UNIVERSITE DE NANCY I

U.E.R.-S.T.M.C.M.

Publ. 114

THÈSE

présentée à

l'UNIVERSITE DE NANCY

pour obtenir

le grade de DOCTEUR DE SPECIALITE EN PEDOLOGIE

par

G. ZANY RAFIDISON

RÔLE DE LA FAUNE DANS L'HUMIFICATION : TRANSFORMATIONS DES FEUILLES DE HÊTRE PAR UN VER ANÉCIQUE (NICODRILUS VELOX)

Soutenue publiquement le 2 mars 1982

devant la Commission d' Examen

Membres du Jury

MM.	B. SOUCHIER	Professeur à l'Université de Nancy I, Président
	F. MANGENOT	Professeur à l'Université de Nancy I
	M. METCHE	Professeur à l'I.N.P.L.
	M.B. BOUCHE	Maître de Recherche, I.N.R.A.
	F. TOUTAIN	Maître de Recherche, C.N.R.S.
	F. ANDREUX	Chargé de Recherche, C.N.R.S.

UNIVERSITE DE NANCY I U.E.R.-S.T.M.C.M.

THÈSE

présentée à

l'UNIVERSITE DE NANCY

pour obtenir

le grade de DOCTEUR DE SPECIALITE EN PEDOLOGIE

par

G. ZANY RAFIDISON

RÔLE DE LA FAUNE DANS L'HUMIFICATION : TRANSFORMATIONS DES FEUILLES DE HÊTRE PAR UN VER ANÉCIQUE (NICODRILUS VELOX)

Soutenue publiquement le 2 mars 1982

devant la Commission d' Examen

Membres du Jury

MM.	B. SOUCHIER	Professeur à l'Université de Nancy I, Président
	F. MANGENOT	Professeur à l'Université de Nancy I
	M. METCHE	Professeur à l'I.N.P.L.
	M.B. BOUCHE	Maître de Recherche, I.N.R.A.
	F. TOUTAIN	Maître de Recherche, C.N.R.S.
	F. ANDREUX	Chargé de Recherche, C.N.R.S.

AVANT-PROPOS

Avant d'exposer les résultats de trois années d'études, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ceux qui m'ont suivi pendant cette période, et dont les encouragements m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je suis très reconnaissant à Monsieur le Professeur SOUCHIER, Directeur du Centre de Pédologie, de m'avoir accueilli dans son laboratoire. Il m'a initié à la pédologie biologique et m'a permis, par la suite, grâce à ses critiques fécondes et surtout sa rigueur d'analyse, de mener à bien cette étude.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur TOUTAIN. Il a été pour moi un guide dynamique, toujours disponible, et n'a cessé, au cours de ces trois années, de me prodiguer remarques, conseils et encouragements. Je lui dois beaucoup dans l'acquisition de la démarche synthétique. Je n'oublie pas non pous le temps précieux qu'il m'a consacré pour la mise en forme de ce manuscrit. Qu'il trouve ici le témoignage d' une sincère reconnaissance.

Je remercie sincèrement Monsieur BOUCHE pour la confiance qu'il m'a accordée en m'aidant à aborder ce thème de recherche. Son influence a été décisive au cours des stages que j'ai pu effectuer dans son laboratoire. Il a su me faire saisir l'importance des Lombriciens dans la pédologie. Je le remercie d'avoir accepté de juger ce travail.

Mes remerciements s'adressent également à Mademoiselle MONROZIER, et Messieurs F. ANDREUX et J.M. PORTAL, dont l'expérience dans le domaine analytique et les discussions pour l'interprétation de points délicats m'ont été bénéfiques. Qu'ils trouvent ici l'expression de toute ma reconnaissance.

Je remercie sincèrement Messieurs MANGENOT et METCHE d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Je suis reconnaissant à Madame VILLEMIN d'avoir consacré une partie de son temps à la fabrication et à l'étude des coupes ultrastructurales d'endentères et autres milieux spéciaux. Au cours de nombreuses discussions au sein de notre équipe, elle a su me faire partager son expérience et sa rigueur de spécialiste.

Je remercie Monsieur le Professeur BONALI de la Faculté de Pharmacie de m'avoir reçu à plusieurs reprises dans son laboratoire pour discuter de problèmes de dosage et d'interprétation (hexosamines).

Mes remerciements vont aussi à toutes les personnes du Centre de Pédologie, qui ont participé à ce travail, en particulier Messieurs James ROUILLER, Emmanuel JEANROY, Gérard BURTIN, Michel DOIRISSE, NGUYEN QUAT HAO et Mesdames Pierrette JEANSON, Monique STEINER, Bernadette GERARD, Renée PHILIPPY et Elisabeth SCHOULLER.

Je remercie également Monsieur SUEUR pour l'illustration, en un temps extrêmement court, de ce mémoire, et Madame PAPIS pour son impression.

Enfin, je remercie vivement Monsieur HAZEMANN, qui a assuré la réalisation de toutes les expériences sur le terrain. C'est grâce à son grand sens pratique que nous avons pu résoudre de nombreuses difficultés techniques. Son sens de l'observation sur le terrain m'a beaucoup aidé et permis de mener à bien une importante partie expérimentale.

La Biologie du sol et le rôle des organismes vivant dans le sol sont reconnus depuis de nombreuses années (Pédologie Biologique). L'accent a surtout été mis sur l'activité microbienne ; quelques précurseurs ont engagé des études sur la faune du sol, et des travaux intéressants ont porté sur les rôles mécaniques. Cette démarche importante a été d'un intérêt capital (PONOMAREVA, 1950, 1959 ; KUBIENA, 1953 ; SAUSSEY, 1956 ; SATCHELL, 1958, 1960 ; PARLE, 1963 ; HARTMANN, 1965 ; JEANSON, 1966 ; MURILLO, 1966 ; MALDAGUE, 1967 ; LEVEQUE, 1967 ; BOUCHE, 1972 ; BABEL, 1972 ; ATLAVINYTE, 1973 ; REISINGER et KILBERTUS, 1980 ; BACHELIER, 1971). La mise en oeuvre de techniques nouvelles laisse prévoir un développement important de ces travaux.

Si l'activité des organismes qui vivent dans le sol dépend des propriétés du sol, inversement ces organismes exercent un contrôle étroit sur la nature et la forme des composés organiques du sol, ainsi que sur certaines propriétés physiques essentielles (structure par exemple). Il en résulte que l'étude physico-chimique des sols est inséparable de l'étude des organismes qui y vivent.

La biologie des sols a pour but d'analyser les interactions entre ces organismes et le milieu minéral, dans le cadre des écosystèmes sol-végétation. Les interactions entre la faune du sol et la matière organique entrent dans le cadre des préoccupations des biologistes du sol.

Pour mener à bien ces recherches dans le domaine de l'observation et dans celui de l'expérimentation, le biologiste du sol doit faire appel à la chimie (chimie des substances humiques, physico-chimie des surfaces, etc...), technique qui constitue pour lui l'outil nécessaire à la mise en évidence des réactions innombrables impliquées dans ces interactions.

leur queue aplatie s'accroche à l'ouverture de leur galerie, tandis qu'ils trient ou consomment la litière. Ils peuvent se rétracter rapidement dans leur terrier. Ils creusent des galeries profondes (5 à 6 m) et rejettent en surface de nombreux turricules.

Les feuilles constituant un aliment pour cette faune lombricienne, il est essentiel, avant toute étude, de connaître les caractères chimiques et biochimiques des composants des feuilles qui tombent sur le sol (ici, feuilles brunes d'une essence particulière : le hêtre).

3.- Nature des produits végétaux entrant dans la composition d'une feuille de hêtre et leur transformation au cours du transit intestinal des vers de terre anéciques

L'humification commence avec le brunissement des feuilles. Dès la sénescence des feuilles de hêtre, l'apparition de la pigmentation brune coïncide avec la diminution de la concentration en monomères phénoliques (TISSUT, 1968) et la formation dans la cellule, d'amas opaques aux électrons visibles en microscopie électronique à haute résolution (TOUTAIN, 1981). La nature des substances constituant ces amas est actuellement mal connue, et l'on peut supposer, par analogie avec d'autres végétaux, qu'ils résultent pour une part de réactions entre les produits d'oxydation des polyphénols et les protéines foliaires (MANGENOT et al., 1966 ; ANDREUX et al., 1979). Ces substances sont-elles des macromolécules préhumiques ? De toute façon, leur transformation au cours de l'humification est importante à suivre et nous nous proposons d'étuder leur évolution pendant le transit intestinal des vers anéciques et leur devenir au cours du vieillissement des déjections. Il s'agit là d'une voie originale d'humification.

Nous n'étudierons pas, par contre, les transformations d'ordre mécanique apportées par les vers de terre (formation de turricules, de galeries, régulation de la porosité), ni leur rôle vis-à-vis de l'activité microbiologique (dispersion des germes, etc...). Nous nous limiterons à l'étude des conséquences du métabolisme et des actions digestives des lombriciens anéciques sur les états de la matière organique.

Notre étude traitera donc les points suivants :

1.- Etude préliminaire de la composition de la feuille, aliment des anéciques. Mise au point des méthodes d'étude de ce matériel essentiellement carboné.

2.- Etude de l'évolution des produits d'origine foliaire au cours du transit intestinal au contact de la matière minérale et de leur incorporation au sol dans l'horizon A_1, en milieu naturel et en milieu contrôlé.

Sachant que l'état global de la matière organique du sol est, pour une part importante, le reflet de l'activité de la faune lombricienne dans les mull le but de ce travail est donc d'essayer de connaître le rôle des vers de terre anéciques dans la transformation et l'humification de la matière organique d'origine foliaire.

PREMIERE PARTIE

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATÉRIEL ET MÉTHODES

I.- DEMARCHE GENERALE

Entre les feuilles ingérées et les féces émis, d'importantes modifications chimiques sont intervenues. D'ailleurs, longtemps encore après l'émission des rejets, l'action digestive animale a des conséquences sur les processus d'humification. La variété des processus est complexe et difficilement mesurable (assimilation des substances, rejet d'excrétats intestinaux, etc...). Nous laisserons de côté tous ces échanges physiologiques, et nous nous limiterons à l'étude de l'évolution qualitative des matières transitant par le tube digestif, en distinguant divers états dans le "brassage pédo-intestinal" dû aux lombriciens : contenu intestinal (endentère), turricules frais, turricules âgés, horizon A_1. Des caractérisation comparatives seront faites à ces différents états, en ayant recours aux moyens analytiques classiques : méthodes de fractionnement et d'extraction, analyses chimiques des principaux éléments, observations au microscope à haute résolution.

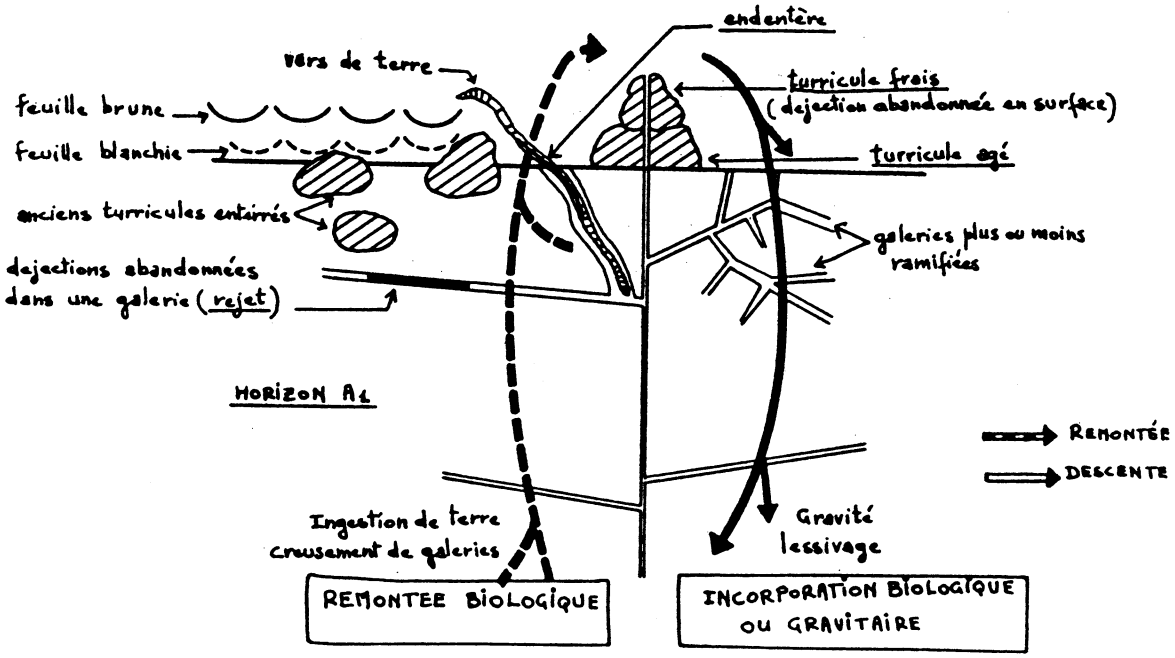


Figure 1.- Schéma des divers états du brassage pédo-intestinal

II.- STATION D'ETUDE

La station étudiée se situe dans la région d'Epinal (département des Vosges), à la limite des Basses Vosges gréseuses et de la plaine lorraine.

La climatologie de la région a été étudiée par CACHAN (1974) ; la température moyenne annuelle est de 8°7. Aucune moyenne mensuelle n'est inférieure à - 0°5, ni supérieure à 17°C. L'amplitude moyenne annuelle des variations de température est assez forte (17°5). La pluviométrie est en moyenne comprise entre 900 à 1 200 mm d'eau par an, avec une répartition mensuelle assez régulière, puisqu'il pleut chaque mois plus de 60 mm, avec un minimum en octobre et 3 maxima (novembre-janvier ; fin du printemps et été).

La station a été établie dans une hêtraie acidiphile d'une centaine d'années (avec quelques chênes dispersés) sur limons, reposant sur alluvions anciennes des terrasses de la Moselle.

L'humus est de type mull, et le sol, un sol lessivé glossique polycyclique. La description du profil et les analyses de caractérisation reportées ci-après, sont dues à CAILLIER (1977).

On observe dans la station de très nombreux turricules dûs pour la plupart à Nicodrilus (Nicodrilus) velox (BOUCHE, 1967). Cette souche lombricienne fait partie de la catégorie des "anéciques". C'est une espèce assez monotypique de longueur remarquable (400 à 600 mm), 4,5 à 7 mm de largeur et d'un poids d'environ 10 g. Sa forme est cylindrique, avec aplatissement caudal. La pigmentation cutanée est irisée et brun noirâtre. La morphologie externe et la systématique de cette espèce ont été décrites par BOUCHE (1972).

Cette station a été choisie, car elle semble être un excellent exemple de station à mull, dans laquelle les turricules de Nicodrilus velox parsèment l'ensemble du site avec une très forte densité, ce qui n'est pas rare dans toute cette région des Basses Vosges. D'autre part, il s'agit d'une hêtraie ; la litière est donc presqu'exclusivement constituée de feuilles de hêtre (Fagus sylvatica), dont nous commençons à connaître les caractéristiques et les principales voies de transformations (TOUTAIN, 1974 et 1982).

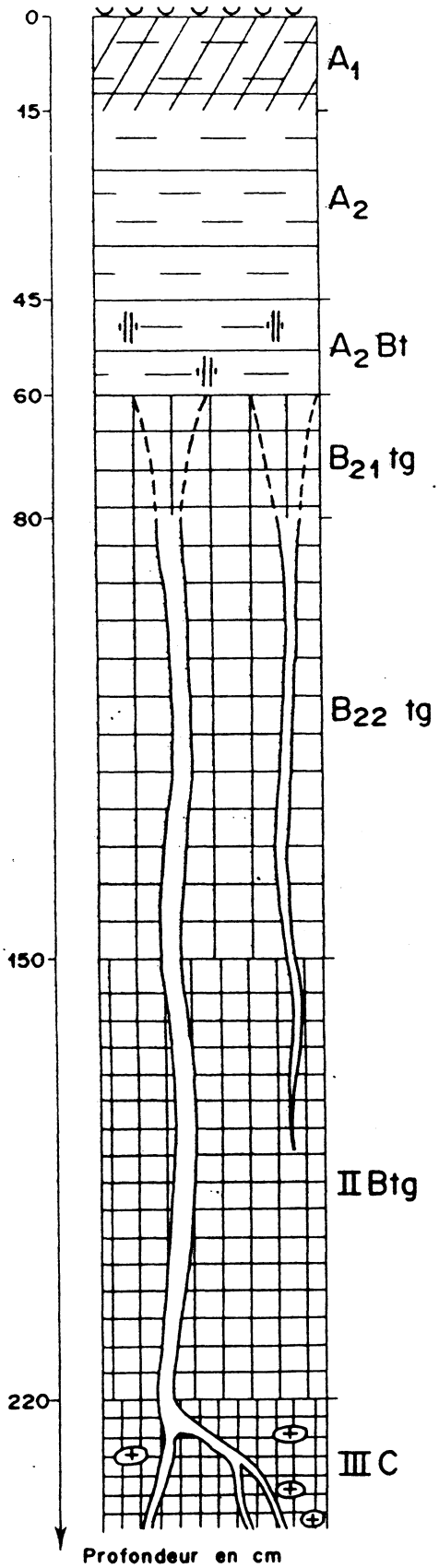
Résultats analytiques

Prof.	Hor.	pH	Granulométrie %					M.O. %	C %	N %	C/N	Bases échangeables m.e./100g					$100\frac{S}{T}$	Elém. libres ‰		
			A.	L.F.	L.G.	S.F.	S.G.					Ca	Mg	K	S	T		Fe	Al	Si
0- 15	A_1	4,4	15,4	43,1	15,2	3,0	7,5	4,66	2,33	0,148	15,7	1,7	0,32	0,25	2,27	9,3	24,4	12	3,7	1,4
15- 45	A_2	4,05	19,4	41,3	19,9	3,8	8,0	2,06	1,03	0,072	14,3	0,3	0,08	0,06	0,44	6,8	6,4	11,5	3,7	1,4
45- 60	A_2B_t	4,35	28,2	35,8	18,8	3,9	6,8	0,62	0,31	0,046	6,7	0,3	0,22	0,09	0,61	8,5	7,1	18,5	5,4	2,1
60- 80	B_{21tg}	4,95	36,9	32,1	13,7	3,2	6,7	0,34	0,17	0,044	3,8	0,8	1,08	0,12	2,0	11,3	17,7	22,5	6,0	2,3
80-150	B_{22tg}	4,95	36,5	33,2	15,4	3,6	6,6	0,30	0,15	0,045	3,3	2,1	1,88	0,14	4,12	13,5	30,5	22	5,7	2,7
150-220	IIB_{tg}	4,85	48,1	20,5	6,0	4,7	15,7	0,32	0,16	0,044	3,6	2,8	2,39	0,08	5,27	13,3	39,6	27	6,0	1,7
> 220	IIIC	4,85	54,4	18,3	6,4	4,8	13,0	0,34	0,17	0,055	3,1	3,4	2,60	0,11	6,11	15,0	40,7	37,5	7,5	2,0

Le pH acide, le taux de saturation très faible dans l'horizon A_2, l'indice d'entraînement de l'argile, en font un sol lessivé. L'existence de bandes verticales décolorées correspondent à un sol glossique. Plusieurs générations de limons à pédogénèses successives à effet cumulé en font un sol polycyclique.

