \frac{F}{k} \quad (\text{JENKINSON } 1966)$$

Selon les auteurs, $k = 0,3$ (JENKINSON 1966)
 $0,5$ (JENKINSON 1976 d.)
 $0,411$ (ANDERSON et DOMSCH 1978)
 $0,45$ (JENKINSON et POWLSON 1980)

En ce qui nous concerne : (voir tableau II)

. Dans le sol sans racines.

$$BM = \left[(\text{CO}_2 \text{ dégagé en 10 jours par SF}) - (\text{CO}_2 \text{ dégagé en 10 jours par ST}) \right] \times \frac{100}{41,1} = 32,4 \text{ mg C/100g TS.}$$

. Dans le sol avec racines :

$$BM = \left[(\text{CO}_2 \text{ dégagé en 10 jours par (S+R)F}) - (\text{CO}_2 \text{ dégagé en 10 jours par S+RNF}) \right] \times \frac{100}{41,1} = 31,75 \text{ mg C./100g TS.}$$

La biomasse calculée dans le sol avec racines n'est pas significativement différente de celle qu'on a calculée dans le sol nu.*

Ce résultat semble indiquer que la présence de racines fraîches dans un sol ne perturbe pas les mesures de biomasse microbienne par la technique de JENKINSON.

Signalons que JENKINSON et POWLSON (1976 a), en ajoutant un substrat (raygrass ou glucose) à un échantillon de sol avant de le fumiger obtenaient un surcroît de CO_2 plus faible que dans un échantillon fumigé sans apport de substrat. Par contre, LYNCH et PANTING (1980) ont obtenu avec des racines un résultat comparable au nôtre.

.2. Action du chloroforme sur la biodégradation de racines fraîches dans un sol.

Considérons les quantités de CO_2 dégagées au cours des incubations de S+RNF et de S+RF.

Voir tableau II : Au bout de dix jours, il n'y a pas de différence significative entre la quantité de CO_2 dégagée par S+RF (33,05) et celle provenant de S+RNF (32,35).*

Voir figure n° 2 : jusqu'au 5^{ème} jour, l'intensité respiratoire de S+RF est supérieure à celle de S+RNF, puis on observe le phénomène inverse. Ceci indique que le substrat "racines fumigées" est, dans un premier temps, plus facilement biodégradable que les racines non fumigées.

* Ces valeurs ont été comparées par le test de Student.

Tableau II

- CO₂ - Dégagement total -

	Nombre de jours d'incubation.					
	1	3	6	8	10,5	13
ST	1	4,3	8,5	11,45	13,95	16,9
SF	6,2	14,45	20,45	24,6	27,25	30,65
S+RNF	1,4	9,4	19,7	27,6	32,35	37,85
S+RF	2,81	12,71	21,51	27,75	33,05	38,65
(S+R)F	10,8	20,35	32,6	40,1	45,4	50,9

Chaque résultat, exprimé en mg C (CO₂)/100 g TS correspond à la moyenne de cinq mesures.

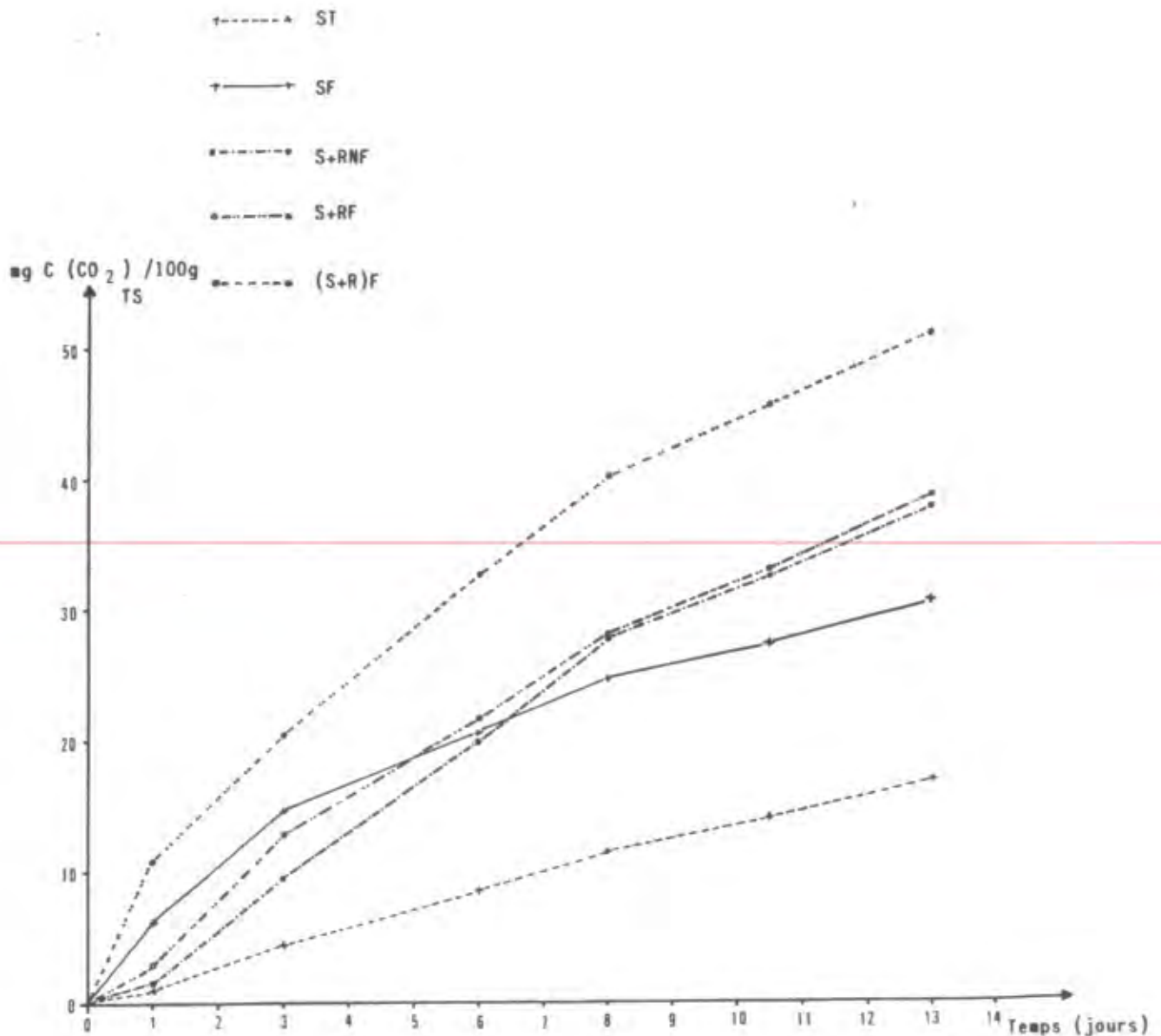


Figure n° 3 Respiration - Courbes cumulatives.

.3. Minéralisation simultanée de cadavres microbiens et de racines fumigées.

Après vingt quatre heures d'incubation, une forte quantité de CO_2 s'est dégagée de (S+R)F (voir figure n°2).

La figure n°4 représente un bilan de la respiration correspondant à chaque type d'incubation, au bout de vingt quatre heures d'incubation.

- Selon JENKINSON (1966) la quantité de CO_2 A = 5,2 correspond à la minéralisation des cadavres microbiens.

- Considérons que la quantité B = 1,8 correspond à la minéralisation des racines fumigées.

On constate qu'après vingt quatre heures d'incubation, la quantité de CO_2 dégagée de (S+R)F est supérieure d'une quantité C = 2,8 à celle qu'on pourrait calculer en faisant l'hypothèse que les substrats "cadavres microbiens" et "racines fumigées" sont biodégradés de la même façon, qu'ils soient fournis ensemble ou séparément.

On sait que l'apport d'un substrat facilement biodégradable stimule la croissance microbienne. Ceci peut-être suivi d'une minéralisation accrue de la matière organique native du sol : c'est ce qu'on désigne sous le terme de "priming effect", ou "priming action" (DOMMERGUES et MANGENOT 1970).

Ce phénomène peut se produire dans chacune des incubations où on a apporté un substrat : SF, S+RNF, S+RF. A plus forte raison il peut se produire là où on a apporté deux substrats : (S+R)F.

La quantité C (figure n°4) correspondrait alors à la minéralisation de la matière organique native du sol.

Mais il est également possible que la microflore, activée par deux substrats à la fois dans (S+R)F, minéralise l'un ou l'autre ou les deux plus rapidement, sans augmenter la minéralisation de la matière organique native du sol.

Enfin, cette activation peut stimuler la minéralisation des trois substrats : cadavres microbiens, racines fumigées et matière organique native du sol.

L'éventualité d'un priming effect sur la matière organique native du sol à la suite d'une fumigation (sans racines) a été envisagée : JENKINSON (1966), JENKINSON et POWLSON (1976 a - e) ont fourni des arguments montrant que la fumigation au chloroforme provoque principalement la minéralisation du carbone des microorganismes vivants (vivants avant la fumigation) ;