SOL LESSIVE GLOSSIQUE POLYCYCLIQUE - U.S.A. : Aeric Fragiaqualf à Aeric Glossaqualf - F.A.O. : Dystric podzoluvisol.

Profil de THAON-les-VOSGES
I.G.N. : 1/25 000 Mirecourt 7-8 - E : 6°23'49" - N : 48°14'30" - Altitude : 377 m.
Lieu dit "Bois d'Oncourt" sur la rive gauche de la Moselle, à 50 m de la route Thaon-les-Vosges-Oncourt.
Topographie : Replat le plus haut de la terrasse 55-60 m réduite à un lambeau étroit en position haute (inversion de relief) et entaillée par des vallons transversaux.
Roche-mère : Limon argileux sur alluvions quaternaires fluviatiles anciennes.
Végétation : Hêtre dominant, Chêne. Strate herbacée rare ; ronces.
Drainage : Présence d'une nappe temporaire hivernale perchée ayant comme plancher l'horizon B_{21tg}, à écoulement rapide lié aux caractères géomorphologiques de cette terrasse.



A_1 — Limon argilo-sableux brun foncé (7,5 YR 5/2) à structure grumeleuse irrégulière très bien développée ; nombreuses racines horizontales ou verticales de tout diamètre.
Limite diffuse ondulée.

A_2 — Limon argilo-sableux brun jaunâtre (10 YR 5/6) à structure grumeleuse moyenne bien développée ; nombreuses racines horizontales à subhorizontales ; très nombreuses galeries de vers et d'animaux fouisseurs remplies de matériau de l'horizon A_1 ; quelques petits galets siliceux.
Limite subhorizontale nette.

A_2 Bt — Limon argileux brun rougeâtre (10 YR 5/6) à structure lamellaire moyenne très bien développée ; taches d'hydromorphie jaune rougeâtre (7,5 YR 6/6) et gris clair (10 YR 7/2). Nombreuses racines en décomposition ; galeries de vers à colmatage de matériau issu des horizons A_1 et A_2. Quelques galets siliceux ; quelques fines concrétions organo-ferromanganiques (2 à 3 mm).
Limite graduelle.

B_{21} tg — Argile limoneuse panachée de brun jaunâtre (10 YR 5/8), de jaune brun (10 YR 6/8) et de gris (pâle (10 YR 7/1) ; structure lamellaire à polyédrique subangulaire moyenne à grossière, à surstructure prismatique grossière ; agrégats assez compacts ; fréquents revêtements argileux minces et discontinus, associés à des films de manganèse sur les plans lamellaires. Fantômes de glosses digérés par pédoturbation. Limite graduelle marquée par le commencement des glosses.

B_{22} tg — Argile limoneuse brun jaunâtre (10 YR 5/8) avec des bandes gris pâle (10 YR 7/1) ; structure polyédrique angulaire à prismatique grossière bien développée. Agrégats très compacts ; revêtements discontinus d'hydroxydes de fer (2,5 YR 4/6) sur les faces structurales horizontales.
Existence de poches limoneuses à structure lamellaire grossière, très compactes, non affectées par l'ydromorphie.
Les glosses ont une structure fondue.
Limite distincte subhorizontale.

II Btg — Argile jaune brunâtre (10 YR 6/6) à taches moyennes diffuses contrastées rouges (10 R 4/6). Structure polyédrique subangulaire moyenne très bien développée.
Quelques petits galets siliceux.
Les glosses sont verticales, grises (10 YR 6/1), avec des digitations subverticales. Elles peuvent être soulignées par un liseré brun jaunâtre (10 YR 6/8) à rouge (10 R 4/6). Le colmatage est argileux et souvent accompagné de radicelles ; la structure est fondue.
Limite graduelle avec augmentation de la teneur en galets.

III C — Argiles bariolées de brun foncé (7,5 YR 5/8), de rouge (10 R 4/6) et de gris (10 YR 6/1). Structure massive. Certaines zones gleyifiées prolongent les glosses de l'horizon supérieur, ou s'infiltrent entre des joints de stratification ; galets siliceux et minéraux altérés.

III.- METHODES DE RECOLTE DES DIVERS ECHANTILLONS SUR LE TERRAIN ET CONSERVATION

Pour préciser le rôle des anéciques dans les "mull forestiers", il est nécessaire de connaître la nature du sol affecté par leur activité. Ces lombriciens mélangent en fait diverses fractions du sol (litière, fractions organiques variées, éléments minéraux, de différents horizons), qu'ils ingèrent, brassent dans leur tube digestif et rejettent dans le sol (rejets) ou sur le sol (turricules). C'est pourquoi l'ensemble des analyses que nous avons faites a été effectué sur des états successifs de ce que nous appelons le brassage "pédo-intestinal".

1.- La litière et les feuilles

Les apports de litières racinaires, ainsi que les pluviolessivats, ne seront pas étudiés ici. Les feuilles tombent sur le sol quelques semaines avant la saison froide (début à mi-novembre). L'apport annuel de litière est de l'ordre de 3,5 T de matière sèche par hectare et par an (160 kg d'éléments minéraux) dans la station étudiée (GURY M., Communication personnelle). Cette litière de hêtre est composée pour 75 % de feuilles, environ 15 % de brindilles, 9 % d'écorces et 0,3 % de fruits (NIELSEN et al., 1964 ; DUVIGNEAUD et al., 1974). Les feuilles représentent donc la plus grande partie des retombées.

Les cellules de ces feuilles sont remplies de produits bruns, opaques aux électrons (TOUTAIN, 1981), et il est important de savoir si ces substances peuvent servir de nourriture aux vers et si ce sont des macromolécules préhumiques. Pour cela, nous avons cherché à les isoler, à étudier l'action des réactifs classiquement utilisés pour les substances humiques et à comparer cette action à celle de certains solvants organiques. Ces études rendent compte de l'efficacité des différents solvants vis-à-vis de l'extractibilité globale du carbone et de l'azote, mais également de la nature chimique des composés extraits par les solvants les plus efficaces.

Nous avons étudié les transformations que subissent, dans la station, les feuilles brunes (FBr) âgées de moins d'un an, et les feuilles blanchies (FBl) âgées de deux ans, et envahies par la microflore fongique des pourritures blanches (TOUTAIN, 1974 ; REISINGER et al., 1978), et cela, au cours de la période d'activité lombricienne à Thaon, soit de mai à fin octobre. Toutes ces études ont été faites sur des feuilles séchées à l'air et broyées au broyeur mixeur.

2.- L'endentère et les déjections

L'activité des anéciques se traduit par le creusement de galeries et l'émission de déjections. Une partie de ces déjections est abandonnée en surface sous forme de turricules, tandis que l'autre partie est rejetée dans le sol, et contribue à reboucher la galerie que venait de creuser l'animal (rejets). Les turricules ne représentent donc qu'une fraction de sol effectivement absorbé et brassé par les vers (GRAFF, 1967 ; BOUCHE, 1972). Mais ils entrent dans la constitution d'une bonne partie de l'horizon A_1. Dans notre station, par exemple, dans les dix centimètres superficiels, 30 % environ de l'horizon sont des turricules caractérisables sur lame d'humus.

Les anéciques se nourrissent principalement au crépuscule (du soir ou du matin) (KRETZCHMAR, 1977, 1978). Cette alimentation s'interrompt dès que la température descend au-dessous de 0°C (BOUCHE, 1972). La durée du transit est d'environ 16 heures pour un ver anécique de taille normale, mais pour Nicrodrilus velox, cette durée doit être supérieure du fait de sa grande taille (BOUCHE, communication personnelle).

- L'endentère : l'endentère est le contenu du tube digestif. Pour en connaître les caractéristiques chimiques, biochimiques et microbiologiques, l'endentère *est prélevé sur des vers récoltés par la méthode au formol (RAW, 1959 revu par BOUCHE, 1969), mais que nous avons légèrement modifiée. Au lieu d'être versée en pluie sur le sol, la solution de formol à 5 ‰ est versée à l'aide d'un entonnoir ou d'une seringue dans le trou central d'un turricule. Cette récolte est effectuée avant 11 heures du matin, parce que les vers anéciques de Thaon émettent leurs déjections à cette période.*

Les vers sont tués ensuite très rapidement dans de l'eau bouillante, sans qu'ils se contractent ou senroulent (mort instantanée en détente). La récolte de l'endentère s'effectue par dissection. Celle-ci se pratique par ouverture de la ligne médio-ventrale (l'animal étant épinglé au fond d'un bac à dessection).

- Les turricules : Les féces ont généralement des teneurs en carbone supérieures à celles de la terre d'origine (RAFIDISON, 1979), et leur couleur permet souvent de reconnaître la profondeur du prélèvement initial (par exemple au niveau des glosses décolorées). Ces turricules sont constitués par un amas de petits cylindres de 4 mm de longueur et de 3 mm de diamètre, généralement de couleur brune. Il y a un petit canal central qui monte jusqu'au sommet, et le vers construit le turricule en évacuant les petits cylindres autour de ce canal.

Définition : turricule frais = turricule d'un jour au plus
turricule âgé = turricule dont les petits cylindres ne sont plus reconnaissables (âgés de 3 à 5 mois)

Plusieurs kilogrammes de ces turricules sont récoltés, puis mélangés. Les échantillons pour analyses sont prélevés dans ce mélange.

IV.- LA MODELISATION EXPERIMENTALE

Nous avons essayé de suivre, par voie expérimentale, mais en milieu forestier, l'étude des processus de décomposition et d'humification des feuilles, via le tube digestif des lombriciens, en les simplifiant au maximum. Les animaux sont maintenus dans leur sol d'origine et dans le microclimat édaphique initial (station de Thaon), mais ils restent isolés dans des sacs en toile métallique.

Milieu d'élevage et dispositif

Nous avons utilisé des sacs de laiton à mailles carrées de 1,5 mm. Ces sacs sont de forme cylindrique (hauteur 80 cm et diamètre 70 cm). Ils sont enterrés et remplis d'un sol à très faible teneur en matière organique (horizon B_t profond de la station, à 0,3 % de carbone). Les lombriciens y sont introduits (une quinzaine d'individus par sac) et maintenus en "élevage" en conditions relativement proches des conditions naturelles (Figure 2).

La souche lombricienne utilisée est le Nicodrilus velox de la station, qui représente environ 80 % de la biomasse lombricienne de la station, selon une estimation faite par la méthode au formol. Cette estimation supposerait, dans notre cas, une biomasse anécique d'environ 6 à 7 vers au m^2. Les vers utilisés sont adultes et sexuellement mûrs ; certains sacs "témoins" ne reçoivent pas de vers.

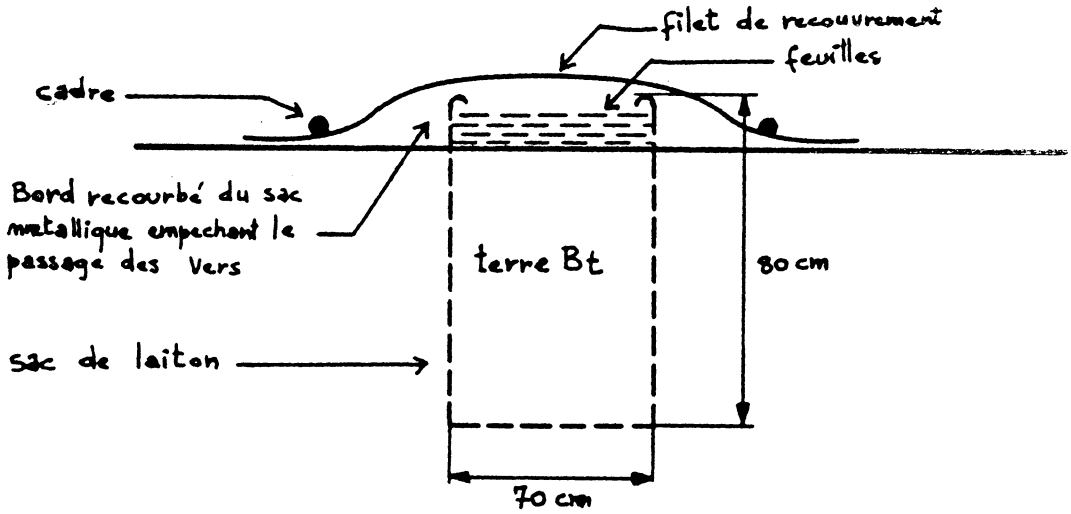


Figure 2.- Schéma du dispositif expérimental (introduction de vers dans un horizon B_t)

Au-dessus de chaque cylindre, nous avons apporté, soit des feuilles brunes et récentes, prélevées dans le voisinage, soit des feuilles plus anciennes, blanchies par les pourritures blanches, et prélevées elles-aussi, dans la station. Les quantités apportées sont de 500 g/m^2, largement supérieures aux besoins des anéciques. L'expérience a commencé au mois de mai 1980 et a duré 7 mois. Les traitement sont les suivants :

1. Horizon B_t + feuilles brunes + lombriciens,
2. Horizon B_t + feuilles blanchies + lombriciens,
3. Horizon A_1 sans feuilles, mais avec lombriciens
4. horizon B_t + feuilles brunes sans lombriciens.

L'étude cherche à définir le rôle des vers anéciques dans la transformation du matériel végétal ingéré et son humification au contact du matériel minéral (apparition éventuelle d'agrégat).

V.- METHODES

1.- Méthodes de fractionnement de la matière organique des sols et des turricules

Le but du fractionnement de la matière organique est de regrouper dans des mêmes fractions, des matières organiques de même nature. De nombreuses méthodes de fractionnement ont été proposées pour les sols (DUCHAUFOUR et JACQUIN, 1966). Ces méthodes présentent toutes des inconvénients et des limites de validité. Nous avons adopté la méthode de BRUCKERT et al. (1978), modifiée par BRUN (1978). Cette méthode est la suivante :

Agitation préalable dans l'eau pendant 18 heures, en présence de billes d'agate (pour disperser les microagrégats), puis tamisage à 100µ et 50µ. C'est dans la fraction inférieure à 50µ que se rencontre l'essentiel de la partie humifiée du prélèvement, mais BRUN a montré que dans certains humus (humus de type moder ou dysmoder), il y avait encore beaucoup de débris végétaux peu transformés dans cette fraction. C'est pourquoi il est utile de pratiquer deux séparations densimétriques au bromoforme-alcool à d = 1,8 : la première permet de séparer les petits fragments de feuilles et les boulettes fécales holorganiques (matière organique fraîche), la deuxième, après agitation ultrasonique pendant 30 secondes, fait remonter l'humine héritée (boulettes fécales de Collemboles et d'Enchytraéides, alourdies par ingestion de grains de quartz). C'est sur le culot, appelé matière organique liée (matière organique lourde) que sont extraits les acides alcalino-solubles (acides fulviques et acides humiques) ; le reste, "matière organique inextractible", correspond à l'humine d'insolubilisation (il s'agit en fait de l'humine d'insolubilisation + humine microbienne, constituée de parois et résidus de la microflore).

Signalons que, pour les turricules, nous avons effectué des tests de décarbonatation préalable avec HCl N/100 (pendant 4 heures, rapport 1 g/100ml) à froid, afin de vérifier si les cristaux de calcite excrétés dans l'endentère par les glandes de Morren (BAL, 1977 ; BOUCHE, 1972 ; SATCHELL, 1966) ne jouaient pas un certain rôle dans l'agrégation.

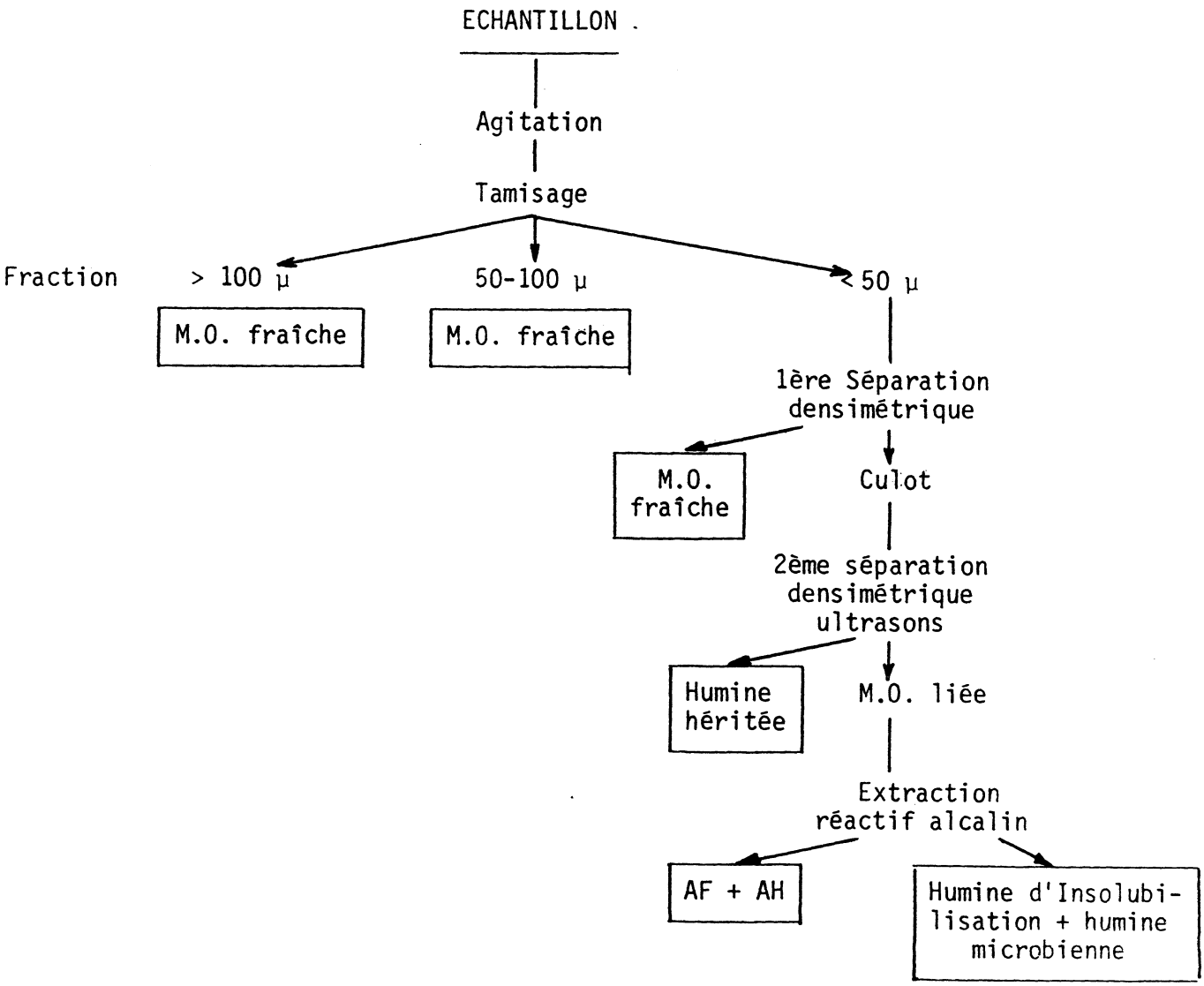


Figure 3.- Schéma général du fractionnement de la matière organique des sols

2.- Extractions et purification des composés humiques

Les extractions permettent d'isoler des substances humiques qui se définissent par leur caractère de solubilité (acides humiques et acides fulviques) ou leur liaison avec les argiles (composés non extractibles ou humine d'insolubilisation).

a.- Extraction sur le matériel foliaire

α) Extractions alcalines

- Extraction à pH "constant" : Les réactifs alcalins préconisés par BRUCKERT et al. (1974) sont utilisés soit séparément, soit successivement :

+ NaOH 0,1N tamponnée à pH 9,7 par le tétraborate de sodium
+ $Na_4P_2O_7$ 0,1M à pH voisin de 10
+ NaOH 0,1N à pH supérieur ou égal à 12

La poudre de feuilles est agitée durant une heure avec chacun des réactifs (rapport : 60 ml/g pour les traitements avec un seul réactif, et 20 ml/g pour les traitements successifs avec les trois réactifs). Après filtration, les culots sont rincés à l'eau et les solutions d'extraction sont conservées à + 4°C.

- Extraction à pH variable et contrôlé : La poudre de feuilles est agitée sous atmosphère d'azote dans des solutions diluées de NaOH (rapport : 60 ml/g) apportée par une burette automatique. L'agitation est poursuivie durant une heure au pH final de l'extraction, fixé respectivement à 8 - 8,5 - 9 - 9,5 - 10 - 10,5 - 11 - 11,5 et 12, grâce à un dispositif "titristop Tacussel". Les suspensions sont ensuite filtrées et conservées à + 4°C.

- Précipitation des extraits alcalins : Les extraits alcalins sont portés à pH 2,5 par HCl 3N, laissés au repos une nuit à 4°C, puis centrifugés à 6000 g. Le précipité ainsi obtenu (acides humiques) est redispersé dans NaOH 0,05N, dialysé contre eau distillée, décationisé sur résine "DOWEX WX 8-50" (H^+), puis lyophilisé.

β) Extractions sélectives aux solvants organiques

La méthode préconisée par THOMPSON et al.(1972), pour l'isolement des tanins végétaux, est appliquée aux lots de feuilles étudiées (FBr et FB1), ainsi qu'à un échantillon de feuilles brunes, qui a subi une extraction préalable à N-OH 0,1N. L'ordre suivant est adopté :

+ Méthanol (40 ml/g) : agitation durant 15 mn à 20°C : élimination de la fraction hydrosoluble
+ Chloroforme (mêmes conditions) : élimination des chlorophylles et des graisses
+ Acétate d'éthyle (mêmes conditions) : extraction des polyphénols et des tanins de bas poids moléculaire
+ Acétone-eau 50:50 V/V (mêmes conditions : extractions partielles de tanins condensés
+ Diméthylformamide (DMFA) : utilisé par WÜRSCH et al (1980), comme solvant spécifique des tanins condensés. Les échantillons dispersés dans le DMFA (20 ml/1 g) sont portés à ébullition sous reflux sur bain d'huile à 130°C durant 16 heures. Les culots sont récupérés sur Büchner, puis remis en contact durant 3 heures avec une nouvelle quantité de DMFA (10 ml/g).

Après concentration à l'évaporateur rotatif, les pigments de couleur brun foncé sont floculés par adjonction d'éther éthylique, rincés plusieurs fois à l'éther éthylique et séchés à l'air. La poudre obtenue est redispersée dans NaOH 0,05N, dialysée contre eau distillée, décationisée sur résine DOWEX WX 8-50 (H^+) et lyophilisée.

b.- Extraction sur les turricules

Après fractionnement physique avec agitation dans l'eau de billes d'agate, la fraction inférieure à 50µ est mise en contact avec la soude à pH 10, selon le schéma de la figure 4.

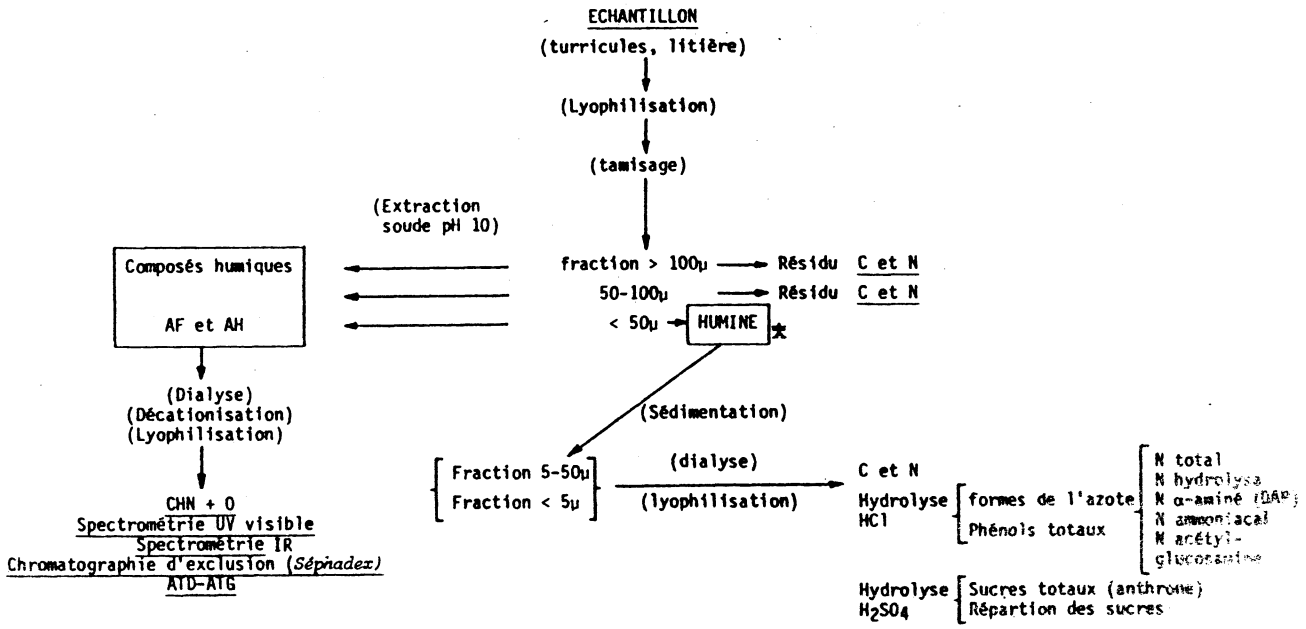


Figure 4.- Schéma de fractionnement de la matière organique retenu pour l'ensemble des échantillons

Les séparations densimétriques sur les déjections de vers de terre étant inopérantes pour séparer matière organique fraîche, humine héritée et matière organique réellement humifiée, le terme d'"HUMINE" employé ici est synonyme de carbone inextractible, sans préjuger de sa nature (humine d'insolubilisation, humine microbienne, humine héritée ou débris végétaux entourés de minéraux phylliteux).

3.- Méthodes chimiques de caractérisation des composés humiques

a.- Analyse élémentaire C, H, N, O et cations

La composition élémentaire des composés lyophylisés est déterminée par combustion en four fermé, à l'autoanalyseur "CARLO-ERBA". La teneur en carbone des extraits liquides est déterminée par combustion en four ouvert au Carmograph "WOSTHOFF" et la teneur en azote organique, par distillation Kjeldahl.

Après fusion alcaline des échantillons, les cations sont dosés par adsorption atomique, à l'aide du dispositif "VARIAN-TECHTRON".

b.- Spectrométrie d'absorption

+ Les spectres d'absorption infra-rouge sont enregistrés à l'aide des spectrophotomètres BECKMAN IR 10 et 4250, après pastillages des poudres dans KBr (300 mg/mg) à 10 T/cm^2.

+ Les spectres d'absorption UV visible des solutions sont enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre "BECKMAN 25".

c.- Filtration sur gel

L'encombrement moléculaire des extraits alcalins est déterminé par perméation sur colonnes de gels "Sephadex" G25,50 et 100. Ces gels excluent respectivement des molécules de poids moléculaires supérieurs à 10 000, 50 000 et 100 000. L'élution est faite avec un tampon TRIS à pH 7,5. Les éluogrammes sont enregistrés après passage devant un détecteur photométrique à 280 nm.

d.- Titration des fonctions acides

Les fonctions acides phénoliques et carboxyliques des composés dispersés dans CHl 2N (100 ml/20 mg) sont titrées par NaOH 0,01N et enregistrées en dérivée première à l'aide du dispositif Tacussel Urectron 5, selon la technique de ROUILLER et al. (1979).

e.- Techniques pyrolitiques ATG-ATD

Cette méthode permet de suivre le comportement des polycondensats au cours de la montée en température par thermogravimétrie ou ATG (Dispositif METTLER HE20-BE20).

4.- Méthodes dégradatives utilisées sur les composés extractibles et sur l'humine

a.- Hydrolyse chlorhydrique

100 mg de produit sont dispersés dans 100 ml d'HCl 3N et chauffés à l'ébullition à reflux pendant 1, 8 et 24 heures. On procède ensuite à la détermination des formes de l'azote hydrolysable (N ammoniacal, N α-aminé et N combiné) selon les méthodes décrites respectivement par STEVENSON et al. (1967) ; MOORE et STEIN (1954) ; JANEL et al. (1979). Sur les hydrolysats de l'humine, on procède en outre à l'identification de l'acide di-aminopimélique (DAP) acide aminé propre aux parois bactériennes, et du N acétyl-glucosamine (Nag), caractéristique des parois mycéliennes (MAZURELLI, 1978 ; SWIFT, 1973). Le DAP est dosé selon la méthode décrite par STEUBING (1970) et l'Nag selon la méthode de REISSIG et al. améliorée par LEVY et Mac ALLAN (1955).

b.- Hydrolyse sulfurique

50 mg de produit sont dispersés dans 25 ml d'H_2SO_4 2,5M et chauffés à l'ébullition à reflux pendant 24 heures. Les sucres réducteurs sont ensuite dosés à l'anthrone (STEVENSON, 1973) et l'identification des principaux sucres simples est effectuée en chromatographie en phase gazeuse selon la méthode de CHESHIRE et al. (1973).

c.- Dégradation réductrice à l'amalgame de sodium (BURGES et al., 1963)

200 mg de produit sont mis en présence de 50 mg d'amalgame de sodium et de 100 ml de NaOH 1,0N, puis portés à ébullition douce sous azote pendant 3 heures. Sur le produit de réaction neutralisé, refroidi et filtré, les polyphénols totaux sont dosés par le réactif de FOLIN et DENIS (RIBEREAU-GAYON, 1968) ; les différents composés phénoliques isolés par extraction sélective à l'éther sont identifiés par chromatographie sur papier WHATMAN n° 1 (SMITH, 1960).

5.- Analyses des éléments minéraux

Une étude détaillée des cations et des composés minéraux des différents horizons du sol lessivé glossique de Thaon a été effectuée par CAILLIER (1977). Pour compléter ces données, nous avons déterminé la quantité des formes amorphes (par le réactif de TAMM, 1922) et des formes oxydes (par le réactif de MEHRA-JACKSON, 1960) sur l'endentère, les turricules et l'horizon A_1. Nous avons aussi effectué une granulométrie avec résines (ROUILLER et al., 1972) ainsi qu'une spectrométrie RX sur la fraction inférieure à 2µ de ces échantillons.

6.- Observations au microscope électronique

En vue de l'étude au microscope électronique à transmission (MET), la fixation des échantillons est faite au tétroxyde d'osmium avant inclusion dans l'épon. Les coupes sont contrastées à l'acétate d'uronyl, puis au citrate de plomb (REYNOLDS, 1963) et observées au microscope ZEISS EM 95-2 réglé à 60 kv.

DEUXIEME PARTIE

RÉSULTATS

CHAPITRE I

NATURE DU MATÉRIEL INITIAL
(Feuilles de hêtre)

1.- Composition élémentaire des feuilles

Tableau 1.- Composition élémentaire des échantillons foliaires (en ‰)

	C	N	C/N	Al	Na	K	Mn	Mg	Fe	Ca	Si	Cendres
Feuilles brunes mai 1	431	9,3	46,3	0,88	0,65	1,4	1,8	0,58	0,68	5,4	5,0	68,0
Feuilles blanchies mai 2	440	10,5	41,9	1,4	0,48	1,4	2,4	0,76	0,83	6,6	-	87,1

Ce tableau met en évidence :

- les faibles teneurs en cendres, teneurs où dominent les ions Ca et Si,
- la valeur un peu plus faible du rapport C/N des feuilles blanchies par rapport à celui des feuilles brunes, l'enrichissement relatif en azote pouvant être attribué à la colonisation mycélienne (TOUTAIN, 1974).

2.- Extractibilité des feuilles par différents solvants

a.- Extraction des feuilles brunes par les réactifs alcalins minéraux classiquement utilisés

- Effet specifique de chaque réactif :

Tableau 2.- Extractibilité des feuilles brunes par les réactifs minéraux alcalins (en % du carbone initial)

	C extr./C init.	AF/AH
Tétraborate pH 9,7	9,0	0,45
Pyrophosphate pH 10	8,0	0,54
Pyrophosphate pH 11	12,3	0,35
Soude pH 12	14,8	0,47

Les taux d'extraction obtenus sont d'autant plus forts que le pH du réactif est élevé. Le tétraborate à pH 9,7 et le pyrophosphate à pH 10 extraient des quantités de carbone assez voisines, avec une même distribution des composés de type acides fulviques et humiques (AF/AH voisin de 0,5). Le pyrophosphate à pH 11 extrait davantage de carbone et à pH plus élevé ; avec la soude à pH 12, l'extractibilité augmente encore, jusqu'à une valeur proche de 15 % du carbone total des feuilles, sans modification sensible du rapport AF/AH. Notons qu'une partie de ce carbone alcalino-soluble est hydrosoluble (de l'ordre de 12 à 15 % du carbone extrait).