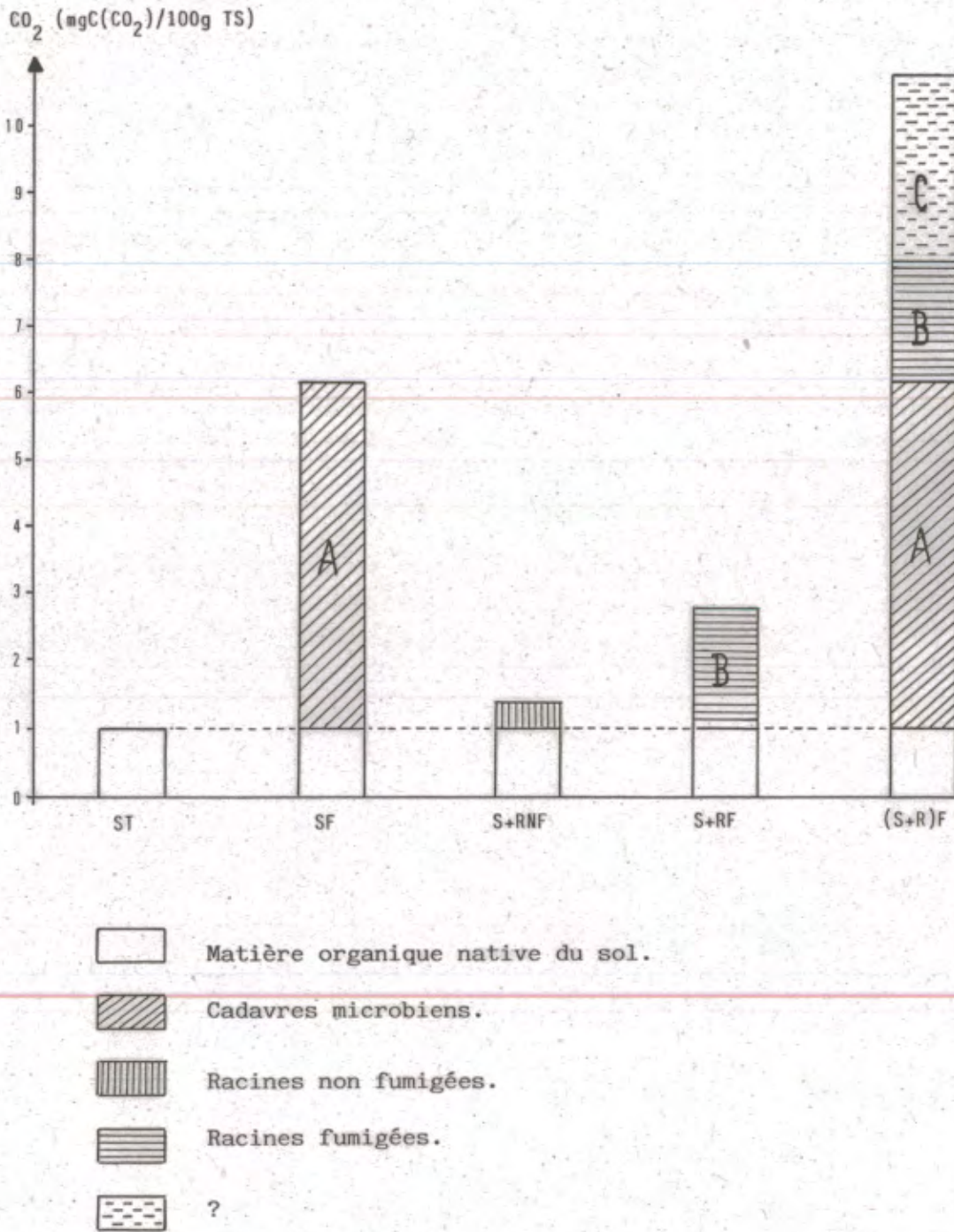


Figure n° 4 - Carbone minéralisé pendant le premier jour d'incubation.

SHIELDS et al. (1974) ont par contre apporté des arguments également convaincants, tendant à établir que le chloroforme provoquait aussi la minéralisation du carbone de résidus et de cadavres microbiens. Enfin, ANDERSON et DOMSCH (1978) ont montré que du matériel fongique mort, fumigé ou non, était minéralisé dans les mêmes proportions pendant dix jours d'incubation.

Dans le cas du sol fumigé avec racines, si la quantité C de la figure n° 4 correspond à un priming effect sur la matière organique native du sol, la même quantité de matière organique doit être minéralisée dans S+RNF par la suite, afin de rétablir l'égalité énoncée au paragraphe .1.

$$\begin{aligned} & [(\text{CO}_2 \text{ dégagé en 10 jours par SF}) - (\text{CO}_2 \text{ dégagé en 10 jours par ST})] \\ & = [(\text{CO}_2 \text{ dégagé en 10 jours par (S+R)F}) - (\text{CO}_2 \text{ dégagé en 10 jours par S+RNF})] \end{aligned}$$

- C - Azote minéral.

. 1 : Expression des résultats.

Les résultats sont exprimés en mg N/100 g T.S.

. 2 . NH₄

- a - Sols sans racines.

Voir figures N° 5 et 6.

On observe effectivement une accumulation d'NH₄ dans le sol fumigé. Immédiatement après le réensemencement, au temps zéro (t₀) de l'incubation, on extrait du sol fumigé 0,8 mg d'N(NH₄) de plus que du sol témoin.

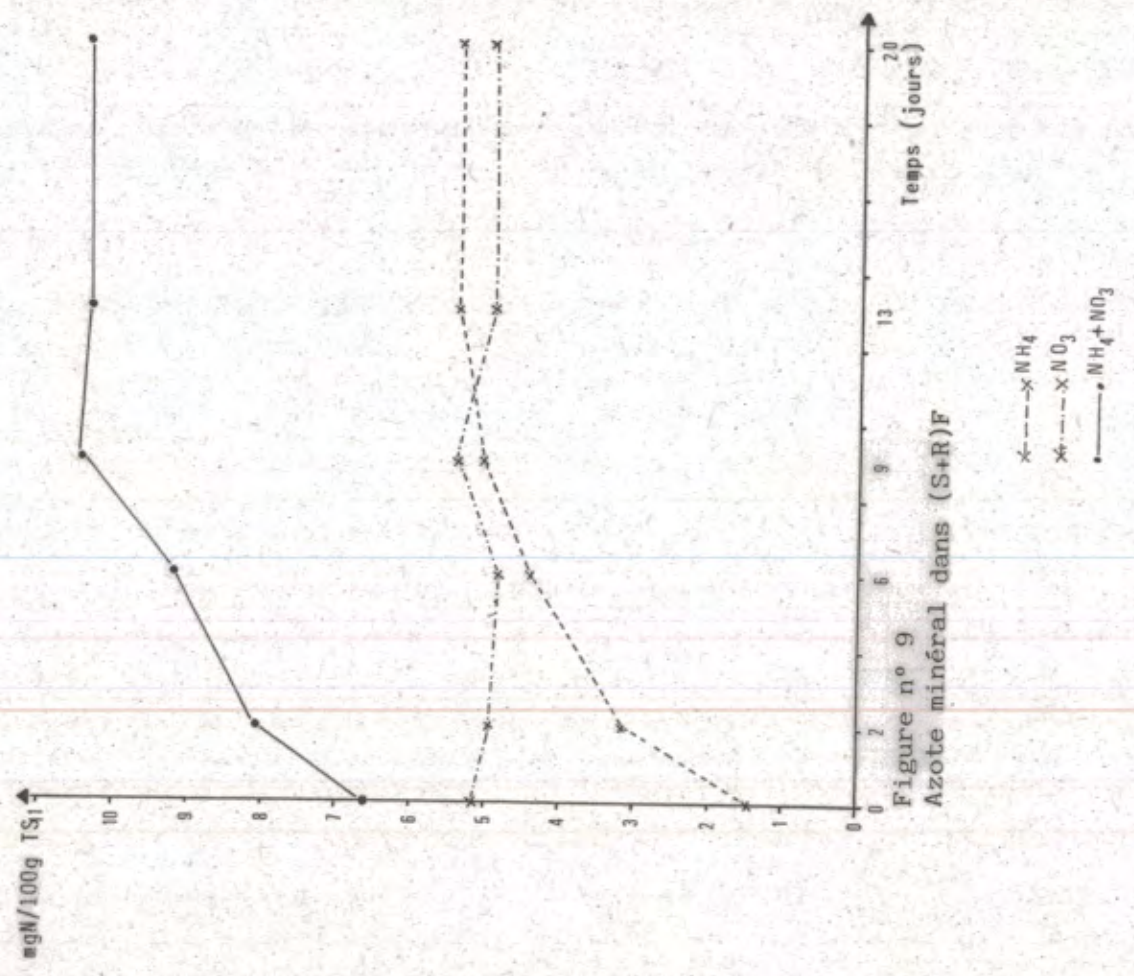
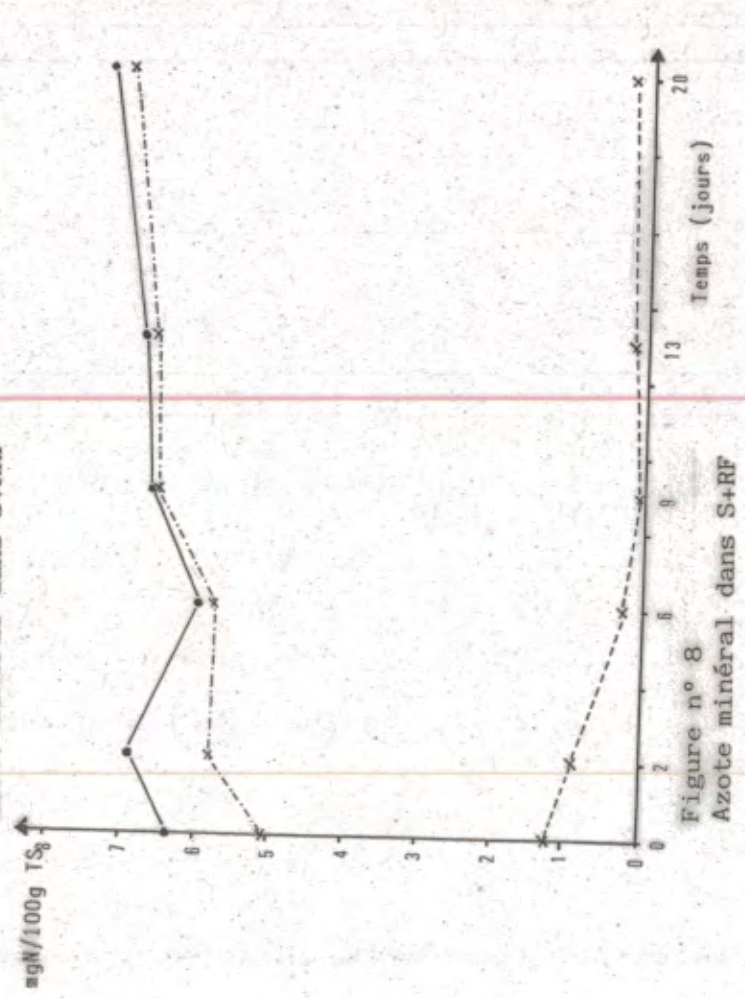
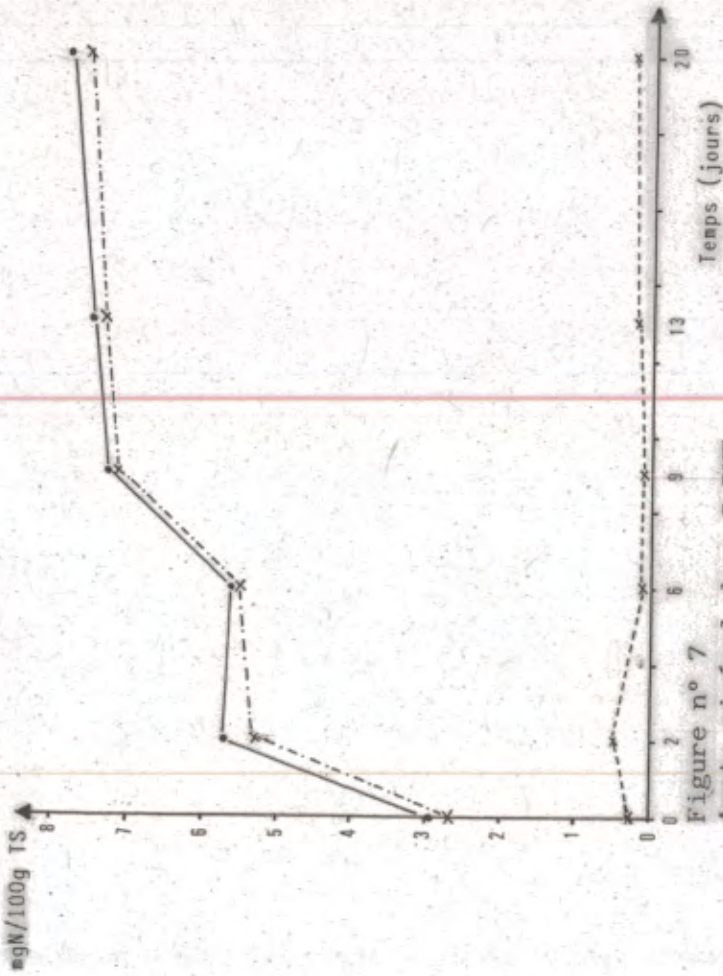
La fumigation provoque donc une libération immédiate d'NH₄ ; deux hypothèses se présentent quant à son origine :