- Effet cumulé des réactifs utilisés successivement

Tableau 3.- Extractibilité des feuilles brunes par les réactifs alcalins minéraux utilisés successivement (en % du carbone initial)

	C extr./C init.	AF/AH
Tétraborate pH 9,7	9,0	0,45
Pyrophosphate à pH 10	1,0	1,50
Soude à pH 12	4,3	0,54
Total	14,3	

Les traitements successifs confirment l'influence déterminante du pH sur les taux d'extraction. En effet, l'ensemble de ces traitements extrait autant de matière organique que NaOH à pH 12 utilisée seule, sans modification du rapport AF/AH, sauf dans le cas de l'extraction au pyrophosphate dont le pH de 10 reste pratiquement inopérant après la première extraction à pH 9,7.

- Influence du pH sur l'extraction du carbone et de l'azote organique (Fig. 5)

Les quantités de C et de N extraites à la soude (sous azote et à pH constant et contrôlé) augmentent progressivement avec le pH de l'extractant. Jusqu'à pH 11,5, cette croissance est progressive et l'on retrouve alors les taux d'extraction obtenus dans les conditions standard. Au-delà, on assiste à une augmentation brutale du taux d'extraction, qui atteint 30 % du carbone total dans les feuilles brunes. L'extractibilité de l'azote organique suit une courbe sensiblement identique (6 % de l'azote total à pH 10 et 32 % à pH 12).

- Influence du nombre d'extractions et du temps de contact de chaque extraction

+ Extraction à pH initial donné

12 extractions successives sur le même matériel (feuilles brunes) nous permettent de tracer les courbes représentées à la figure 6. Toutes ces courbes tendent vers des asymptotes parallèles, pratiquement dès la quatrième extraction. A pH 12, les taux d'extraction cumulés nous montrent que la moitié du carbone de la feuille est solubilisée. Les extractions répétées avec l'eau (à pH 7) solubilisent jusqu'à 8 % du carbone. Le rapport AF/AH diminue dans tous les cas avec le nombre d'extractions.

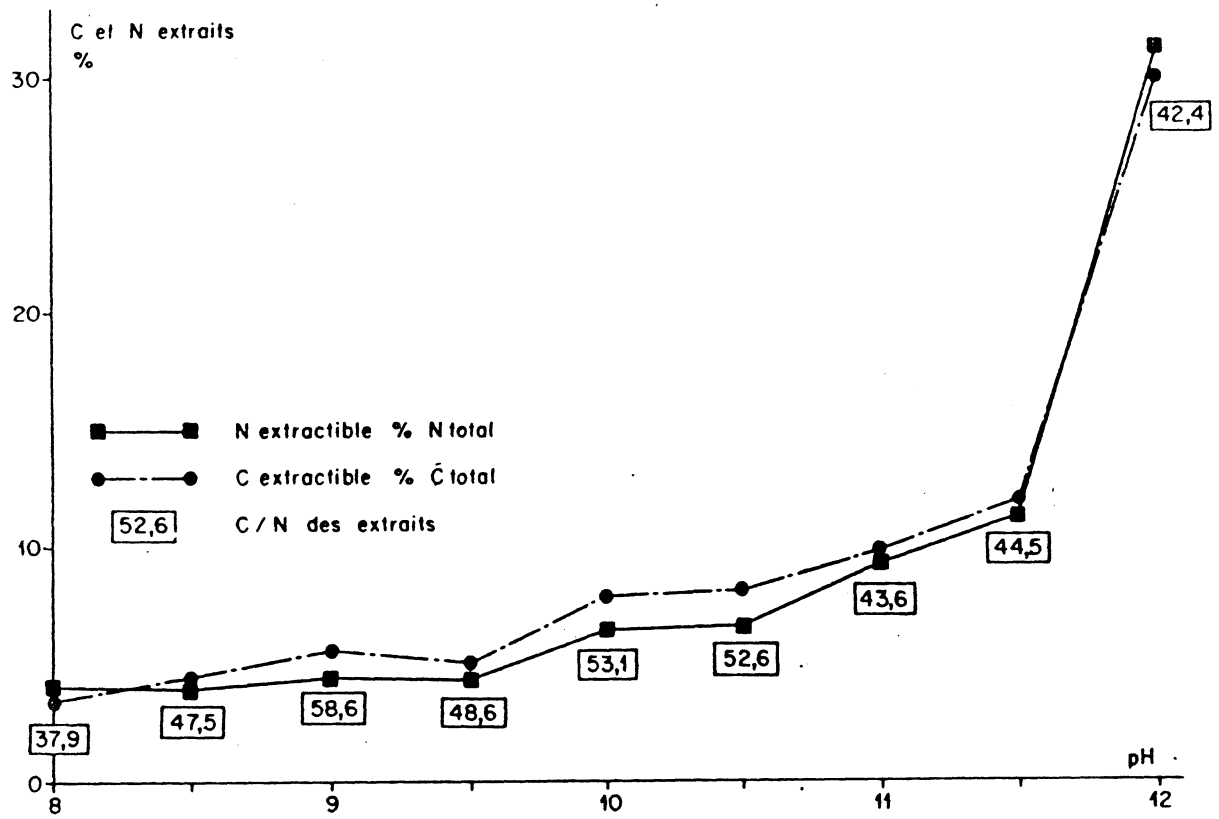


Figure 5.- Extractibilité du carbone et de l'azote des feuilles brunes en fonction du pH de la solution sodique d'extraction.

+ Extraction à pH constant et contrôlé

L'extraction à pH contrôlé par Titristop et sous azote nous donne une courbe d'allure régulière qui tend également vers une asymptote, atteinte pratiquement au bout d'une heure. La 1ère extraction solubilise l'essentiel du carbone extractible (7,0 %) ; les suivantes n'extrayant que 1,7, 1,6 et 0,9 %. sont peu efficaces.

b.- Extraction des feuilles brunes et des feuilles blanchies par les solvants organiques (tableau 4)

Tableau 4.- Extractibilité des feuilles par différents solvants organiques (en % du carbone ou de l'azote initial)

	Méthanol			Chloroforme		Acétate d'éthyle		Acétone + eau			DMFA			Total Extr. success.	
	C %	N %	C/N	C %	N%	C %	N %	C %	N %	C/N	C%	N%	C/N	C%	N%
Feuilles brunes mai 1	3,4	5,6	27,6	0,5	0	0,2	0	5,0	8,9	25,5	17,3	48,2	17,2	26,4	62,6
Feuilles blanchies mai 2	3,2	1,7	77,4	0,9	0	0,4	0	5,3	8,1	27,7	18,9	64,3	10,7	28,7	74,1
Feuilles brunes après extraction soude pH 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6,7	20,1	13,7	-	-

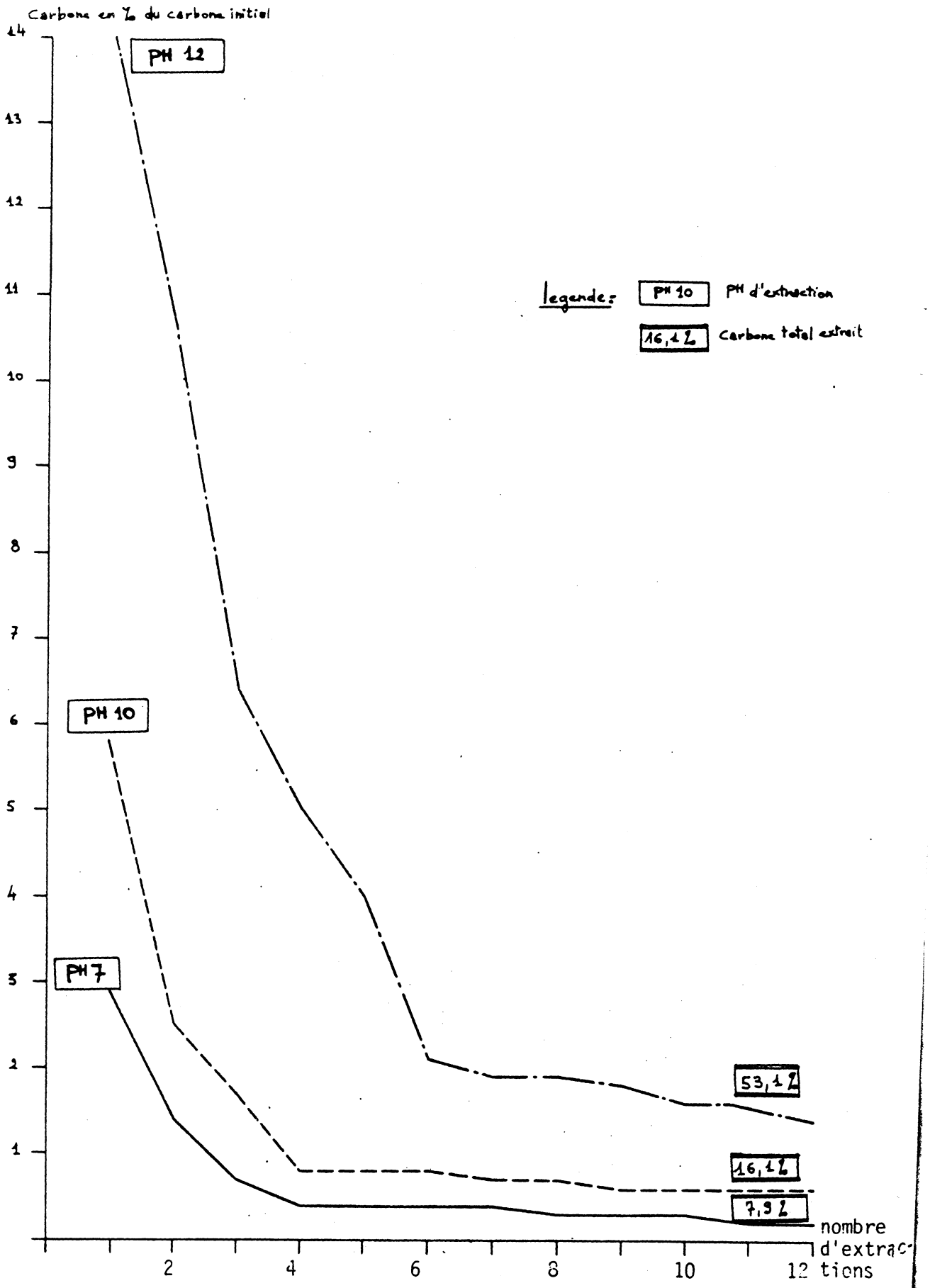


Figure 6.- Carbone extrait en fonction du nombre d'extractions à différents pH (en % du carbone initial)

L'ensemble de ces solvants extrait de l'ordre de 30 % du carbone et 60 % de l'azote (cf. Tableau 4). Les quatre premiers solvants extraient environ 10 % du carbone et de 10 à 15 % de l'azote. Dans l'extrait au méthanol, le pourcentage de carbone extrait est le même pour les deux lots de feuilles ; ce pourcentage est très différent pour l'azote (il est faible dans les feuilles blanchies). Les extraits au chloroforme (solvant des chlorophylles et des graisses) et les extraits à l'acétate d'éthyle (solvant des polyphénols et des tannins de bas poids moléculaires) sont négligeables et ne contiennent pas d'azote. Le mélange acétone-eau, qui extrait partiellement les tannins condensés, est plus efficace et solubilise, dans les deux types de feuilles, de l'ordre de 5 % du carbone et 9 % de l'azote.

Le DMFA, réactif préconisé pour l'extraction des tannins condensés THOMPSON et al., 1972), est nettement plus efficace que les différents réactifs minéraux classiques ; *il solubilise près de 20 % du carbone des feuilles, et de 50 à 60 % de l'azote*. D'ailleurs, sur les feuilles brunes préalablement traitées par NaOH à pH 12, près de 7 % de carbone supplémentaires sont encore extractibles par le DMFA, et 20 % de l'azote. Rajoutés aux 12 % déjà extraits par le traitement à la soude à pH 12, le total extrait (19 %) est supérieur à la quantité de tannins condensés extraits par le DMFA (17 %), ce qui prouve que l'extraction à la soude à pH 12 (extrayant à la fois des acides humiques et des acides fulviques) ne solubilise pas uniquement des tannins condensés ; c'est ce que nous montrent d'ailleurs les images obtenues en microscopie électronique, comme nous le verrons ultérieurement.

3.- Caractérisation des acides humiques et des extraits au DMFA

Nous avons remis en solution les extraits au DMFA floculés par l'éther dans la soude à pH 10, et constaté que plus de 95 % du carbone de ces extraits précipitaient à pH 2,5. Il s'agit donc de composés qui ont des caractères d'acides humiques, et que nous allons comparer aux acides humiques "vrais", extraits par les réactifs alcalins minéraux classiques.

a.- Analyse élémentaire des extraits (tableau 5)

Tableau 5.- Analyse élémentaire des extraits humiques obtenus par les réactifs alcalins minéraux ou par les solvants organiques (éléments en % du matériel initial). (C/H = pondéral ; C/Ha = atomique).

	C%	N %	H %	O%	C/N	C/H	C/Ha
Feuilles brunes extraits séparés							
Tétraborate à pH 9,7	55,1	2,2	6,5	36,2	25,2	8,5	0,71
Pyrophosphate à pH 10	52,9	1,7	6,4	39,0	31,7	8,2	0,69
Pyrophosphate à pH 11	54,4	1,7	6,2	37,7	31,9	8,8	0,73
Soude à pH 12	54,8	2,3	5,8	37,1	24,2	9,4	0,78
Feuilles brunes extraits successifs							
1. Tétraborate à pH 9,7	55,1	2,2	6,5	36,2	25,2	8,5	0,71
2. Pyrophosphat à pH 10	45,4	2,2	4,1	48,3	19,9	11,2	0,92
3. Soude à pH 12	54,4	1,7	7,3	36,7	35,1	7,4	0,62
Feuilles brunes extrait DMFA	58,9	3,4	8,2	29,5	17,2	7,2	0,60
Feuilles blanchies extrait DMFA	54,9	5,1	8,9	31,1	10,7	6,1	0,51
Feuilles brunes résidu d'extraction NaOH 12 extrait DMFA	51,6	3,8	7,9	36,7	13,7	6,6	0,54

- Extraits humiques obtenus par les solvants alcalins

+ Les acides humiques isolés et purifiés à partir des différentes extractions alcalines ont l'aspect de poudres brun foncé, pratiquement exemptes de cendres. Les composés extraits séparément par le tétraborate à pH 9,7 et par la soude à pH 12, ont sensiblement la même composition élémentaire, et sont plus riches en azote que ceux extraits au pyrophosphate de sodium à pH 10 et à pH 11. Leurs teneurs en hydrogène sont voisines et proches de 6 %, ce qui traduit un caractère aliphatique prononcé du matériel d'origine foliaire.

+ Lorsque ces réactifs sont utilisés successivement, on note que le pyrophosphate à pH 10, qui n'extrait plus, rappelons-le, que 1 % du carbone initial, tend à extraire sélectivement des composés pauvres en hydrogène.

- Extraits obtenus par les solvants organiques et en particulier le DMFA

L'extraction au DMFA se différencie très nettement de celles obtenues avec les réactifs minéraux :

+ Le taux d'extraction du carbone est nettement plus élevé,
+ Le taux d'azote extrait augmente encore davantage,
+ Le C/N est près de 2 fois plus faible qu'avec une extraction à la soude pH 12.

C'est la confirmation de l'efficacité spécifique du DMFA vis-à-vis des tannins associés à une charge protéique élevée. Il faut aussi remarquer que la quantité de carbone extraite par le DMFA à partir des feuilles blanchies est du même ordre de grandeur que celle obtenue avec les feuilles brunes, la quantité d'azote étant nettement plus élevée. Ceci prouve, étant donnée la spécificité de l'extraction au DMFA, que les produits de type pigments bruns transformés par les pourritures blanches, ont encore des caractéristiques de tannins condensés.

b.- Caractérisation fonctionnelle des composés extraits

- Spectroscopie UV visible

Tableau 6.- Valeurs du rapport Q 4/6 des différents extraits des feuilles

	Q 4/6
Extraction par les réactifs minéraux alcalins	
Feuilles brunes : extractions séparées	
Tétraborate à pH 9,7	4,9
Pyrophosphate à pH 10	5,9
Pyrophosphate à pH 11	5,1
Soude à pH 12	5,8
Feuilles brunes : extractions successives	
Tétraborate à pH 9,7	4,9
Pyrophosphate à pH 10	2,7
Soude à pH 12	3,6
Extraction par le DMFA	
Feuilles brunes	8,7
Feuilles blanchies	9,3
Feuilles brunes, extrait à pH 12, puis au DMFA	10,5

Les spectres d'absorption en lumière ultra-violette et en lumière visible des divers composés extraits présentent une même allure monotone, de type hyperbolique. Des absorbances à 470 et 660 nm (FLAIG, 1970), on peut calculer les rapports Q 4/6 de ces divers composés. Le tableau 6 montre qu'il n'y a pas de différence significative entre ces rapports lorsque les réactifs alcalins minéraux sont utilisés indépendamment, mais lorsque ces réactifs sont employés successivement, les produits obtenus au-delà de la première extraction ont des rapports Q 4/6 nettement inférieurs aux précédents, ce qui traduit un degré supérieur de polycondensation. Quant aux extraits au DMFA, ils se différencient nettement des extrais alcalins précédents par des Q 4/6 beaucoup plus élevés, ce qui est en accord avec le caractère aliphatique mis en évidence par analyse élémentaire.