- Minéralisation pendant la fumigation -

Cette hypothèse implique que l'activité microbienne n'est pas stoppée pendant la fumigation.

Cette minéralisation se ferait soit aux dépens de la matière organique du sol (les auteurs qui pratiquent la fumigation au chloroforme prétendent qu'elle n'a pas d'effet sur cette matière organique native, voir paragraphe II.B.3), soit aux dépens des cadavres microbiens.

- Action chimique du chloroforme qui permettrait la libération d'NH₄ par échange ionique ou par ouverture de liaisons entre NH₄ et la matière organique.



- b - Sols avec racines -

Voir figures n° 7, 8 et 9.

Immédiatement après la fumigation :

- Le taux d' NH_4 de (S+R)F est supérieur de 1,2 mg à celui de S+RNF.

Cet excès est plus important (0,4) que celui qu'on observe dans le sol fumigé sans racines.

- Le taux d' NH_4 de S+RF est supérieur de 1 mg à celui de S+RNF.

Ce NH_4 supplémentaire peut provenir des contenus cellulaires des racines dont les membranes seraient fragilisées par le chloroforme (se rappeler l'action du chloroforme sur la biodégradation des racines).

- c - Dynamique de production d' NH_4 .

Malgré la différence qu'on observe juste après la fumigation, la dynamique de production d' NH_4 dans les sols fumigés est exactement la même, avec ou sans racines. Ceci semble signifier qu'un même substrat (les cadavres microbiens) est minéralisé dans les deux cas.

.3. NO_3 .

- a - Sols sans racines -

Voir figures n° 5 et 6.

Dans le sol témoin, le taux de nitrates augmente régulièrement, de 2,7 à 4,2. C'est un phénomène normal, consécutif à l'activation du sol (aération, humidification).

Dans le sol fumigé, le taux de nitrates se maintient autour de 2,6 durant toute l'incubation. Ce phénomène est dû à la grande sensibilité des microorganismes nitrificateurs au chloroforme et s'observe par ailleurs à la suite de nombreux traitements pesticides (DOMMERMUES et MANGENOT 1970). Ce blocage de nitrification explique l'accumulation d' NH_4 dans les sols fumigés.

- b - Sols avec racines -

Voir figures n° 7,8 et 9.

Notons que dans (S+R)F, de même que dans SF, et pour la même raison, le taux de nitrates demeure constant pendant toute la durée de l'incubation.

Les sols contenant des racines fumigées (S+RF et (S+R)F) présentent dès le réensemencement une importante augmentation du taux de nitrates (respectivement : + 2,4 et + 2,5).

A t_0 , le taux de nitrates dans S+RNF est 2,7 (le même que dans ST). Ce taux augmente brutalement jusqu'à 5,3 après quarante huit heures d'incubation. (Alors qu'au même moment il est toujours à 2,7 dans ST).

Cette quantité de nitrates, qui apparaît à t_0 quand les racines sont fumigées et quarante huit heures plus tard quand elles ne le sont pas, provient probablement des réserves racinaires. (Rappelons que les racines ont poussé sur solution nutritive riche en azote).

L'apparition de ces nitrates, qui suit le début de la biodégradation des racines non fumigées, est accélérée par l'action du chloroforme dans le cas des racines fumigées.

- c - Remarque -

Au bout de neuf jours d'incubation, les sols non fumigés présentent des taux de nitrates supérieurs à ceux des fumigés, ce qui est normal puisque la nitrification est bloquée dans les sols fumigés. On constate que le supplément dans S+RNF (par rapport à (S+R)F) est moins grande que celui qu'on mesure dans ST (par rapport à SF) : ceci laisse penser que les phénomènes de réorganisation d'azote ont été plus intenses en présence de racines.

. 4 . Conclusion.

Le problème de libération d' NH_4 et NO_3 par les racines doit pouvoir être résolu en partie, en cultivant les racines dans du sol ou sur une solution nutritive moins riche en azote.

La dynamique de minéralisation d' NH_4 dans les sols fumigés, avec ou sans racines, semble montrer qu'un même substrat (les cadavres microbiens) est minéralisé dans les deux cas. Mais pour affirmer que ce NH_4 a exclusivement pour origine les cadavres microbiens dans les deux cas, il faudrait être sûr que la matière organique native du sol n'est pas minéralisée en excès durant l'incubation des sols fumigés.

CONCLUSION

Il semble que la présence de racines fraîches dans un sol ne modifie pas les résultats de mesure de biomasse microbienne par la technique de JENKINSON.

On a expliqué en introduction qu'on pourrait utiliser la composition isotopique du carbone et de l'azote minéralisés à partir des cadavres microbiens au cours de l'incubation pour étudier les flux des composés carbonés et azotés d'une litière végétale marquée à travers le compartiment "biomasse microbienne". Or on soupçonne, notamment en présence de racines, un priming effect sur la matière organique native du sol. Afin de comprendre d'où provient l'excès de CO_2 observé (quantité C, figure n°4) on se propose de réaliser le même type d'expérience, mais cette fois en incorporant au sol des racines fraîches, marquées au ^{14}C , et en mesurant le dégagement de CO_2 plus souvent.

CHAPITRE II
ORIGINES DU CARBONE MINERALISE
DANS LES SOLS FUMIGES AVEC RACINES

INTRODUCTION

On veut connaître l'origine du surplus de CO_2 qu'on mesure au début de l'incubation dans (S+R)F. On va réaliser le même type d'expérience qu'au chapitre I, mais on utilisera des racines fraîches marquées au ^{14}C et on mesurera la production de CO_2 toutes les heures. Parallèlement, on mesurera la consommation horaire d'oxygène.

I PROTOCOLE EXPERIMENTAL

- A - Principe -

. On a réalisé quatre types d'incubation :

- Sol témoin : ST
- Sol fumigé : SF
- Sol + Racines, le tout non fumigé : S+RNF
- Sol + Racines, le tout fumigé : (S+R)F.

. On a utilisé pour chaque incubation 1,5 kg (poids sec) de sol rouge lessivé (le même que précédemment) humidifié à 80 % de son humidité équivalente.

. On a utilisé des racines de blé (variété Florence Aurore) marquées au ^{14}C .

- B - Culture de marquage -

. 1 . Principe

Toute la culture, à partir de la germination, se déroule dans une enceinte (chambre de marquage) dont l'atmosphère est contrôlée et enrichie en $^{14}\text{CO}_2$.

Afin d'éviter les accumulations de nitrates dans les racines, le blé a été cultivé sur sol (vingt pots).

. 2 . Fonctionnement de la chambre de marquage

Voir figure n° 10.

- a - Production de CO_2 .

L'air introduit dans la chambre contient un mélange de $^{14}\text{CO}_2$ et

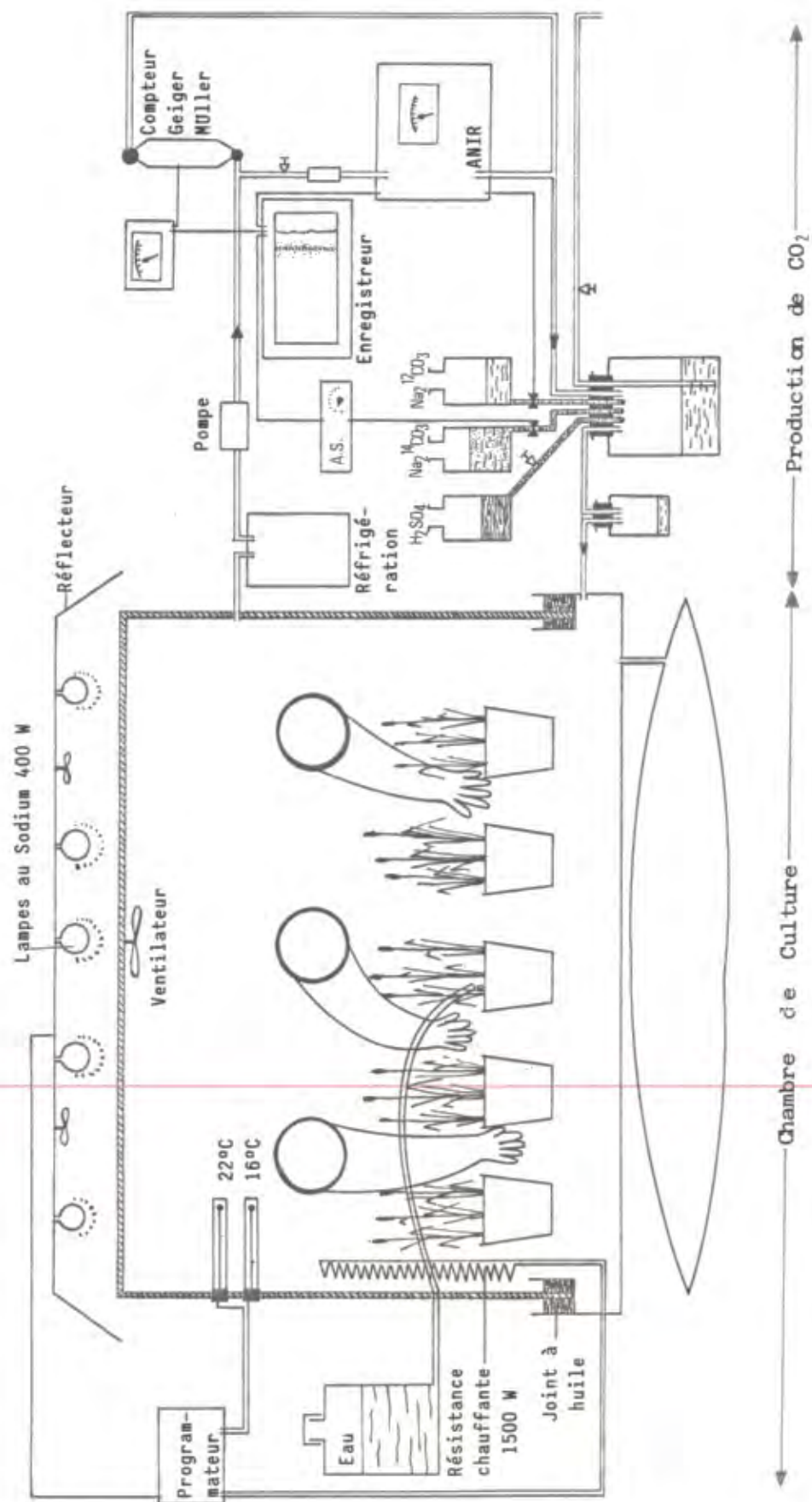


Figure n° 10 - Schéma général de la chambre de marquage.