Dans l'ultra-violet, tous les extraits présentent des spectres de même allure générale (Figure 7), avec deux maxima, l'un à 280 nm, l'autre à 330 nm, attribués respectivement aux noyaux phénoliques, et à la formation de composés d'addition de type mélanine entre les groupements aminés des protéines et les noyaux aromatiques (YASUNOBU et al., 1959 ; ANDREUX et al., 1979). Ces maxima sont d'autant plus nets que le pH d'extraction est plus élevé et donc que l'efficacité du réactif est plus grande. Lorsque les spectres sont rapportés à une même concentration en carbone, on note un accroissement progressif, avec le pH, du maximum situé à 320-330 nm. Cette augmentation est progressive de pH 8 à pH 11,5, puis brutale à pH 12. Nous reviendrons ultérieurement sur l'interprétation de ce résultat.

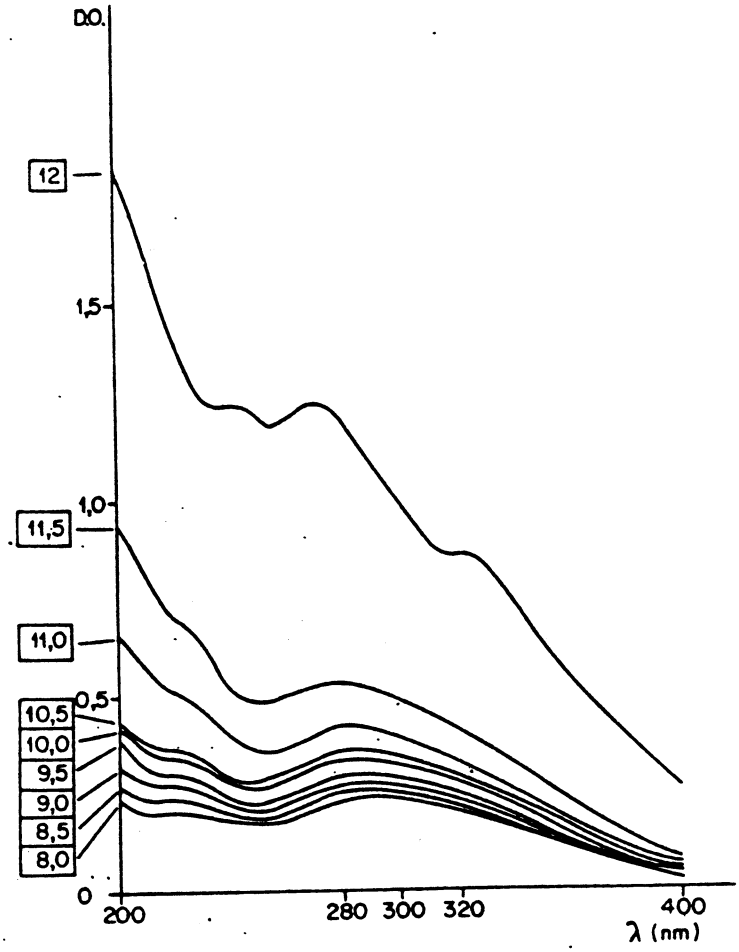


Figure 7.- Spectres UV et visible des différents extraits alcalins de feuilles brunes à différents pH.

- Spectroscopie infra-rouge (Figure 8)

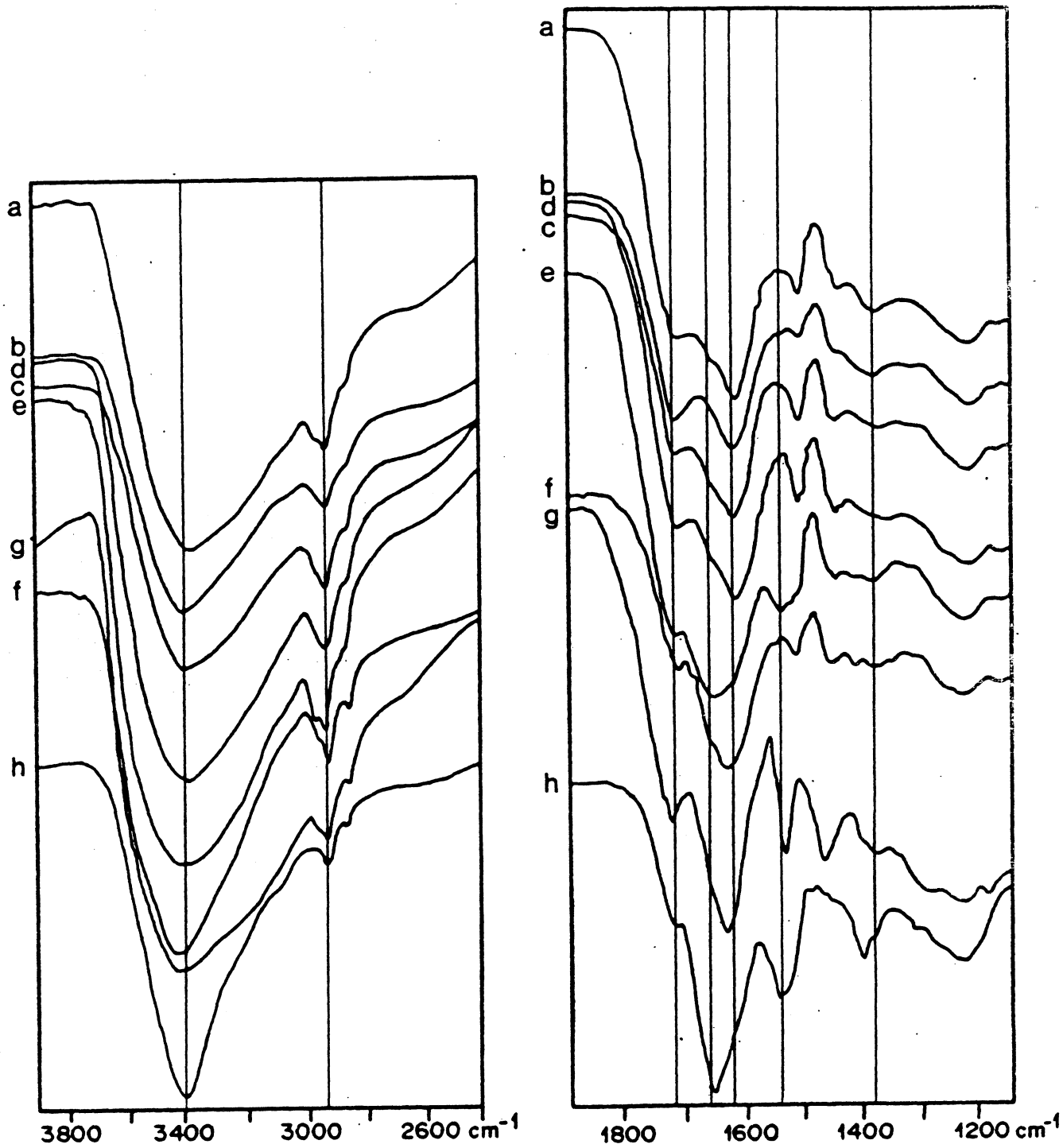


Figure 8.- Spectres I.R des différents extraits des feuilles brunes (a à h)
a. Feuilles brunes extrait soude à pH 10
b. Feuilles brunes extrait pyrophosphate à pH 10, après a.
c. Feuilles brunes extrait soude à pH 12
d. Feuilles brunes extrait au DMFA
e. Feuilles blanchies extrait soude à pH 10
f. Feuilles blanchies extrait au DMFA
g. Résidu d'hydrolyse chlorhydrique de l'extrait DMFA sur feuilles brunes
h. Polycondensat synthétique catéchol-diglyclyglycine

Seul l'examen des régions 3800-2400 cm^{-1} et 2000-1000 cm^{-1} est susceptible d'apporter quelques informations concernant la nature chimique des composés extraits (Figure 9).

Tous les extraits présentent un massif important entre 3500 et 3200 cm^{-1} caractéristique des divers groupements -OH associés, plus ou moins hydratés.

Leur caractère aliphatique est généralement très prononcé, et se traduit par l'existence systématique de maxima à 2840, 2920 et 2960 cm^{-1}. L'intensité de ces maxima varie cependant d'un échantillon à l'autre :

- en ce qui concerne les feuilles brunes, elle est élevée dans les extraits humiques obtenus à pH 10 et à pH 12, ainsi que dans les extraits au DMFA (Figure 8 a, c et d) ; elle est moins prononcée dans l'extrait obtenu par le pyrophosphate à pH 10, après extraction à la soude au même pH (figure 8 b) ;

- en ce qui concerne les feuilles blanchies, les bandes propres aux groupements aliphatiques sont pour un même traitement, systématiquement plus intenses que dans le cas des feuilles brunes (figure 8 e).

La bande à 1610-1625 cm^{-1}, rencontrée dans tous les spectres de phytomélanines et d'acides humiques (TOLLIN et STEELINK, 1966) possède une origine complexe : elle semble en effet résulter de la superposition des bandes propres aux groupes >C=O α-β conjugués et >C=C< éthyléniques et aromatiques, ainsi qu'à celle de la vibration antisymétrique des groupements $-COO^-$, qui n'apparaît cependant intense que lorsque les composés sont salifiés (ANDREUX et al., 1979). Ceci est vérifié par le fait qu'en général, le maximum d'absorption à 1390 cm^{-1} dû aux vibrations symétriques des $-COO^-$, est relativement peu prononcé.

Tous les échantillons étudiés ici présentent, dans ces bandes, des allures comparables. Le maximum observé à 1720 cm^{-1} définit la vibration des groupements >C=O carboxyliques, il est susceptible de disparaître par salification. Son intensité relative est sensiblement plus prononcée pour les composés extraits au pyrophosphate à pH 10 (figure 8 b), que pour ceux extraits avec la soude ou le DMFA (Figure 8 a, c, d).

L'examen des régions correspondant aux bandes amide I (1670 cm^{-1}) et amide II (1540 cm^{-1}) des liaisons peptidiques montre, pour les feuilles brunes, des épaulements peu prononcés dans le cas des extraits avec les réactifs alcalins minéraux ; à cet égard, le spectre de l'extrait au DMFA est pratiquement identique. Les extraits obtenus à partir des feuilles blanchies mettent par contre en évidence une contribution beaucoup plus importante de ces bandes, surtout dans les extraits alcalins minéraux (Figure 8 e). Les pics à 1540 cm^{-1} et 1670 cm^{-1} sont alors très intenses. Ce dernier se superpose aux maxima à 1720 et 1620 cm^{-1}, qu'il parvient à masquer en partie ; un phénomène analogue est obtenu dans le cas d'un polycondensat synthétique catéchol-diglyclylglycine (figure 8 h) (ANDREUX et al., 1979). Le maximum situé à 1540 cm^{-1} est nettement développé ; on note qu'il tend à se superposer à un pic voisin, situé à 1520 cm^{-1} présent dans les spectres de tous les autres extraits. Ce dernier, d'attribution incertaine, ne correspond pas aux structures polypeptidiques, car il demeure présent après hydrolyse acide (figure 8 h).

En conclusion de cette étude spectroscopique, nous constatons que les spectres de ces différents extraits sont très comparables à ceux obtenus à partir des mélanoprotéines d'origine biologique (RUSSEL et al., 1980).

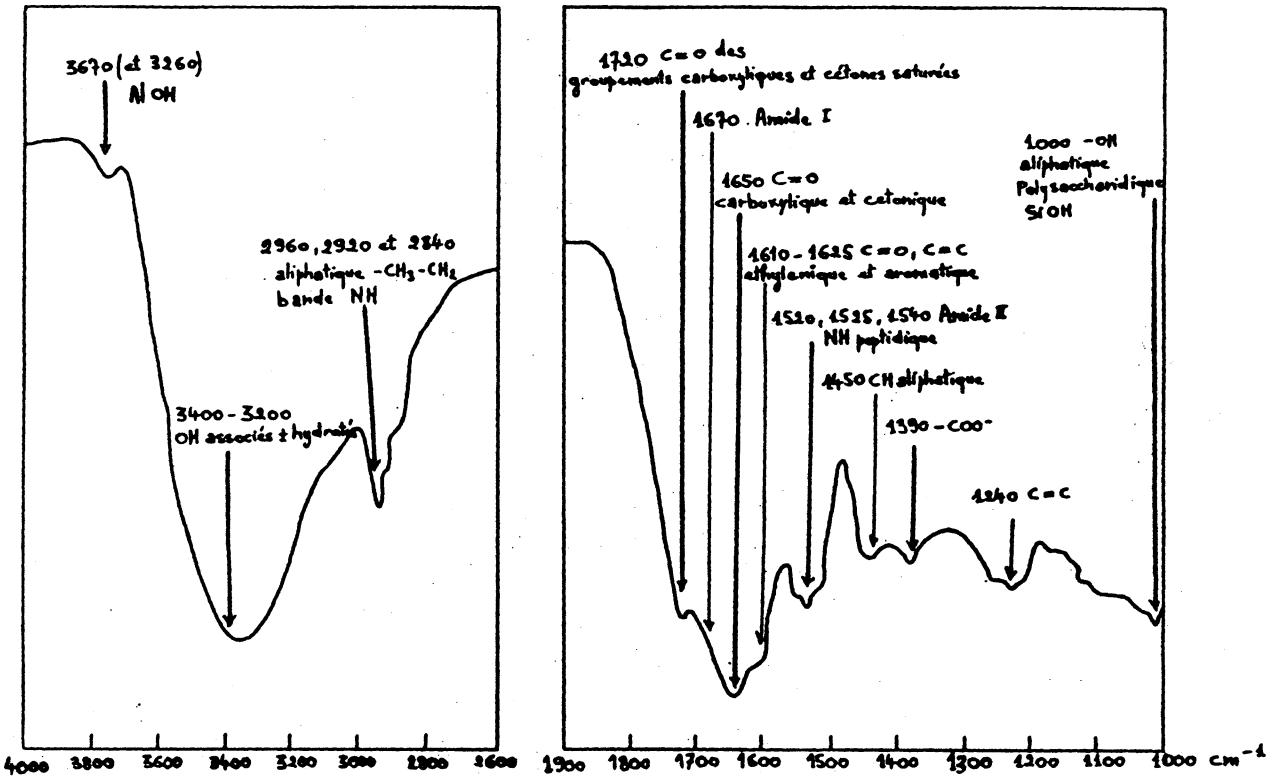


Figure 9.- Principales bandes d'absorption infra-rouge, caractéristiques, rencontrées dans les acides humiques (SCHNITZER et KHAN, 1972 ; FLAIG, 1970).

c.- Dosage des groupements fonctionnels acides

La comparaison des acidités titrables est effectuée sur les acides humiques des feuilles brunes, extraits par NaOH à pH 10 et NaOH pH 12.

Tableau 7.- Acidités titrables à divers pH des acides humiques extraits à la soude pH 10 et à la soude pH 12 (en m.e./g).

	Acidité I pH 4,5	Acidité II pH 8,5	Acidité III pH 10	Acidité totale pH 10
Soude pH 10	0,85	2,44	0,04	3,36
Soude pH 12	0,84	1,88	0,87	3,59

Les deux extraits présentent une distribution équivalente des acidités titrables à pH 4,5, attribuables aux groupements -COOH les plus dissociés. Par contre, les acidités titrables à pH 8,5, attribuées généralement aux groupements phénoliques acides, sont légèrement plus faibles pour l'extrait à pH 12 que pour l'extrait à pH 10. Les acidités titrables à pH 10 sont par contre très différentes et très supérieures pour l'extrait à pH 12, indiquant l'apparition de composés présentant des acidités faiblement dissociées et de type phénolique, par la mise en oeuvre de réactions d'oxydation.

d.- Constituants chimiques identifiables

Les méthodes de dégradation chimique n'ont été appliquées qu'aux composés extraits par le DMFA.

- Hydrates de carbone

L'hydrolyse sulfurique des polycondensats (tableau 8) met en évidence le faible taux de carbone hydrolysable des polycondensats de feuilles brunes (21 %), dont 10 % environ sont attribuables à des sucres réducteurs. Dans les feuilles blanchies, la résistance à l'hydrolyse est moindre, et la quantité de sucres réducteurs obtenus est légèrement supérieure à celle des feuilles brunes.

La chromatographie en phase gazeuse permet d'identifier les monosaccharides suivants : pour les feuilles brunes : glucose, galactose et mannose, et pour les feuilles blanchies : ces mêmes sucres auxquels il faut ajouter xylose, ribose, arabinose, fucose et rhamnose. Ces différences sont sans doute à mettre en relation avec l'importante colonisation microbienne subie par les feuilles blanchies.

- Constituants azotés

Les résultats de l'hydrolyse chlorhydrique (tableau 8) montrent que, contrairement au carbone, une grande partie de l'azote des polycondensats (80 % environ) est hydrolysable dans les deux types de feuilles.

Tableau 8.- Répartition des différentes formes de carbone et d'azote dans les extraits DMFA de feuilles brunes et de feuilles blanchies après hydrolyse acide.

	C hydrolysable % C total				N hydrolysable % N total			
	Sucres	Phénols	Phénols m.e./g	Total	N NH_4^+	N αNH_2	N n.i.	Total
Feuilles brunes	2,2	0,5	0,28	21,0	5,1	54,2	19,2	78,2
Feuilles blanchies	4,0	0,7	0,37	30,1	0,4	24,8	54,9	80,1

Dans les feuilles brunes, 50 % de l'azote se retrouve sous forme α-aminée et 5 % sous forme ammoniacale. Dans les feuilles blanchies, la part de l'azote α-aminé n'exède pas 15 %. Les fortes teneurs en azote non identifié, notamment dans le cas des feuilles blanchies, proviennent, outre la présence d'une petite proportion d'amino-acides basiques, de la production de produits de recombinaison, inhérente au traitement d'hydrolyse (JOCTEUR MONROZIER et ANDREUX, 1981), ces recombinaisons faisant principalement intervenir les composés saccharidiques et protéiques (JAMES, 1972). De plus, la colonisation par la microflore fongique est très probablement à l'origine de la formation de ces composés azotés

complexes. Quant à l'azote non hydrolysable, il pourrait provenir des résidus amino-acides N-terminaux les plus solidement fixés sur la structure polycondensée (HAIDER et al., 1965).

- Constituants phénoliques

+ Les monomères phénoliques produits par dégradation à l'amalgame de sodium des résidus d'hydrolyse acide des feuilles brunes représentent moins de 1 % du carbone total ; ils sont un peu plus abondants dans le cas des feuilles blanchies. Les fonctions phénoliques réductrices représentent environ 0,3 m.e./g, valeur très inférieure à celle de l'acidité titrée à pH 8,5, habituellement attribuée aux fonctions phénoliques acides, mais on sait que le rendement de cette méthode est toujours très faible (BURGES et al., 1963).

+ L'identification chromatographique de ces composés (Figure 10) met en évidence la plupart des composés habituellement trouvés dans les acides humiques naturels (CARBALLAS et al., 1972). Dans les deux cas (feuilles brunes et feuilles blanchies), nous avons identifié le phloroglucinol, le résorcinol, le catéchol, l'hydroquinone et les acides parahydroxybenzoïque et protocatéchique. Les acides vanillique et ferrulique n'ont pu être mis en évidence qu'à partir du matériel blanchi.

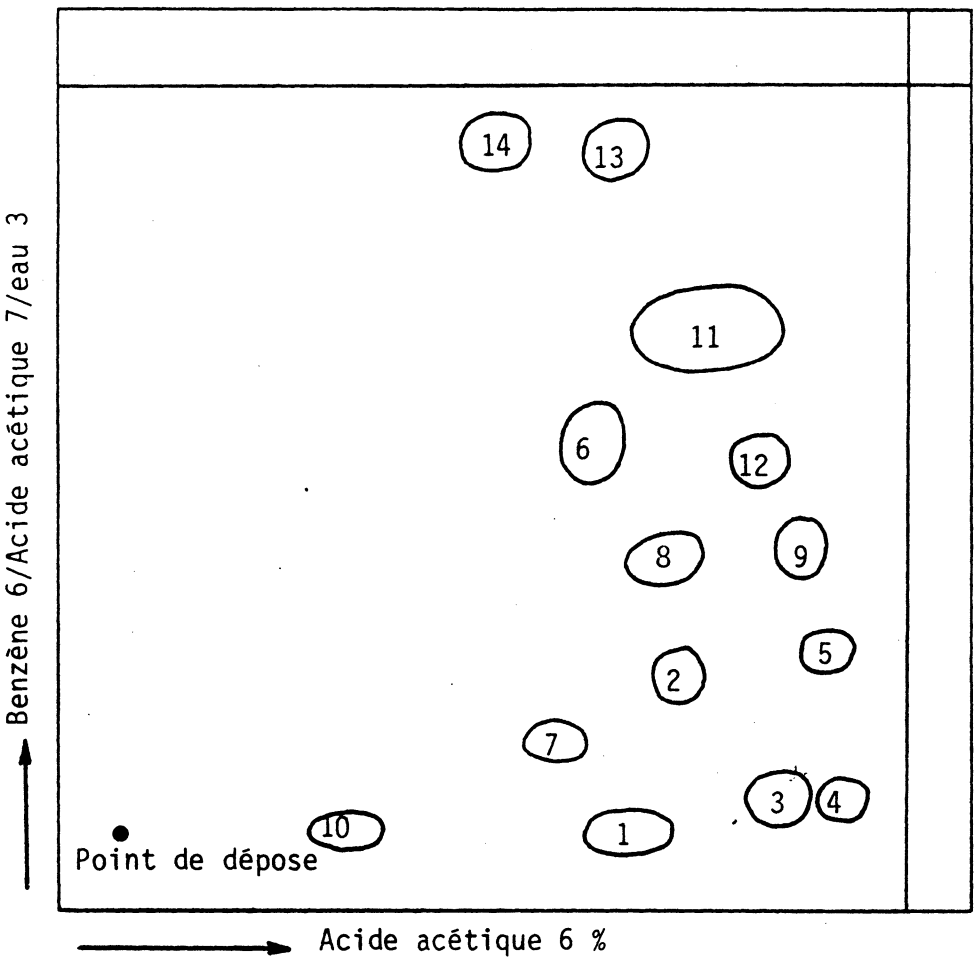
+ Ces résultats tendent à souligner la prédominance, dans les deux types de feuilles, des composés phénoliques dérivant des tannins condensés, ainsi que la participation probable dans le cas des feuilles blanchies, de certains dérivés de la lignine tels que l'acide férulique.

4.- Modifications ultrastructurales apportées par les diverses extractions

a.- Observation du matériel initial

Les cellules des tissus épidermiques et parenchymateux des feuilles brunes récoltées au mois de mai ont une membrane pecto-cellulosique bien reconnaissable présentant une zone externe grise et une zone interne plus claire. La partie interne de la cellule est occupée pour une grande part par des produits opaques aux électrons, qui se présentent soit sous forme d'enduits disposés contre la paroi interne, soit sous forme d'amas globulaires irréguliers (Photo 1). Bien que les membranes pectiques existent encore, les cellules des tissus palissadiques présentent entre elles de grands méats, les membranes s'étant rétractées autour des amas opaques aux électrons. Les épaississements lignifiés des vaisseaux du bois ou des fibres du sclérenchyme sont gris clair et régulier (Photo 2).

Les cellules des tissus épidermiques et parenchymateux des feuilles blanchies ont une morphologie ultrastructurale assez différente des précédentes (Photo 3) : mince membrane cellulosique déjà fortement altérée, éclaircissement généralisé des produits initialement opaques aux électrons (enduits et amas globulaires), présence fréquente de filaments mycéliens vivants ou morts à l'intérieur des cellules. Les épaississements des tissus lignifiés peuvent ne présenter aucune trace d'altération ou, au contraire, être envahis par des hyphes de champignons ligninolytiques.



- 1.	Phloroglucinol	Orange	Brun-orangé
- 2	Résorcinol	Orange	Brun-orangé
- 3		Brun	Brun
- 4			Violet
- 5		Rouge	Rouge pourpre
- 6	Parahydroxybenzoïque	Jaune	Rouge
- 7	Acide protocatéchique	Jaune	Gris violacé (décoloré)
- 8		Orange clair	Jaune clair
- 9		Orange clair	Jaune clair
- 10	Hydroquinone ? Acide gallique ?		
- 11		Jaune	Violet
- 12	Catéchol	Jaune	Gris blanc
- 13	Acide vanillique	Jaune	Violet
- 14	Acide ferrulique	Rouge	Gris blanc

Figure 10.- Chromatogramme des composés phénoliques provenant de la réduction à l'amalgame de sodium des extraits au diméthylformamide.

PLANCHE I

Photo 1 - Feuille brune initiale : Cellule du parenchyme lacuneux, avec enduit pariétal et amas globulaire opaques aux électrons (Pb) (M.E.T.)

Photo 2 : Feuille brune initiale : Vaisseaux du bois et fibres du sclérenchyme avec épaississements lignifés (Ep) intacts (M.E.T.)

Photo 3 : Feuille blanchie initiale : Cellule épidermique avec filaments mycéliens (Fm) (M.E.T.)

Photo 4 : Feuille brune après extraction par NaOH à pH 10 : Eclaircissement et dissolution partielle des produits opaques aux électrons (M.E.T.), membrane pecto-cellulosique intacte.

Photo 5 : Feuille brune après extraction par NaOH à pH 12 : Disparition quasi totale des produits opaques aux électrons, membrane pecto-cellulosique très altérée (M.E.T.)

Photo 6 : Feuille brune après extraction par NaOH à pH 12 : Epaississements lignifiés (Ep) fortement altérés (M.E.T.)

Photo 7 : Feuille brune après extraction par le DMFA : Cellule du parenchyme lacuneux, dissolution partielle des produits opaques aux électrons, membrane pecto-cellulosique intacte (M.E.T.)

Photo 8 : Feuille brune après extraction par le DMFA : Fibres du sclérenchyme avec épaississements lignifiés (Ep) intacts (M.E.T.)

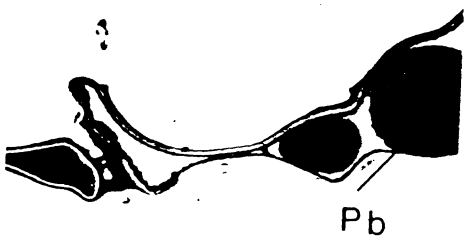


Photo 1

3 µ

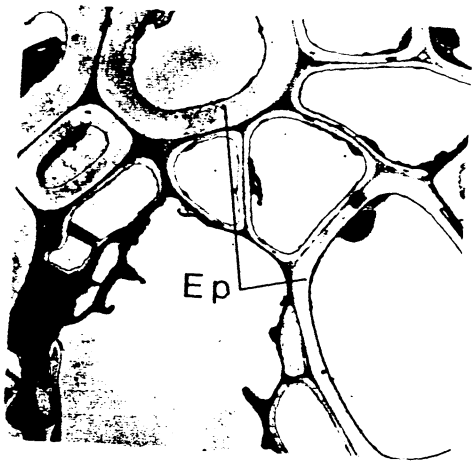


Photo 2

5 µ

Photo 3

4 µ

Photo 4

3 µ

Photo 5

6 µ

Photo 6

4 µ

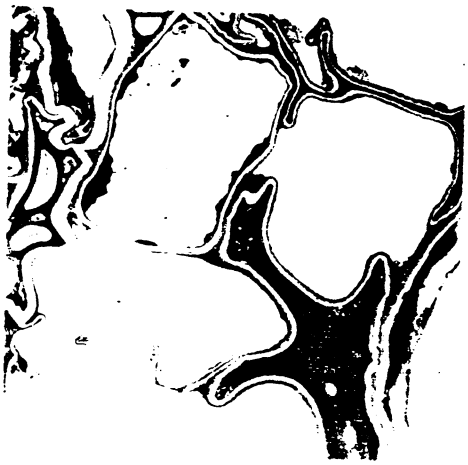


Photo 7

7 µ

Photo 8

5 µ

PLANCHE 1

b.- Observation du matériel végétal après extractions

- Extractions à pH 10

Après extraction à la soude à pH 10, les cellules ont repris une allure turgescente. Les membranes ne semblent pas altérées. Les produits initialement opaques aux électrons se sont éclaircis et remplissent la lumière interne des cellules de façon pratiquement homogène (Photo 4). Les épaississements lignifiés du bois et des tissus de soutien ne semblent pas altérés.

- Extractions à pH 12

Après extraction à la soude à pH 12, les cellules sont très turgescentes et présentent, pour la plupart, d'importantes modifications ultrastructurales (Photo 5) : la membrane pecto-cellulosique présente de très nombreux granules opaques aux électrons, le contenu cytoplasmique s'est totalement vidé des enduits et des amas sombres, présents dans le matériel initial. Les épaississements lignifiés se sont fortement dilatés et transformés (Photo 6).

- Extractions par le DMFA

Les images obtenues après extractions au DMFA rappellent celles obtenues par l'extraction à pH 10 : on retrouve des cellules turgescentes à membrane non altérée et à contenu cellulaire moins opaque aux électrons que le matériel initial (Photo 7). Les épaississements lignifiés ne semblent pas altérés (Photo 8).

Ces observations faites en microscopie électronique permettent donc de différencier l'action des réactifs d'extraction à divers pH :

- Les extractions à pH supérieur ou égal à 12 provoquent de fortes perturbations dans l'ultrastructure des membranes, des contenus intracellulaires et des épaississements lignifiés,

- les extraits à la soude à pH moins alcalin, ou au DMFA, permettent d'extraire une partie des produits opaques aux électrons, sans altérer les produits d'origine cellulosique ou lignifiée.

5.- Discussions et conclusions sur la caractérisation des pigments bruns des feuilles de hêtre

a.- Extraction différentielle et analyse ultrastructurale

- *L'observation au microscope électronique à transmission (MET) montre que dans les feuilles brunes, les pigments bruns sont opaques aux électrons. Ils se présentent soit sous forme de revêtements adhérant aux parois cellulaires internes, soit sous forme de globules arrondis, remplissant une partie du vide intracellulaire.*

- *Le traitement alcalin modifie la localisation de ces pigments.* A pH modéré inférieur ou égal à 10, on assiste à leur dissolution partielle (environ 10 % du poids de la feuille), alors que les parois cellulaires sont épargnées. Les pH plus élevés, supérieurs ou égaux à 12, semblent plus efficaces, mais altèrent les tissus cellulosiques et lignifiés. Cette observation rejoint celle effectuée par BRUCKERT et KILBERTUS (1980) sur les cellules bactériennes. Ainsi, après attaque sodique à pH 12 répétée à froid,

on parvient à solubiliser environ 50 % du poids des feuilles sous forme d'un mélange complexe dans lequel la part des pigments devient difficile à évaluer. Par contre, *le DMFA extrait près de 20 % du poids des feuilles sous forme de pigments bruns,* sans dénaturation apparente des structures végétales, malgré le chauffage prolongé à 120°C.

b.- Nature chimique des produits extraits

- Cas général des feuilles brunes

+ Extraction par les réactifs alcalins minéraux

Ces extraits présentent des propriétés spectrales (UV visible et IR) et des compositions chimiques, qui les rapprochent des composés de type acides humiques. Il s'agit de *polycondensats,* comme le confirme leur exclusion sur colonne de gel de dextrane "Sephadex G 100". *Ces polycondensats sont des polyacides dont la solubilité dépend du pH :* le dosage global des composés extraits à des pH variant entre 8 et 12 confirme les observations ultramicroscopiques et montre que leur extractibilité augmente considérablement au-delà de pH 11,5, sans modification importante du rapport C/N global de l'extrait. L'acidité carboxylique des composés ainsi isolés varie peu en fonction du pH d'extraction, tandis que leur acidité totale augmente, en raison surtout de la présence de fonctions faiblement dissociables.

L'augmentation du pH d'extraction a également un effet qualitatif : elle tend à accroître à la fois le caractère aliphatique et protéique des pigments extraits, fait déjà signalé par VAN DER LINDEN (1971). Ces matériaux protéiques sont, au moins en partie, inclus dans les pigments. *L'existence de dérivés d'addition entre composés protéiques et phénoliques est mise en évidence d'une façon particulièrement nette, en spectroscopie UV, par la présence d'un maximum d'absorption à 320 nm. Ce maximum fréquent dans les polycondensats de type humique (YASUNOBU et al., 1959 ; ANDREUX et al., 1979) est caractéristique des pigments mélaniques.*

+ extraits isolés par le DMFA

Malgré leur richesse supérieure en azote en en hydrogène, *ces extraits présentent des caractéristiques spectrales très comparables à celles des composés extraits par la soude à pH 10. La teneur élevée de leurs hydrolysats en amino-acides, et la nature des monomères phénoliques, présents dans les produits de dégradation de leurs résidus d'hydrolyse, suggère que ces pigments sont essentiellement du type "complexes polyphénols-protéines". La grande analogie existant entre les spectres infra-rouge des résidus d'hydrolyse de ces pigments et ceux des tannins condensés (MINDERMAN, 1979), traduit la participation probable d'une quantité importante de tannins condensés à leur élaboration.*

- Cas des feuilles blanchies

Le phénomène de blanchiement des litières à certains stades de leur évolution est sans équivoque en relation avec leur colonisation par la microflore fongique (pourritures blanches), qui dégrade les pigments bruns (MANGENOT, 1975 ; REISINGER et al., 1978), *mais il est intéressant et important de noter que l'extraction spécifique au DMFA extrait au moins autant de carbone, et donc de tannins condensés dans le matériel blanchi, que dans les feuilles brunes initiales ; il est vrai que ces tannins sont beaucoup plus riches en composés protéiques attribuables, très probablement, à la présence ou à l'action de la microflore fongique.*

c.- Remarques sur la spécificité des méthodes utilisées pour l'isolement de ces substances

Le but de cette étude a été d'extraire sélectivement et de caractériser les composés préhumiques présents dans la feuille de hêtre. Cette démarche se heurte aux difficultés classiques soulevées à la fois par la sélectivité et l'efficacité des réactifs d'extraction, sans oublier les risques de néoformation.

Compte tenu de l'altération des parois cellulaires à pH 12, nous avons discuté de l'interprétation de l'augmentation des composés d'addition amino-phénoliques, parallèlement à celle du taux d'extraction. Il s'agit sans doute de composés hautement polycondensés, préexistant à l'état fortement adsorbé sur les parois internes des cellules, par suite du pH élevé du réactif d'extraction, mais sans doute aussi de produits de réaction des résidus de protéines structurales sur les polyphénols provenant à la fois des pigments et de la lignine.

La méthode que nous avons retenue pour l'extraction dans les débris végétaux (feuilles, pelotes fécales, etc...) est fondée sur les arguments tirés de l'extraction sélective des tannins aux DMFA, comparée aux réactifs alcalins minéraux classiques. *La soude à pH inférieur ou égal à 10 extrait des composés proches de ceux extraits au DMFA, sans altération décelable des structures végétales. C'est donc ce type d'extraction que nous avons utilisé tout au long de ce travail, pour caractériser les transformations apportées par le brassage pédo-intestinal des vers de terre, bien que ce réactif n'extrait seulement qu'une partie de ces produits.*

CHAPITRE II

ÉVOLUTION DU MATÉRIEL INITIAL AU COURS DU BRASSAGE PÉDO-INTESTINAL

I.- CARACTERISATION GLOBALE DES TURRICULES

1.- Morphologie

L'examen micromorphologique de l'horizon A_1 révèle la présence de nombreuses déjections, dont des turricules au sein même de cet horizon. Il semble intéressant de caractériser globalement ces constructions d'origine biologique, et de les comparer à l'horizon A_1.