de $^{12}\text{CO}_2$, d'activité spécifique (A.S.) constante (255 000 DPM/mg C(CO_2)).
DPM : Désintégrations par minute .

Le $^{12}\text{CO}_2$ est obtenu à partir d'une solution de $^{12}\text{CO}_3\text{Na}_2$.

Le $^{14}\text{CO}_2$ est obtenu à partir d'une solution de $^{14}\text{CO}_3\text{Na}_2$.

Les solutions de carbonates s'écoulent dans un ballon contenant H_2SO_4 6 N. Le CO_2 se dégage selon la réaction :



- b - Maintenance de la teneur en CO_2 et de l'activité spécifique

- Le CO_2 de la chambre est analysé en permanence par un analyseur infra rouge (ANIR) afin d'être maintenu à un taux de 0,05 % (plus élevé que le taux normal, afin de stimuler l'activité photosynthétique des plantes).

- La culture étant effectuée dans du sol, il existe à l'intérieur de la chambre un dégagement de CO_2 dû à l'activité de la microflore qui minéralise la matière organique non marquée du sol. Il ne suffit donc pas d'introduire dans la chambre du CO_2 dont l'activité spécifique est connue. La radioactivité est mesurée en permanence par un compteur Geiger - Müller.

Quand le CO_2 et/ou la radioactivité diminuent, un intégrateur électronique (HOCHANH THONG 1979) déclenche l'ouverture des électrovannes permettant l'approvisionnement du ballon d'acide en $^{12}\text{CO}_3\text{Na}_2$ et/ou en $^{14}\text{CO}_3\text{Na}_2$.

- c - Rythme nyctéméral

Jour : seize heures de lumière fournie par cinq lampes à vapeur de sodium de 400 w chacune, température : 22°C.

Nuit : huit heures d'obscurité, température : 16°C.

Arrosages quotidiens.

. 3 . Résultat du marquage

Un échantillon de racines a été prélevé pour analyse dans chacun des vingt pots.

L'analyse du carbone des racines a été effectuée par combustion sèche au Carmograph 12 A (BOTTNER et WAREMBOURG 1976). La radioactivité

a été mesurée par scintillation liquide au scintillateur Packard.
(Analyses effectuées en double).

L'activité spécifique moyenne des racines est 206 000 DPM/mg C
(écart type : 33 000) pour un pourcentage de carbone total égal à 40,4
+ 1 %.

Ces résultats sont tout à fait satisfaisants du point de vue
de l'homogénéité obtenue entre les différents pots.

, 4 . Extraction des racines.

Après l'épiaison, on prélève les racines à l'aide d'un extrac-
teur de racines à eau. Ensuite on les rince à l'eau distillée et on
les éponge soigneusement.

La quantité de racines obtenue après cette culture a permis
de les incorporer aux sols incubés à raison de 4,5 g (poids frais)
pour 100 g de sol sec.

- C - Respirométrie

Voir figure n° 11.

Chaque lot de sol, avec ou sans racines, fumigé ou non, est placé
dans une boîte en plexiglas hermétiquement fermée, d'un volume de cinq
litres, munie de deux tuyaux dont l'ouverture contrôlée par des électro-
vannes, permet la circulation des gaz. Ces boîtes sont placées dans une
armoire thermostatée à 28°C.

Un dispositif automatique a été installé, permettant d'analyser
chaque heure la teneur en O₂ et en CO₂ des boîtes.

, 1 . Fonctionnement

Considérons la boîte n° I : le programmeur déclenche l'ouver-
ture des électrovannes 1 et 1', le gaz circule en circuit fermé grâce
à la pompe n° 2, passe par l'analyseur de CO₂ à infra rouge (ANIR), puis
par l'analyseur d'O₂ paramagnétique (Oxygor). Les données fournies par
les analyseurs sont enregistrées.

Après l'analyse, qui dure cinq minutes, l'air contenu dans la
boîte est renouvelé pendant cinq minutes par un flux d'air dépourvu de
CO₂, grâce à la pompe n° 1.

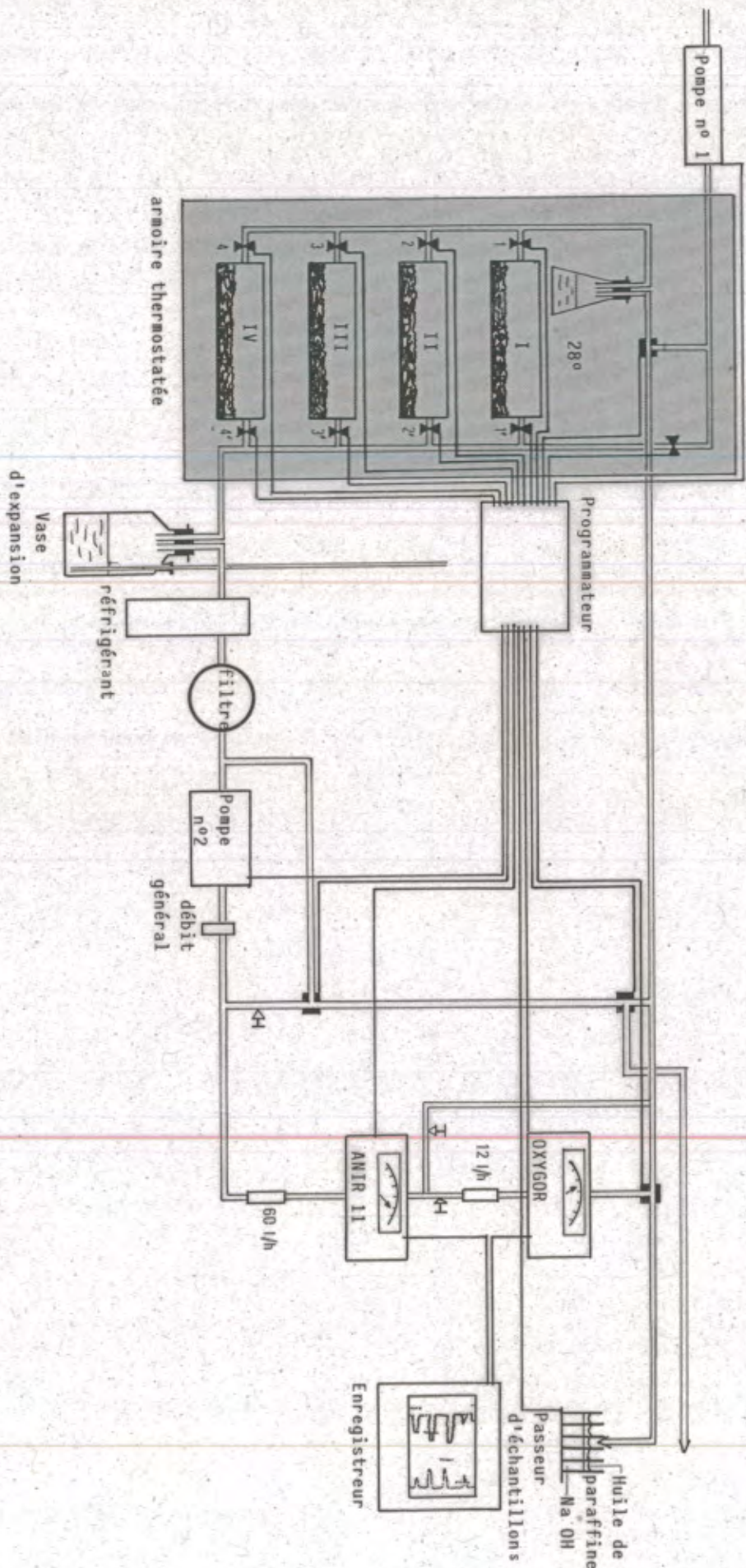


Figure n° 11 - Respirométrie - Schéma général.

Une partie de l'air chassé de la boîte barbote dans un tube contenant 8 ml de Na OH N/16. 2 ml de cette soude auxquels on ajoute 10 ml de liquide scintillant servent à compter la radioactivité par scintillation liquide, les 6 ml restants sont dosés H Cl N/32 pour connaître la quantité de CO₂ absorbé (voir Ch. I, ID1). Ces deux données servent à calculer l'activité spécifique du CO₂ que dégage le sol. (Pour éviter la carbonatation de la soude par le CO₂ de l'air de la pièce, on la recouvre d'1 ml d'huile de paraffine).

Après renouvellement et fermeture des orifices de la boîte, le circuit de tuyaux est purgé pendant cinq minutes, puis commence l'analyse de la boîte suivante.

. 2 . Répétitions

Le programmeur ne permettant pas l'analyse de plus de quatre boîtes, on n'a pas pu faire de répétitions. On a admis que le fait d'étudier la respiration de grosses quantités de sol permettrait de compenser les écarts qu'on observe toujours entre des petits échantillons.

On n'essayera d'ailleurs pas de comparer les résultats de respirométrie obtenus cette fois ci avec ceux obtenus au chapitre précédent : les conditions d'incubation sont trop différentes (1,5 kg au lieu de 30 g de sol, renouvellement de l'air chaque heure après accumulation de CO₂, au lieu de tous les deux ou trois jours sans accumulation). De plus, les mesures de CO₂ par infra rouge fournissent toujours des résultats plus forts que les mesures de CO₂ par absorption dans la soude. (SINGH et GUPTA 1977).