Tableau 9.- Caractérisation globale (pH, teneur en carbone et C/N) des turricules et de l'horizon A_1 de la station

	pH	C %	C/N
Turricules	5,3	8,6	20,4
Horizon A_1	4,2	3,1	22,2

Dans les turricules, le pH est plus élevé que dans l'horizon A_1 (de l'ordre d'une unité pH), la teneur en matière organique est 2 fois et demie plus forte et le rapport C/N un peu plus bas que dans l'horizon A_1. Le turricule présente donc des caractéristiques originales par rapport à l'horizon A_1.

2.- Descriptions micromorphologiques

Dans le sol, les déjections de vers de terre apparaissent comme des agrégats bien structurés, de taille variable (selon les espèces, de quelques millimètres à 1 ou 2 centimères). Ces agrégats ont une forme globalement sphérique ou polyédrique, avec des limites légèrement arrondies.

Sur lame d'humus, les turricules de vers de terre sont très facilement reconnaissables (cf. photos 9 et 10). En effet, les turricules injectés entre les feuilles ou par dessus les feuilles ne respectent pas la stratigraphie habituelle des humus. Sur la coupe ici représentée (photo 9), on observe une série d'agrégats sub-circulaires,de la taille du demi centimètre ou du centimère. Ces agrégats, juxtaposés les uns aux autres, ont été injectés entre des couches de feuilles entières (feuilles brunes et feuilles blanchies) et de débris végétaux (on reconnaît ici la coupe d'une faine et d'une cupule).

A plus fort grossissement (photo 10), on constate que ces agrégats sont constitués par un mélange intime d'éléments minéraux et de fragments de feuilles juxtaposés. L'observation en lumière polarisée permet de reconnaître des éléments minéraux, des grains de quartz, des feldspaths, et quelques rares amphiboles. L'observation des débris végétaux montre qu'il s'agit surtout de débris foliaires de quelques millimètres, sans nervures principales. Ces morceaux de feuilles fragmentées ne sont pas altérés, et on peut y distinguer, par éclairage en lumière ultra-violette (cf. BRUN, 1978), les fragments de feuilles brunes, dont la fluorescence des parois cellulosiques est masquée par l'abondance de pigments bruns, et les fragments de feuilles blanchies par les pourritures blanches, dont les membranes cellulosiques apparaissent nettement fluorescentes. Ces fragments de feuilles sont incorporés dans une véritable pâte hétérogène, constituée d'éléments minéraux fins et de débris végétaux pulvérisés. Le contact matière végétale-matière minérale est intime.

Dans une station telle que celle de Taon, où l'activité des vers anéciques (et en particulier celle de *Nicodrilus velox)* est intense, l'ensemble des turricules ainsi décrits et des déjections de vers de terre représente deux à trois centimères d'épaisseur sous et dans la litière.

Photo 9 5 mm

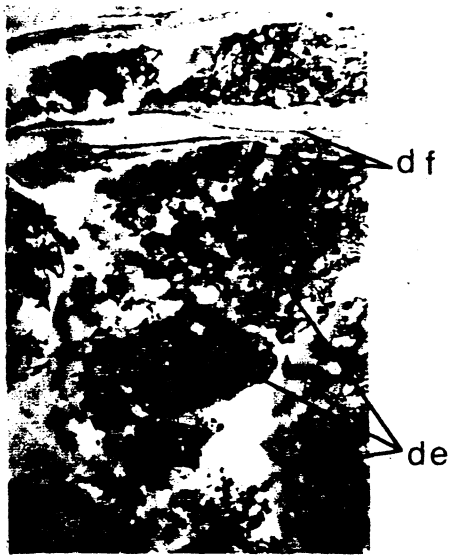


Photo 10 25 mm

Photo 9 : Lame d'humus d'un mull à forte activité de vers de terre (*Nicodrilus velox*) : de = déjections, df = débris foliaires.

Photo 10 : Lame d'humus d'un mull à forte activité de vers de terre (*Nicodrilus velox*) : de = déjections, df = débris foliaires.

3.- Fractionnement de la matière organique des turricules

Tableau 10.- Répartition de la matière organique des turricules dans les différentes fractions (>100µ,50-100µ et <50µ).

Fractions	C%	C/N	C/C initial en %
> 100 µ	11,7	34,1	30,0
50-100 µ	6,3	19,6	13,0
< 50 µ	8,2	16,3	57,0

+ Un tiers du carbone du turricule se retrouve dans la fraction supérieure à 100µ (avec un rapport C/N de 34, ce qui montre qu'il s'agit surtout de débris organiques frais, seulement fragmentés).

+ 13 % dans la fraction intermédiaire 50-100µ à C/N de 20 et 57 %, soit plus de la moitié, dans la fraction fine inférieure à 50µ avec un rapport C/N encore assez élevé (16), ce qui laisse supposer l'existence d'une certaine incorporation de matière organique fraîche dans cette fraction humifiée (BRUN, 1978).

Ces résultats montrent que le turricule présente une certaine organisation structurale, et que le carbone et l'azote ont une répartition variable, suivant les fractions.

a) La dissolution acide

Il est courant de déplacer les complexes organo-minéraux par acidification préalable dans les sols contenant des carbonates ; or, différents auteurs (BAL, 1977 ; BOUCHE, 1972) rapportent l'existence, dans les déjections de vers de terre, de cristaux de calcite excrétés par les glandes de Morren. En fait, cette attaque acide ne met en solution qu'une faible quantité de matière organique (1,8 % du carbone initial), ce qui montre que le calcium n'intervient pas dans l'agrégation.

b) La séparation densimétrique au bromoforme-alcool

Ce traitement vise à séparer, par flottaison, la matière organique fraîche et légère de la fraction inférieure à 50µ. Le résultat est négligeable sur le plan quantitatif, puisqu'il fait remonter moins de 0,1 % du carbone initial de la fraction. Une deuxième séparation densimétrique, après traitements par ultrasons, est aussi inefficace (toujours moins de 0,1 % du carbone initial de la fraction). Dans le cas des déjections de vers de terre, on ne peut donc séparer, avec nos techniques habituelles, l'humine vraie des restes figurés (matière organique fraîche et humine héritée).

c) Extractions par les réactifs alcalins minéraux

Ces réactifs sont ceux préconisés par BRUCKERT et al. (1979). Ils sont utilisés sur la fraction inférieure à 50µ, successivement, et donnent les résultats suivants :

Tableau 11.- Extractions alcalines du carbone et de l'azote sur la fraction inférieure à 50µ des turricules (en % du C ou de l'N initial)

	C/C init. en %	AF/AH en C	N/N init. en %	AF/AH en N	C/N_{AF}	C/N_{AH}
Tétraborate à pH 9,7	18,2	1,2	25,2	0,8	15,7	10,0
Pyrophosphate à pH 10	4,7	2,2	5,8	1,3	16,6	10,2
Soude à pH 12	10,2	0,7	10,3	0,5	22,3	14,4
Total	33,1		41,3			

- Les composés extraits représentent au total de l'ordre de 30 % du carbone et 40 % de l'azote de la fraction inférieure à 50µ, ce qui est énorme par rapport aux résultats obtenus sur les feuilles. Tétraborate et soude à pH 12 sont les réactifs les plus efficaces. Ces réactifs solubilisent des quantités comparables d'acides fulviques et d'acides humiques (rapport AF/AH voisin de 1). Le pyrophosphate est moins efficace que les autres réactifs. Il solubilise surtout des acides fulviques.

- Les acides humiques sont plus riches en azote que les acides fulviques (rapport C/N de l'ordre de 10).

- Nous avons, d'autre part, dosé les cations dans ces extraits ; les teneurs en cations Al, Fe, Si et Ca sont très faibles. Seul le pyrophosphate solubilise des teneurs détectables en Fe et Ca, liés surtout aux acides fulviques.

4.- Conclusion

- Le fractionnement par tamisage, après agitation avec des billes, permet d'isoler, dans les turricules, une importante fraction inférieure à 50µ. La dissolution acide, ainsi que la séparation densimétrique sur cette fraction, sont restées inefficaces.

- Les extractions par les réactifs alcalins minéraux mettent en évidence l'existence de produits humiques dans les turricules, qui peuvent provenir de l'évolution des tannins foliaires ou de composés humiques préexistant dans l'horizon A_1.

- Ces tests préliminaires et globaux montrent que le turricule, bien que ne constituant pas un véritable horizon, présente des caractéristiques originales. Le turricule constitue un stade de brassage pédo-intestinal, que nous allons caractériser plus précisément, et dont nous suivrons l'évolution.

II.- CARACTERISATION DE LA MATIERE ORGANIQUE* DANS LES DIFFERENTS ETATS DU BRASSAGE PEDO-INTESTINAL

Les produits extraits des feuilles sont des substances analogues aux substances humiques des sols; même si elles ne sont pas liées à des éléments minéraux, elles présentent les mêmes caractères physico-chimiques (coloration, dimensions moléculaires, composition élémentaire, etc.) que les substances humiques. C'est pourquoi nous avons adopté la soude à pH 10 (à pH contrôlé et sous atmosphère inerte) pour essayer d'isoler, sans les altérer, tous ces produits et les comparer entre eux.

1.- Composition élémentaire des différents échantillons

Tableau 12.- Teneur en carbone et en azote des différents échantillons

Echantillons	C%	N%	C/N
Feuilles brunes			
- Novembre 1	44,0	1,08	40,8
- Décembre 1	43,6	-	-
- Mars 1	43,2	0,94	46,0
- Mai 1	43,1	0,93	46,3
- Octobre 1	33,7	0,85	39,6
Feuilles blanchies			
- Mai 2	41,3	1,15	36,4
- Octobre 2	31,1	1,08	28,8
Endentère (End)	11,2	0,58	19,2
Turricule frais (TF)	8,6	0,43	20,4
Turricule âgé (TA	8,8	0,42	21,1
Horizon A_1 (A_1)	3,1	0,14	22,2

Au cours du vieillissement des feuilles, le rapport C/N baisse, ce qui prouve que la minéralisation globale du carbone est plus rapide que celle de l'azote (qui subit, du fait de l'activité de la microflore, des recyclages successifs : MANGENOT et al., 1980).

Dans les feuilles blanchies, la diminution du rapport C/N avec le temps est à mettre en rapport avec l'envahissement mycélien des feuilles. Au bout d'une année, il y a une très nette diminution du taux de carbone, qui est due à l'augmentation de la charge minérale des litières foliaires.

Dans les échantillons minéraux, c'est au niveau de l'endentère que la concentration relative en azote est la plus forte (C/N de 19) ; elle est un peu plus faible dans les turricules et dans l'horizon A_1.

Analyses totales des différents échantillons (tableau 13)

Les concentrations en éléments minéraux sont très faibles dans les feuilles, beaucoup plus fortes dans l'endentère et dans les turricules, et très fortes dans l'horizon A_1.

Le lecteur sera peut-être surpris par la précision des études analytiques; en fait, ces études ne représentent pas une fin en soi, elles ne se justifient que dans le cadre d'une étude comparative de stades évolutifs succesifs.

Tableau 13.- Analyses totales des différents échantillons (en ‰)

	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	MnO	MgO	K_2O	CaO	Na_2O	TiO_2	P.F.
F. brunes	34,8	0,9	0,75	1,9	0,5	1,4	5,02	0,5	-	954,2
F. blanchies	51,2	1,39	0,81	2,5	0,7	1,3	6,33	0,2	-	935,5
End.	581,7	78,6	30,6	1,3	3,8	17,3	7,6	6,5	7,1	265,3
T.F.	639,8	82,3	25,4	1,7	3,8	17,7	3,9	4,6	7,1	213,7
T.A.	650,6	83,4	25,4	1,6	3,8	17,8	3,5	4,9	8,1	200,9
A_1	754,6	80,6	29,6	1,2	3,5	16,3	1,6	4,5	8,2	99,9

Les éléments dosés dans l'ensemble des feuilles et dans l'ensemble des échantillons minéraux présentent de faibles variations. Le support minéral semble rester homogène au cours du transit intestinal et du vieillissement du turricule. Seules les teneurs en calcium varient : le contenu de l'endentère présente les teneurs les plus élevées, ce qui est probablement à attribuer à l'excrétion déjà signalée de cristaux de calcite par les glandes de Morren (BOUCHE, 1972).

2.- Fractionnement des turricules et répartition du carbone et de l'azote dans les fractions

Tableau 14.- Répartition pondérale des fractions granulométriques des différents échantillons minéraux (en %)

	> 100µ	50-100µ	< 50µ	
			5-50µ	< 5µ
End.	22,0	17,9	22,5	37,6
T.F.	22,1	17,8	22,6	37,5
T.A.	23,1	16,6	22,8	37,5
A_1	22,3	22,1	21,0	34,6

La répartition pondérale des différentes fractions présente de très faibles variations entre les différents échantillons minéraux. C'est la fraction inférieure à 50µ qui est, pondéralement, la plus importante ; la sous-fraction inférieure à 5µ y représente les 2/3 de cette fraction.

Si l'importance des fractions est comparable en poids, par contre les répartitions du carbone et de l'azote sont différentes suivant les échantillons (tableau 15) :

- la fraction supérieure à 100µ présente, dans tous les cas, un rapport C/N élevé (supérieur à 20). Elle est constituée de matière organique fraîche non humifiée. L'importance du carbone et de l'azote de cette fraction diminue de l'endentère vers l'horizon A_1 : la matière organique fraîche subit donc une certaine minéralisation, mais surtout, comme le

montrent les études micromorphologiques de BRUN (1978), une importante fragmentation par des organismes vivants, type Enchytraéides, et se trouve ainsi, par la suite, redistribuée dans la fraction inférieure à 50µ.

La fraction 50-100µ est une fraction intermédiaire, à caractère mixte. Le rapport C/N de cette fraction ne varie pas beaucoup pour les différents échantillons.

La fraction inférieure à 50 µ, pondéralement la plus importante, est également celle où l'on retrouve la majorité du carbone et de l'azote de chaque échantillon. Les teneurs en ces éléments, assez semblables dans l'endentère et dans les turricules, baissent fortement au niveau de l'horizon A_1. Au niveau de l'endentère, le rapport C/N est particulièrement bas (10 environ), il est voisin de 15 ou 16 dans les turricules et dans l'horizon A_1. C'est dans cette fraction (inférieure à 50µ) que se concentre la majorité des composés azotés.

Tableau 15.- Répartition du carbone et de l'azote dans les fractions granulométriques des différents échantillons minéraux.

Echantillon	Fraction	C/Ct %	N/Nt %	C%	N%	C/N
End.	> 100µ	37,6	24,3	19,2	0,64	38,4
	50-100µ	8,4	8,3	5,3	0,27	19,7
	< 50µ	54,0	67,4	10,1	0,65	10,4
T.F.	> 100µ	29,9	19,2	11,7	0,38	34,1
	50-100µ	13,1	13,3	6,3	0,32	19,6
	< 50µ	57,0	67,5	8,2	0,48	16,3
T.A.	> 100µ	26,9	16,1	10,3	0,29	26,9
	50-100µ	15,1	15,0	8,0	0,38	19,3
	< 50µ	58,0	68,9	8,5	0,42	16,4
A_1	> 100µ	24,0	15,5	3,3	0,10	21,3
	50-100µ	17,8	18,6	2,5	0,12	19,7
	< 50µ	58,2	65,9	3,2	0,17	14,7

Ct (carbone total au tout 5 fractions)

Après ces caractérisations globales, nous allons étudier d'abord les extraits humiques (et tout particulièrement les acides humiques), puis la fraction résiduelle non extractible, c'est-à-dire l'humine de l'ensemble des échantillons (feuilles et déjections).

3.- Extractibilité globale des produits (tableau 16)

a) Dans les feuilles

+ Dans les feuilles brunes, l'extractibilité varie peu depuis la chute des feuilles jusqu'au mois de mai (5,8 % en novembre, 6,2 % en mars, 6,6 % en mai pour le carbone, et 13,1 %, 13,4 % et 13,4 % pour l'azote aux mêmes périodes), avec un rapport AF/AH voisin de 1 pour les produits extraits (cf. Tableau 17). Cette extractibilité diminue nettement par la suite (2,8 % pour le carbone, dont 1/3 d'acides humiques à bas C/N et 7,9 % pour l'azote au mois d'octobre).

+ Dans les feuilles blanchies, l'extractibilité du carbone reste élevée et supérieure à celle obtenue avec les feuilles brunes fraîchement tombées ; celle de l'azote est près de deux fois plus forte. Un tiers du carbone extrait au mois de mai est constitué d'acides humiques (à rapport C/N de 6,7, particulièrement bas). Le rapport AF/AH est de l'ordre de 1 au mois d'octobre, et les produits extraits sont riches en azote. Comparé à celui obtenu avec les feuilles brunes (0,9), le rapport AF/AH pour le carbone (1,7) traduit une diminution de la condensation de ces produits. Cependant, le rapport AF/AH pour l'azote reste comparable pour les deux lots de feuilles (0,5 et 0,4), ce qui pourrait s'expliquer par la présence d'une quantité importante de polysaccharides dans les extraits humiques des feuilles blanchies (cf. Résultats du dosage à l'anthrone dont nous reparlerons plus loin).

b) Dans les échantillons minéraux (endentère, turricules et horizon A_1)

Les extractibilités globales du carbone et de l'azote des échantillons minéraux sont beaucoup plus fortes que celles des feuilles. Rapportées au carbone et à l'azote de chacune des fractions, l'extractibilité de la fraction inférieure à 50µ apparaît extrêmement élevée (62 % pour l'endentère) et prépondérante (cf. tableau 17). Les extraits humiques des échantillons minéraux proviennent donc pour l'essentiel de la fraction inférieure à 50µ (cf. tableau 18).