. 3 . Témoins

Lors de la première expérience, on avait observé un dégagement de CO₂ pendant la fumigation. On a donc pensé que l'activité microbienne existait malgré les vapeurs de chloroforme et que par conséquent, dans (S+R)F, la dégradation des racines pouvait commencer. C'est pourquoi, dans S+RNF, on a incorporé cette fois les racines au début de la pseudo-fumigation. On a pensé d'autre part que l'atmosphère dans le dessiccateur est confinée, et que la biodégradation des racines non fumigées serait faible, par manque d'oxygène.

II RESPIROMETRIE PAR MESURE DU DEGAGEMENT DE CO₂.

- A - Résultats

. 1 . Remarques préalables.

- Cette incubation, devait durer dix jours, (comme la première) ce qui aurait permis entre autre de confirmer les résultats déjà obtenus. Mais à la cinquante deuxième heure d'incubation, une panne a arrêté l'expérience.

- Aux alentours de la vingt sixième heure, on observe dans toutes les boîtes une augmentation de la respiration, qu'on a attribuée à une élévation anormale de la température dans la chambre d'incubation.

. 2 . Expression des résultats.

Les résultats de dégagement de CO₂ sont exprimés en mg C (CO₂)/ 100g TS.

^tCO₂ : CO₂ total.

¹⁴CO₂ : On considère que pendant ces deux jours d'incubation, le ¹⁴CO₂ provient exclusivement de la biodégradation des racines. Connaissant l'activité spécifique du ^tCO₂ dégagé et l'activité spécifique des racines, on peut calculer la quantité de CO₂ provenant de la dégradation des racines, qu'on note ¹⁴CO₂.

$$^{14}\text{CO}_2 = \frac{\text{DPM } ^t\text{CO}_2}{\text{A.S. Racines}}$$

¹²CO₂ : - dans le cas où il n'y a pas de racines, ¹²CO₂ = ^tCO₂.

- dans le cas où il y a des racines, ¹²CO₂ = ^tCO₂ - ¹⁴CO₂.

Le ¹²CO₂ provient de la biodégradation des substrats non marqués, c'est-à-dire la matière organique native du sol et les cadavres microbiens.

. 3 . Respiration horaire.

- a - Sols sans racines -

Voir figure n° 12.

. Le sol témoin présente un pic de dégagement de ¹CO₂ autour de la 15^{ème} heure, qui traduit la réaction du sol au vide auquel il a été soumis. Puis la respiration retombe à son taux de départ (0,28).

. Le sol fumigé présente en maximum de dégagement de ¹CO₂ entre la 13^{ème} et la 16^{ème} heure, qui correspond au maximum de biodégradation des cadavres microbiens.

- b - Sol avec racines -

Voir figures n° 12, 13 et 14.

. Sol + Racines non fumigées

Le dégagement de ^tCO₂ présente un plateau pendant toute la durée de l'incubation, qui se décompose comme suit :

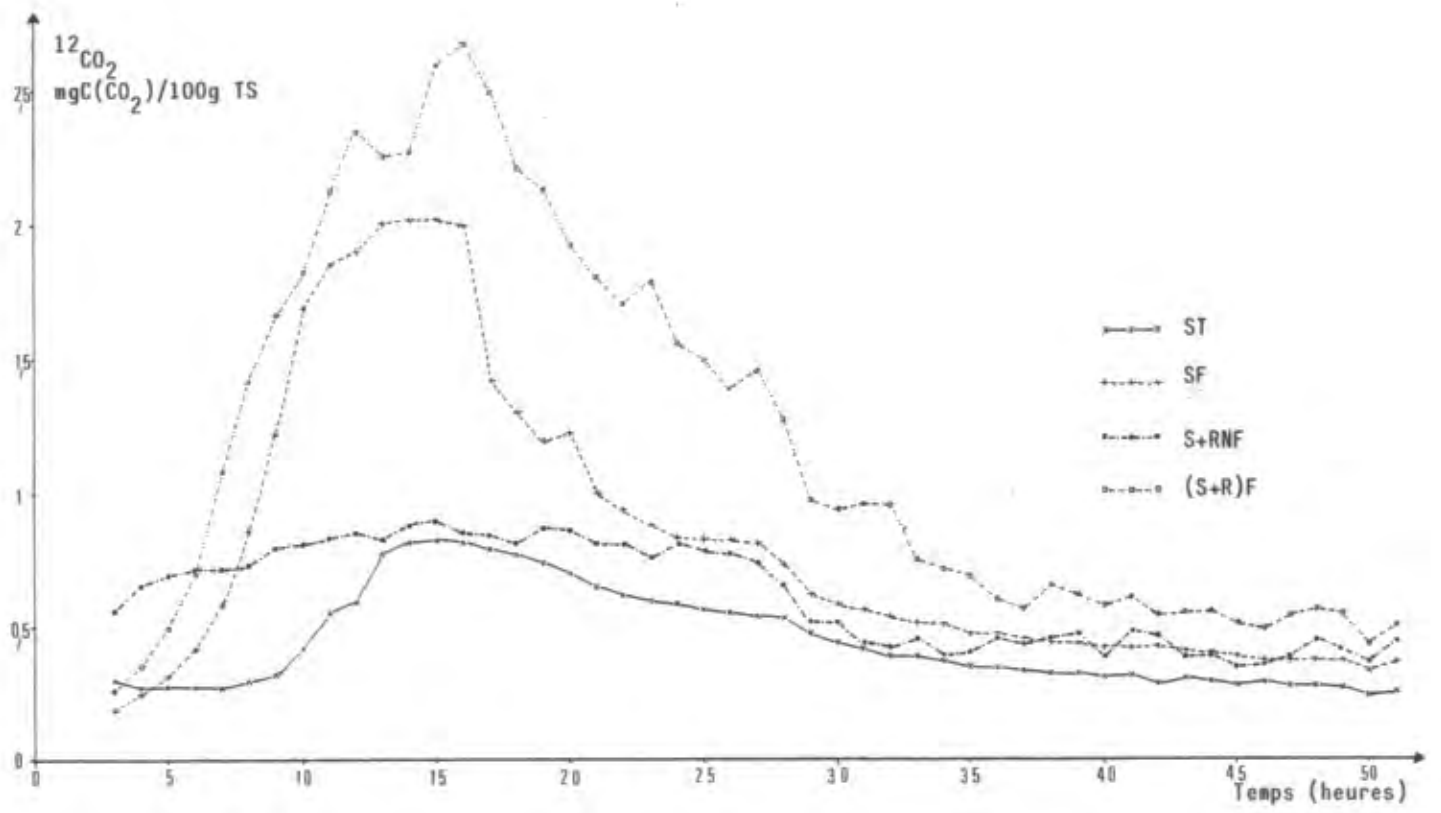


Figure n° 13 - Dégagement de $^{12}\text{CO}_2$.

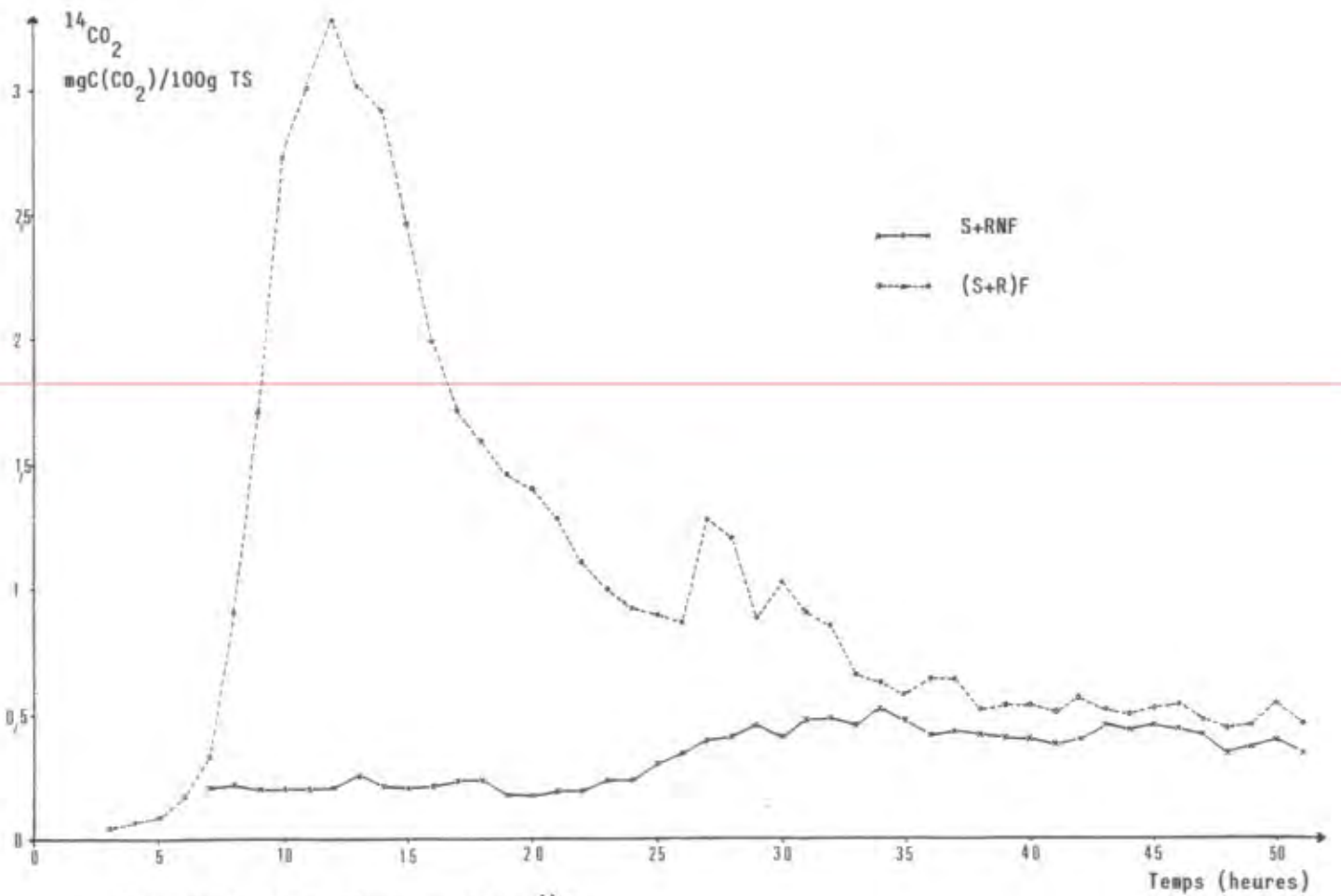


Figure n° 14 - Dégagement de $^{14}\text{CO}_2$.

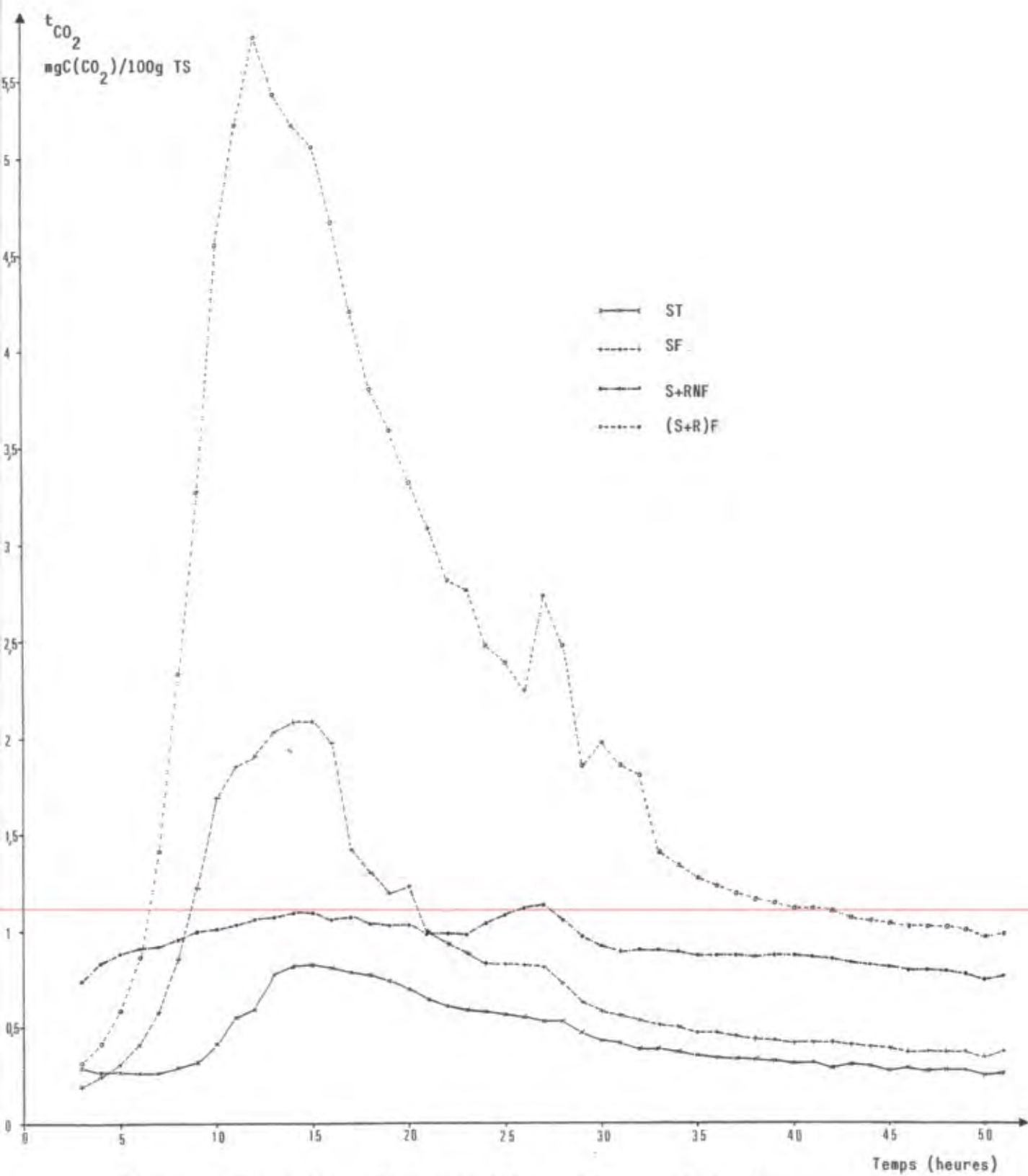


Figure n° 12 - Intensité respiratoire - Dégagement de ¹⁴C₂.

-¹²CO₂ : dégagement maximal, sous forme de plateau, de la 9^{ème} à la 26^{ème} heure.

-¹⁴CO₂ : un premier plateau jusqu'à la 24^{ème} heure, autour de 0,2 mg C/h, puis une augmentation et un deuxième plateau autour de 0,4 mg C/h à partir de la 27^{ème} heure.

. (Sol + Racines) fumigés.

On observe une augmentation très rapide du dégagement de ¹²CO₂, un pic à la 12^{ème} heure, puis une décroissance d'abord lente, (12^{ème} 15^{ème} heure), puis rapide, puis plus lente.

- ¹²CO₂ : un pic à la 16^{ème} heure correspond au maximum de biodégradation des cadavres microbiens.

-¹⁴CO₂ : jusqu'au pic de la 12^{ème} heure on observe une augmentation très rapide du dégagement de ¹⁴CO₂, puis une diminution rapide, puis lente.

La première phase (lente) de décroissance du ¹²CO₂ s'explique par les deux phénomènes opposés que constituent la diminution du dégagement de ¹⁴CO₂ et l'augmentation du dégagement de ¹²CO₂.

- B - Interprétation et discussion des résultats.

. 1 . Biodégradation des racines.

Voir figure n° 14.

- En ce qui concerne les racines non fumigées il est très probable qu'on n'a pas observé le dégagement maximum de ¹⁴CO₂, en effet, au cours de la première incubation avec des racines non marquées, le dégagement maximum de CO₂ se situait entre le 3^{ème} et le 8^{ème} jour.

- L'effet du chloroforme sur la biodégradabilité des racines est très net, puisque dans (S+R)F, le dégagement de ¹⁴CO₂ est le plus intense au cours des premières vingt quatre heures.

. 2 . Influence des racines sur la minéralisation des composés carbonés non radioactifs. Voir figures n° 13 et 14.

- a - Sols non fumigés.

Les quantités de ¹²CO₂ dégagées par S+RNF sont toujours supérieures à celles issues de ST, ce qui indique que la matière organique native du sol est consommée en plus grande quantité en présence du substrat "racines fraîches". Si on observe la courbe de dégagement de ¹⁴CO₂ de S+RNF, on voit que la biodégradation des racines n'augmente qu'après la diminution de la production ¹²CO₂ par S+RNF. Dans ces conditions, il est difficile d'admettre que le surcroît de CO₂ qu'on observe dans S+RNF par rapport à ST, et qui après cinquante heures est égal à 8,1 mg C/100 g TS (voir figure n° 15), correspond à un priming effect dû à l'activation de la microflore par le substrat "racines fraîches". Il est

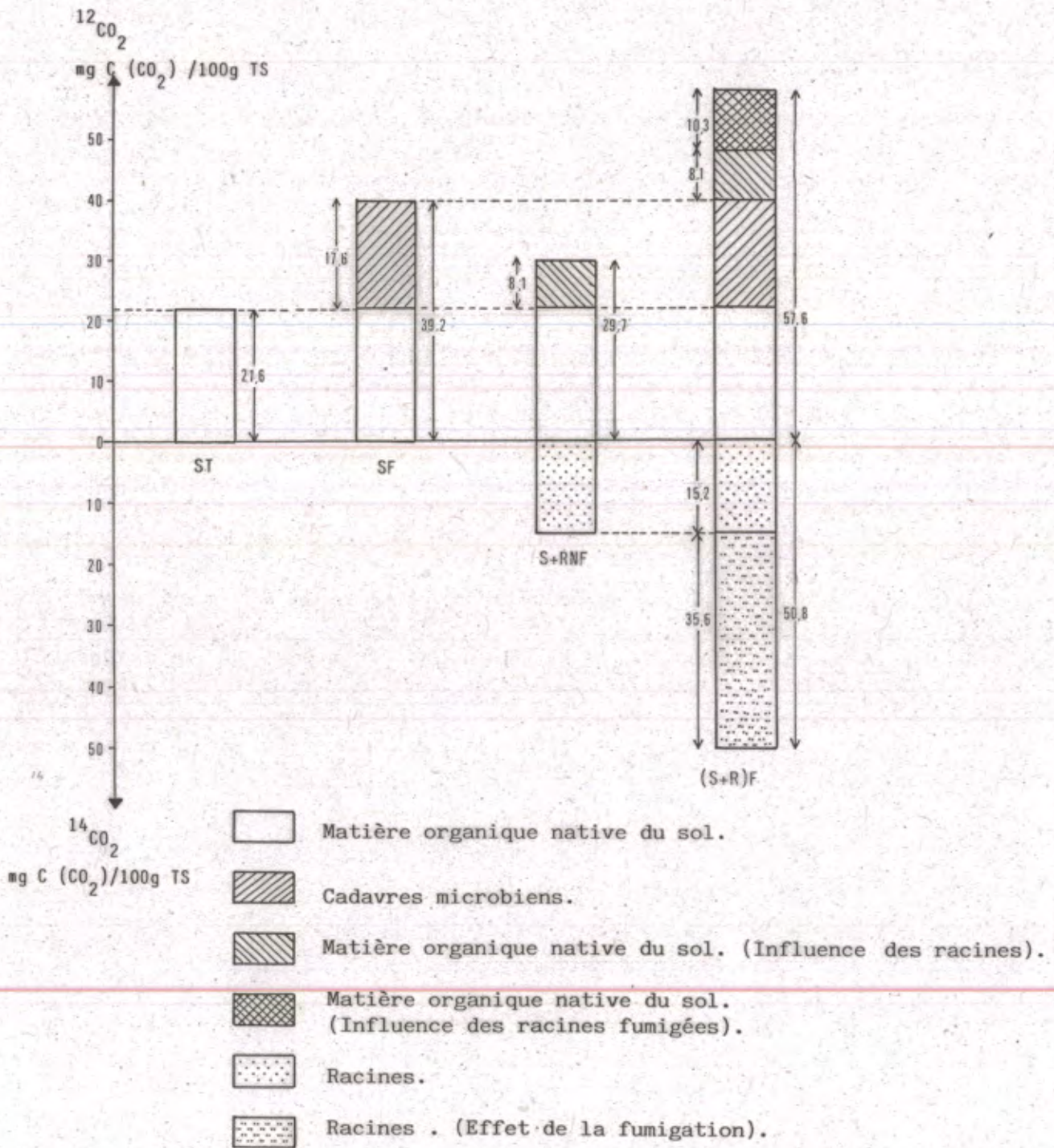


Figure n° 15 - Origine du C₂ minéralisé dans chaque boîte après 50 heures d'incubation.

plus probable que la microflore ait été activée par un peu d'eau subsistant sur les racines une fois que celles-ci ont été rincées et épongées, et par l'agitation importante subie par le sol lors de l'incorporation des racines.

- b - Sols fumigés.

Dans ce cas également les quantités de $^{12}\text{CO}_2$ dégagées par (S+R)F sont toujours supérieures à celles provenant de SF, mais la plus grande partie de ce surplus se dégage de la 16^{ème} à la 36^{ème} heure, c'est à dire après le maximum de dégradation des cadavres microbiens (16^{ème} heure) et des racines fumigées (12^{ème} heure).

D'autre part, ce surplus est supérieur de 10,3 mg C/100 g TS à celui qu'on observe dans S+RNF (voir figure n° 15) : dans ce cas, on peut affirmer qu'il s'agit d'un priming effect sur la matière organique native du sol, consécutif aux apports des substrats "cadavres microbiens" et "racines fumigées".

On observe par ailleurs (voir figure n° 13) que la biodégradation des racines fumigées active celle des cadavres microbiens, en effet, la partie ascendante de la courbe de dégagement de $^{12}\text{CO}_2$ par (S+R)F se situe environ deux heures avant celle de SF.

III RESULTAT DES MESURES DE CONSOMMATION D'OXYGENE - QUOTIENT RESPIRATOIRE -(QR).

Les résultats de mesures de consommation d'oxygène sont exprimés en mg O_2 consommé/100 g TS.

Si on compare les courbes respirométriques établies soit par le dégagement de CO_2 (voir figure n° 12), soit par la consommation d' O_2 (voir figure n° 16), on constate une grande similitude. D'ailleurs, nombreux sont les auteurs qui mesurent la consommation d' O_2 pour étudier la respiration des sols.

Néanmoins, si on calcule les quotients respiratoires

$$\frac{\text{nombre de moles de } \text{CO}_2 \text{ dégagées}}{\text{nombre de moles d' } \text{O}_2 \text{ consommées}}$$

on constate (voir figures n° 17 et 18) que la quantité de CO_2 dégagé ne correspond pas toujours à la quantité d' O_2 consommé.

En physiologie animale, le QR est classiquement employé pour connaître la nature des aliments métabolisés (lipides, glucides, protides). Il est toujours inférieur ou égal à 1.

En microbiologie et écologie du sol, ce rapport a été très peu étudié dans ce but. Les travaux utilisant le QR traitent plutôt de l'aération des sols, un QR supérieur à 1 étant fréquemment observé dans les sols engorgés, où se

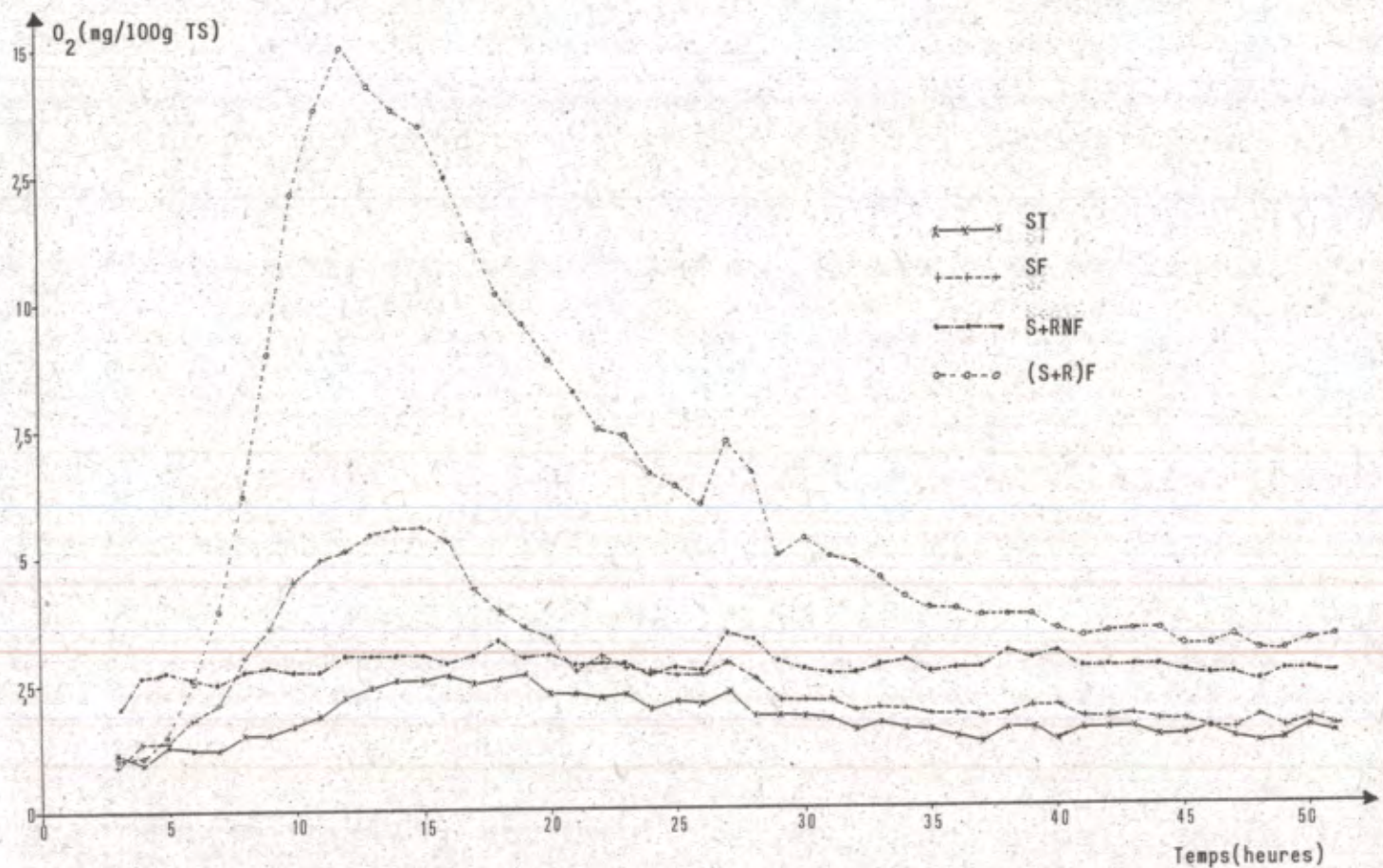


Figure n° 16 - Consommation d'oxygène.

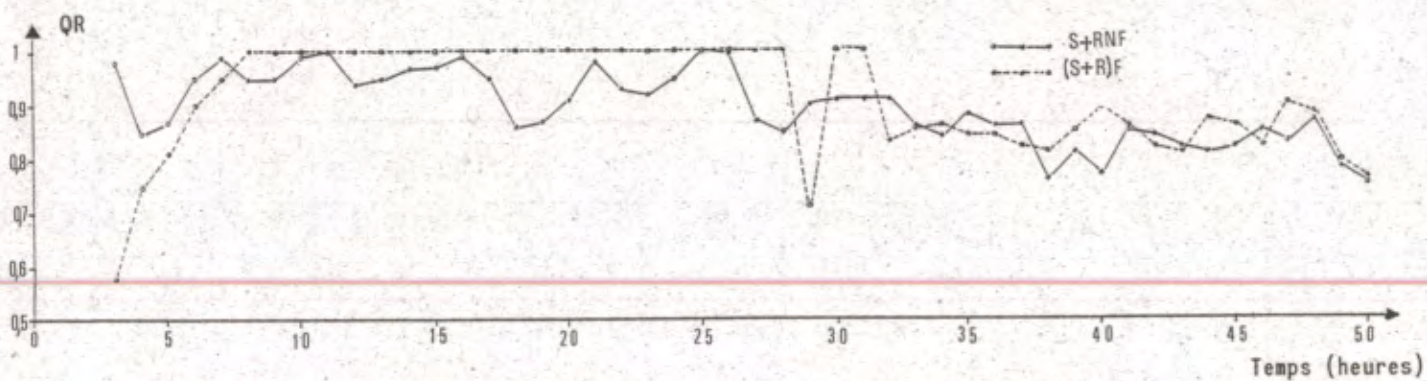


Figure n° 17 - Quotient respiratoire - (Sols avec racines).

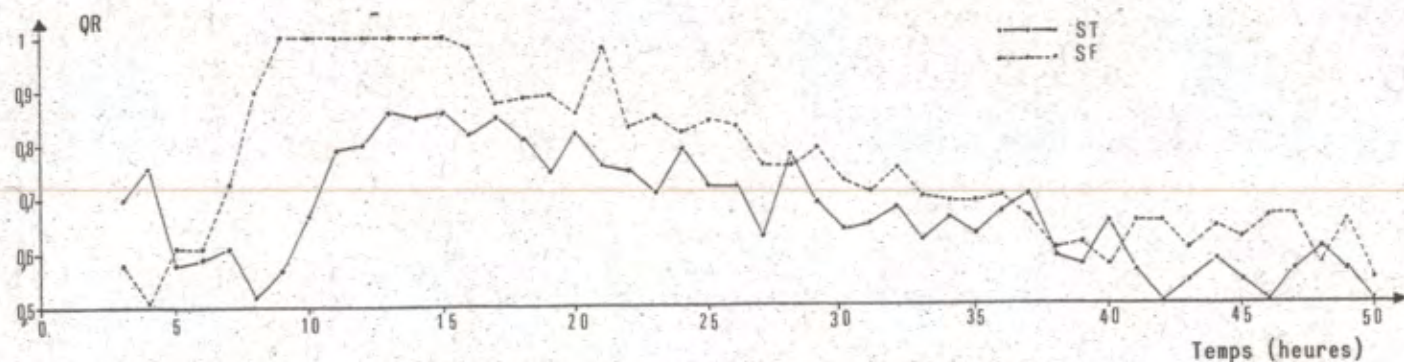


Figure n° 18 - Quotient respiratoire - (Sols sans racines).

développe une importante microflore anaérobie (RIXON et BRIDGE 1968, BRIDGE et RIXON 1976).

Les mesures que nous avons effectuées montrent des variations de QR qui semblent liées d'une part à la nature du substrat consommé et d'autre part aux différentes phases de dégradation du substrat.

- A - Quotient respiratoire et nature du substrat

Voir figures n° 12, 17 et 18.

On constate qu'en phase d'activité non maximale, en présence de racines (à partir de la 32^{ème} heure pour S+RNF et (S+R)F), le QR oscille entre 0,8 et 0,9, alors que dans les sols sans racines, pendant la même période qui correspond aussi à une activité équilibrée, il s'établit entre 0,5 et 0,7.

- B - Quotient respiratoire et activité microbienne.

Tableau III		
Correspondance entre intensité respiratoire maximale et QR égal à 1.		
type d'incubation	intensité respiratoire maximale	QR = 1
SF	de la 13 ^{ème} à la 16 ^{ème} heure	de la 10 ^{ème} à la 17 ^{ème} heure
(S+R)F	12 ^{ème} heure	de la 9 ^{ème} à la 30 ^{ème} heure

Dans le cas des sols fumigés, où on a observé des pics d'intensité respiratoire élevés, (voir figures n° 12 et 16), le QR atteint la valeur 1 dans la période entourant le pic.

- C - Discussion

Ces résultats indiquent notamment que dans le cadre d'études sur la décomposition de la matière organique, les mesures de respirométrie par consommation d'O₂ risquent de surestimer la quantité de produits décomposés, par rapport aux mesures de dégagement de CO₂ (puisque le QR est fréquemment inférieur à 1).

Il n'est pas possible d'utiliser ce rapport pour distinguer les origines du carbone minéralisé dans les sols fumigés.

CONCLUSION

Cette expérience avait pour but de connaître l'origine de la grande quantité de CO_2 minéralisée le premier jour dans (S+R)F.

On a montré qu'en plus de la biodégradation des cadavres microbiens et des racines fumigées, il y avait une minéralisation accrue de la matière organique native du sol, due à l'activation de la microflore par les substrats qui lui ont été fournis, et qu'on désigne sous le terme de priming effect.

Par contre, du fait de l'interruption prématurée de l'incubation, on ne sait pas à quel moment ce priming effect est compensé dans S+RNF pour aboutir à l'égalité établie au chapitre I.

- C O N C L U S I O N -

L'objet de ce travail était d'une part de savoir si on peut pratiquer des mesures de biomasse microbienne par la technique de JENKINSON sans extraire du sol les racines fraîches qu'il contient, et d'autre part de connaître l'origine du carbone et de l'azote minéralisés en grandes quantités dans les sols fumigés, avec ou sans racines fraîches.

Pour ce qui est de la première question, on a établi que, dans le sol rouge lessivé qu'on a utilisé, la présence de racines fraîches de blé n'avait pas d'influence sur le résultat des mesures de biomasse microbienne, et ceci bien que le chloroforme provoque indéniablement une biodégradation accélérée de ces racines. (On a supposé que cet effet était dû à une fragilisation des membranes cellulaires des racines, hypothèse qui s'appuie en particulier sur le fait que les racines fumigées avaient, dès la première extraction d'azote minéral, libéré une grande quantité de nitrates dans le sol).

Quant à la deuxième question, on y a répondu partiellement.

Il semble, d'après l'allure des courbes de minéralisation d'azote, que l' NH_4 minéralisé au cours de l'incubation des sols fumigés provienne de la minéralisation des cadavres microbiens. Mais on ne sait pas si les petites quantités d' NH_4 qui apparaissent en surcroît immédiatement après la fumigation sont dues à un effet chimique du chloroforme ou à une activité microbienne pendant la fumigation.

Au cours de ce travail, il était plus commode d'aborder les questions de minéralisation de la matière organique native du sol par le biais de la minéralisation de son carbone, puisqu'on pouvait discerner dans le CO_2 total, grâce à l'utilisation du ^{14}C , le CO_2 provenant de la décomposition des racines. Mais il est possible d'établir un lien entre la minéralisation du carbone de la matière organique et celle de l'azote.

On a mis en évidence un priming effect sur la matière organique native quand on fumige un sol contenant des racines fraîches (on suppose que cet effet a également lieu quand le sol avec racines n'est pas fumigé - puisqu'au bout

de dix jours on mesure la même biomasse microbienne en présence ou en absence de racines - mais on ne l'a pas prouvé). Etant donné qu'en présence de racines, on observe dans le sol fumigé une plus forte minéralisation du carbone de la matière organique native, il est probable qu'une partie du NH_4 qui apparaît dans le sol, qu'on a attribué à la minéralisation des cadavres microbiens, a été minéralisé en surplus à partir de la matière organique native du sol. Ce phénomène n'apparaît pas lors des extractions d'azote minéral, mais rappelons qu'on a mis en évidence une réorganisation des nitrates en présence de racines (dans S+RNF, par rapport à ST). Il est donc possible que NH_4 soit plus fortement réorganisé dans les sols fumigés en présence de racines.

On a dit (voir introduction) pourquoi on s'intéresse à l'origine du NH_4 minéralisé dans les sols fumigés, dans le cas d'incubations avec des litières racinaires marquées à l' ^{15}N . Je pense qu'avec deux extractions d'azote minéral, l'une immédiatement après la fumigation, et l'autre vers la 15^{ème} heure d'incubation, c'est à dire avant l'intensité maximale de minéralisation, donc avant que le priming effect apparaisse, on devrait pouvoir estimer le rapport isotopique de l'azote dans la microflore, mais ceci reste à démontrer.

- B I B L I O G R A P H I E -

- ANDERSON J.P.E. & DOMSCH J.H., 1978.- Mineralisation of bacteria&fungi in CH Cl₃ fumigated soils. *Soil Biol. Biochem.* 10, 207-213.
- BALANDREAU J. & HAMAD-FARES I., 1975.- Importance de la fixation d'azote dans la rhizosphère de riz.- *Soc. Bot. Fr. Coll. Rhizosphère*, 122, 109-119.
- BILLES G. & BOTTLNER P.- Effet des racines vivantes sur la décomposition d'une litière racinaire marquée au ¹⁴C- *Pl. Soil*, (à paraître).
- BOTTLNER P. & WAREMBOURG F.R., 1976.- Method for simultaneous measurement of total and radioactive carbon in soil, soils extracts and plant materials.- *Pl. Soil*, 45, 273-277.
- BREMNER J.M., 1965.- Exchangeable ammonium, nitrate, and nitrite by steam distillation methods. in *Methods of soil Analysis*.- Part 2, 1191-1206. American Society of Agronomy, Inc. Publisher. Madison, Wisconsin, U.S.A.
- BRIDGE B.J. & RIXON A.J., 1976.- Oxygen uptake and respiratory quotient of fields soil cores in relation to their air-filled pore space. *J. Soil Sci.*, 27 (3), 279-286.
- DOMMERCUES Y. & MANGENOT F., 1970.- Ecologie microbienne du sol.- *Masson et C^{ie}, Editeurs*, 796 p.
- GARCIA J.L., 1975.- La dénitrification dans la rhizosphère du riz.- *Soc. Bot. Fr. Coll. Rhizosphère*, 122, 131-138.
- HOCHANH THONG, 1979.- Contrôle du rapport $\frac{^{14}\text{CO}_2}{\text{CO}_2 \text{ total}}$ pour la culture de plantes en conditions contrôlées.- *Stage IUT, Montpellier*, 37 p.
- JENKINSON D.S., 1966.- Studies on decomposition of plant material in soil. II Partial sterilisation of soil and the soil biomass. *J. Soil Sci.*, 17 (2), 280- 302.
- JENKINSON D.S. & POWLSON D.S., 1976 a.- The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. I Fumigation with chloroform. *Soil Biol. Biochem.*, 8 (3), 167-177.
- JENKINSON D.S., POWLSON D.S., WEDDERBURN R.W.M., 1976 c.- The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. III The relationship between soil bio-volume, measured by optical microscopy, and the flush of decomposition caused by fumigation.- *Soil Biol. Biochem.*, 8 (3), 189-202.
- JENKINSON D.S., 1976 d.- The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. IV The decomposition of fumigated organisms in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 8 (3), 203-208.
- JENKINSON D.S. & POWLSON D.S., 1976 e.- The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V A method for measuring soil biomass.- *Soil Biol. Biochem.*, 8 (3) , 209-214.

- JENKINSON D.S. & POWLSON D.S., 1980.- Short communication. Measurement of microbial biomass in intact soil cores and in sieved soil.-*Soil Biol. Biochem.*, 12, 579-581.
- JANSSON S.L. & PERSSON J., 1968.- Coordination of humus chemistry and soil organic matter biology by isotopic technic. Isotopes and radiations in soil organic matter studies. I.A.E.A. *conf. proc. Vienna*, 11-123.
- LYNCH J.M. & PANTING L.M., 1980.- Variations in the soil biomass.- *Soil Biol. Biochem.*, 12, 547-550.
- MNEIMNE Z., 1981.- Dynamique de la biomasse microbienne dans deux sols méditerranéens Etude par incubation avec du matériel végétal marqué au C et N.- *Thèse de 3^{ème} cycle. USTL*, 91 p.
- PERSSON J., 1968.- Biological testing of chemical humus analysis. *Landbrukshörens Ann. Stockholm*, 34, 81-217.
- POWLSON D.S. & JENKINSON D.S. 1976 b. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. IV Gamma irradiation, autoclaving, air drying and fumigation.- *Soil Biol. Biochem.*, 8 (3), 179-188.
- RICHARSON H.L., 1938.- The nitrogen cycle in grassland soils : with special reference to the Rothamsted Park Grass experiment.- *J. Agr. Sci.*, 28, 73-121.
- RIVIERE J., 1960.- Etude de la rhizosphère du blé.- *Ann. Agron.*, 11 (4), 397-440.
- RIXON A.J. & BRIDGE B.J., 1968.- Respiratory quotient arising from microbial activity in relation to matric suction and air filled pore space of soil.- *Nature*, 218, 961-962.
- ROVIRA A.D. & BOWEN G.D., 1966.- The effects of microorganisms upon plant growth II : Detoxification of heat sterilized soils by fungi and bacteria.- *Pl. Soil*, 1, 129-142.
- SHIELDS J.A., PAUL E.A. & LOVE W.E., 1974.- Factors influencing the stability of labelled microbial materials in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 6, 31-37.
- SINGH J.S. & GUPTA S.R., 1977.- Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems.- *The Botanical Review*, 43 (4), 449-528.
- TARDIEUX A.P., 1975.- Solubilisation d'éléments minéraux dans la rhizosphère.- *Soc. Bot. Fr. Coll. Rhizosphère*, 122, 139-144.
- WOLDENDORP J.W., 1975.- Nitrification and denitrification in the rhizosphere.- *Soc. Bot. Fr. Coll. Rhizosphère*.- 122, 89-107.