Les extractibilités du carbone et de l'azote diminuent globalement de l'endentère à l'horizon A_1 :

- dans les fractions supérieures à 50µ (qui sont, rappelons-le, très minoritaires), ces extractibilités augmentent au cours de l'évolution des turricules, ce qui s'explique par une reprise de ces fractions par les organismes vivants (microflore et pédofaune).

- Dans les fractions inférieures à 50µ, l'extractibilité diminue de l'endentère à l'horizon A_1. Les rapports AF/AH diminuent également avec le vieillissement des échantillons (cf. tableau 17) ; il y a donc une condensation des composés extraits. D'autre part, les rapports C/N de ces extraits fulviques et humiques augmentent avec le vieillissement des déjections, l'azote extractible étant représenté pour une plus grande part (ce qui est conforme aux travaux de SWIFT et al., 1972) dans les acides humiques dont les rapports C/N sont particulièrement bas. Ils varient de 6 dans l'endentère à 12 dans l'horizon A_1.

Dosage des cations dans les extraits alcalins (acides fulviques et humiques)

- Dans les extraits des feuilles, les teneurs en cations sont extrêmement faibles au mois de mai. Dans les feuilles du mois d'octobre, elles sont un peu plus fortes, mais restent toujours inférieures ou égales à 1 ‰.

- Dans les échantillons minéraux, les teneurs en cations polyvalents sont également faibles (le réactif utilisé n'est pas décomplexant).

Tableau 16.- Extractibilité du carbone et de l'azote des différents échantillons

et non C total de chaque fraction

	C extractible/C total %				N extractible/N total %			
F. brunes : mai 1	6,6				13,4			
oct. 1	2,8				7,9			
F. blanchies : mai 2	8,3				22,9			
Oct. 2	8,9				20,9			
	total	dont > 100µ	dont 50-100µ	dont < 50µ	total	dont > 100µ	dont 50-100µ	dont < 50µ
End.	35,2	1,0	0,6	33,6	57,5	3,8	4,2	49,5
T.F.	25,7	0,8	1,0	23,8	46,8	7,7	7,7	31,6
T.A.	26,5	1,4	1,3	23,8	42,8	8,6	8,3	25,8
A_1	21,9	3,5	2,3	16,2	46,0	13,9	12,6	19,5

Tableau 17.- Extractibilité du carbone et de l'azote des différentes fractions (en % du carbone ou de l'azote total de la fraction)

	C extractible/C fraction			N extractible/N fraction		
	> 100µ	50-100µ	< 50µ	> 100µ	50-100µ	< 50µ
End.	2,7	7,1	62,2	15,6	50,6	73,4
T.F.	2,7	7,6	41,8	40,1	57,8	46,8
T.A.	5,2	8,6	41,0	53,1	53,3	37,4
A_1	14,6	12,9	27,8	87,7	67,7	29,6

Tableau 18.- Répartition du carbone et de l'azote dans les acides fulviques et humiques des différents échantillons (feuilles et fractions inférieures à 50µ des échantillons minéraux)

	AF/AH en C	AF/AH en N	C/N des AF	C/N des AH
F. brunes : mai 1	0,9	0,5	28,9	16,0
oct. 1	2,1	1,4	16,5	10,8
F. blanchies : mai 1	1,7	0,4	30,1	6,7
oct. 2	0,9	0,7	14,8	10,7
End. < 50 µ	1,9	1,5	7,8	6,0
T.F. < 50 µ	1,2	0,8	15,6	10,1
T.A. < 50 µ	1,2	0,8	16,3	10,5
A_1 < 50 µ	0,7	0,7	13,1	11,8

Tableau 19.- Importance relative du carbone des extraits humiques et des humines des feuilles et de la fraction 50 des échantillons minéraux, exprimés par rapport au carbone total des échantillons (en % du C des échantillons initiaux) totaux (sauf fraction [illegible]) → par rapport à C T de toutes les fractions

	C total dans la fraction < 50µ	C ext. (AF+AH)	C des AH	soit en % du C total des AH	C non ext. (humine)*	soit en % du C total non ext. (humine)* de l'échant.
F. Brunes						
Mai 1	-	6,6	3,4	100	93,4	100
Oct. 1	-	2,8	0,9	100	97,2	100
F. blanchies						
Mai 2	-	8,3	3,1	100	81,7	100
Oct. 2	-	8,9	4,6	100	81,1	100
End.	54,0	33,6	11,6	95	20,4	31,5
T.F.	57,1	23,8	10,8	92	33,2	44,7
T.A.	58,0	23,9	10,9	90	34,2	46,6
A_1	58,2	16,2	9,5	76	42,0	53,8

* Voir remarque page 13 (Figure 4).

des autres fractions

des autres fractions

L'ensemble de ces données sur les produits extraits montre déjà une différenciation entre les échantillons. Pour avoir davantage de renseignements sur la constitution chimique de ces polycondensats humiques, nous nous proposons de les caractériser d'une façon plus approfondie. Cette caractérisation de l'évolution des tannins issus des feuilles portera sur les acides humiques extraits des feuilles et ceux extraits de la fraction inférieure à 50µ pour l'ensemble des déjections. En effet, comme l'indiquent les chiffres reportés dans le tableau 19, même si l'ensemble des acides humiques ne représentent qu'une partie assez faible du carbone initial des échantillons (qu'a pu solubiliser la soude à pH 10), ces acides humiques rendent compte des modifications subies par les produits bruns des feuilles pendant le transit intestinal et au cours du vieillissement des déjections. Le tableau 19 montre d'autre part que la grande partie des acides humiques est obtenue à partir de la fraction inférieure à 50µ.

4.- Caractérisation des acides humiques extraits des feuilles et de la fraction inférieure à 50µ de l'ensemble des déjections

a) Analyse élémentaire des acides humiques (tableau 20)

Tableau 20.- Composition élémentaire des acides humiques des différents échantillons (en %)

	C %	N %	H %	O %	Rapport pondéral			Rapport atomique		
					C/N	C/H	C/O	C/N_A	C/H_A	C/O_A
F. brunes										
mai 1	52,1	3,0	4,7	40,2	17,3	11,1	1,3	20,2	0,9	1,7
oct. 1	48,2	4,4	5,8	41,5	10,9	8,4	1,2	12,8	0,7	1,6
F. blanchies										
mai 2	52,3	4,9	5,5	37,0	10,6	9,6	1,4	12,4	0,8	1,9
oct. 2	50,1	5,3	5,5	39,1	9,4	9,1	1,3	11,0	0,8	1,7
End. (< 50µ)	52,9	8,4	8,2	30,5	6,3	6,5	1,7	7,3	0,54	2,3
T.F. (< 50µ)	51,9	5,1	7,1	35,9	10,3	7,4	1,4	12,0	0,6	1,9
T.A. (< 50µ)	51,5	4,9	7,1	36,4	10,3	7,2	1,4	12,1	0,6	1,9
A_1 (< 50µ)	50,5	4,3	5,9	40,2	11,6	10,1	1,3	13,6	0,8	1,7

- Les teneurs en impuretés minérales, déterminées par ATG, sont de l'ordre de 4 à 8 %.

- Les différents échantillons diffèrent essentiellement par des variations des teneurs en N, O et H :

+ en valeur absolue : dans les feuilles, il y a augmentation des teneurs en N, H et O au cours du vieillissement. Dans les échantillons minéraux, les teneurs en N et H diminuent depuis l'endentère jusqu'à l'horizon A_1, alors que celle de O augmentent. Ces compositions élémentaires sont difficiles à relier au mode d'humification (KONONOVA, 1966).

+ en rapports élémentaires: ces rapports permettent des considérations intéressantes :

. la diminution du rapport C/N traduit l'incorporation des composés azotés. Il est assez élevé dans les feuilles brunes, il diminue dans les feuilles blanchies. Il diminue également avec le vieillissement des feuilles, ainsi que dans l'endentère (6,3) (comme nous l'avons déjà vu), ce qui tendrait à confirmer qu'une partie importante des acides humiques est de nature protéique. Il augmente par la suite, au cours du vieillissement.

. le rapport C/H varie dans une gamme assez étroite, et constitue un bon indice d'aromaticité : il donne une idée générale du degré de condensation (VISSER, 1964 ; ANDREUX, 1978) ; la valeur 0,8, exprimée en rapport atomique, est considérée comme limite inférieure des molécules aromatiques (ANDREUX, 1978). Par analogie avec des modèles synthétiques (KONONOVA, 1972 ; ANDREUX et al., 1977 ; ANDREUX, 1978 ; ANDREUX et METCHE, 1979), on distingue généralement dans les polycondensats humiques, une fraction aromatique polycyclique correspondant au nucléus, et une fraction attribuée aux chaînes latérales aliphatiques. Dans les feuilles brunes, ce rapport est assez élevé, et témoigne d'une structure relativement condensée (cf. Première partie de ce travail sur le matériel foliaire). Il diminue légèrement dans les feuilles blanchies, et d'une façon générale, avec le vieillissement des feuilles. Dans l'endentère, ce rapport diminue considérablement (C/H_A = 0,5) ; il augmente au cours du vieillissement du turricule jusqu'à son incorporation dans l'horizon A_1. Dans les feuilles blanchies, et surtout dans l'endentère, la diminution du rapport C/H s'explique par une certaine oxydation des polycondensats humiques, une diminution de la condensation et une réincorporation de résidus amino-acides (cf. rapport C/H). Au cours du vieillissement des turricules, on observe une tendance inverse, c'est-à-dire une polycondensation croissante jusqu'à l'horizon A_1.

. le rapport C/O reflète l'importance des groupements fonctionnels oxygénés (SCHNITZER et KHAN, 1972). Nous verrons ultérieurement que ces rapports pour nos différents échantillons, gardent une corrélation assez significative avec l'acidité totale des composés. C/O est plus élevé dans la feuille blanchie que dans la feuille brune. Il augmente encore dans l'endentère, puis diminue progressivement vers l'horizon A_1.

Nous avons reporté, dans un diagramme H/C - O/C atomiques de Van KREVELEN (1961), quelques valeurs données dans la littérature pour des acides humiques d'origine marine ou terrestre (BACH, 1980). Les acides humiques étudiés ici se situent à la limite supérieure du domaine d'existence des acides humiques terrestres et marins. Ils sont proches des acides humiques fortement protéiques (marins) avec une tendance aliphatique (Figure 11). Cette situation des acides humiques des déjections est remarquable.

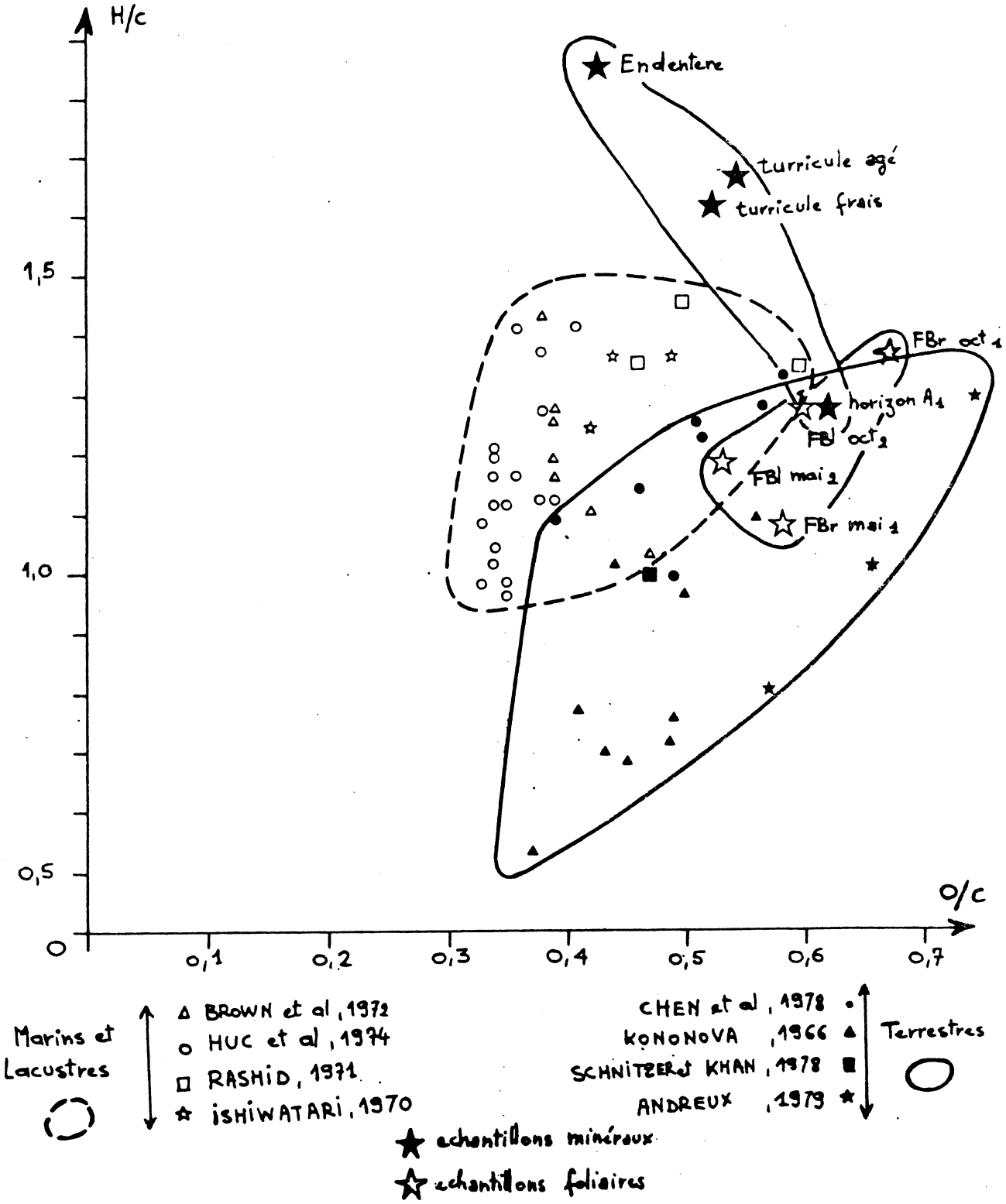


Figure 11.- Domaines d'existence des acides humiques marins et terrestres dans le diagramme de VAN KREVELEN (1961) et situation des acides humiques étudiés (BACH, 1980)

b) Caractérisation fonctionnelle et structurale des acides humiques

- Spectrométrie en lumière ultra-violette et en lumière visible

+ Dans l'ultra-violet, on constate une augmentation continue de la densité optique avec la fréquence observée. Cette absorption par les acides humiques est due à la présence de groupements chromophore (e^-_π) et augmente avec le degré de condensation. On retrouve dans ces spectres, l'existence des deux bandes d'adsorption à 280 et 330 nm, que nous avons mises en évidence dans les extraits au DMFA des feuilles brunes (cf. Première partie). En raison de la composition structurale complexe des acides humiques, cette zone du spectre est difficile à interpréter.

+ En lumière visible, les valeur du rapport Q 4/6 sont réparties dans le tableau 21. On constate que ces rapports varient peu.

Tableau 21.- Rapport Q 4/6 des acides humiques des différents échantillons

	Q 4/6
Feuilles brunes : mai 1	5,6
oct. 1	5,5
Feuilles blanchies : mai 2	6,4
oct. 2	6,2
End.	6,6
T.F.	6,8
T.A.	6,7
A_1	6,4

- Spectrométrie infra-rouge

+ Sur les acides humiques des feuilles : le spectre des feuilles brunes et celui des feuilles blanchies (figure 12) présentent des différences significatives : dans les extraits des feuilles blanchies, on note une prédominance des groupements oxygénés par rapport à ceux obtenus dans les extraits de feuilles brunes. Les bandes d'absorption des OH y sont plus larges et intenses. Les maxima dans la zone 1720-1730 cm^{-1} sont plus prononcés pour les extraits des feuilles blanchies, ce qui dénote une acidité plus élevée. Ce caractère est confirmé par un léger épaulement dans la région 2400 cm^{-1}, correspondant aux vibrations des liaisons hydrogènes du groupement COOH. De même, le caractère aliphatique de ces acides humiques peut être apprécié par l'existence des pics d'absorption dans la région 2920-2840 cm^{-1}, plus nets et plus différenciés que ceux observés pour les acides humiques des feuilles brunes.

Dans la deuxième partie du spectre, les feuilles brunes présentent des pics à 1520, 1525 et 1540 cm^{-1}, qui caractérisent les absorptions des liaisons N-H des polypeptides. Dans les feuilles blanchies, ces pics sont non seulement plus intenses, mais sont dédoublés par un autre pic à 1550 cm^{-1} qui serait dû aux vibrations des noyaux hétérocycliques azotés associées à une bande formée par la condensation de sucres réduits avec des amino-acides (ANDREUX, communication personnelle). A 1240 cm^{-1} existe un pic attribuable au caractère aromatique des composés mais qui reste difficilement interprétable.

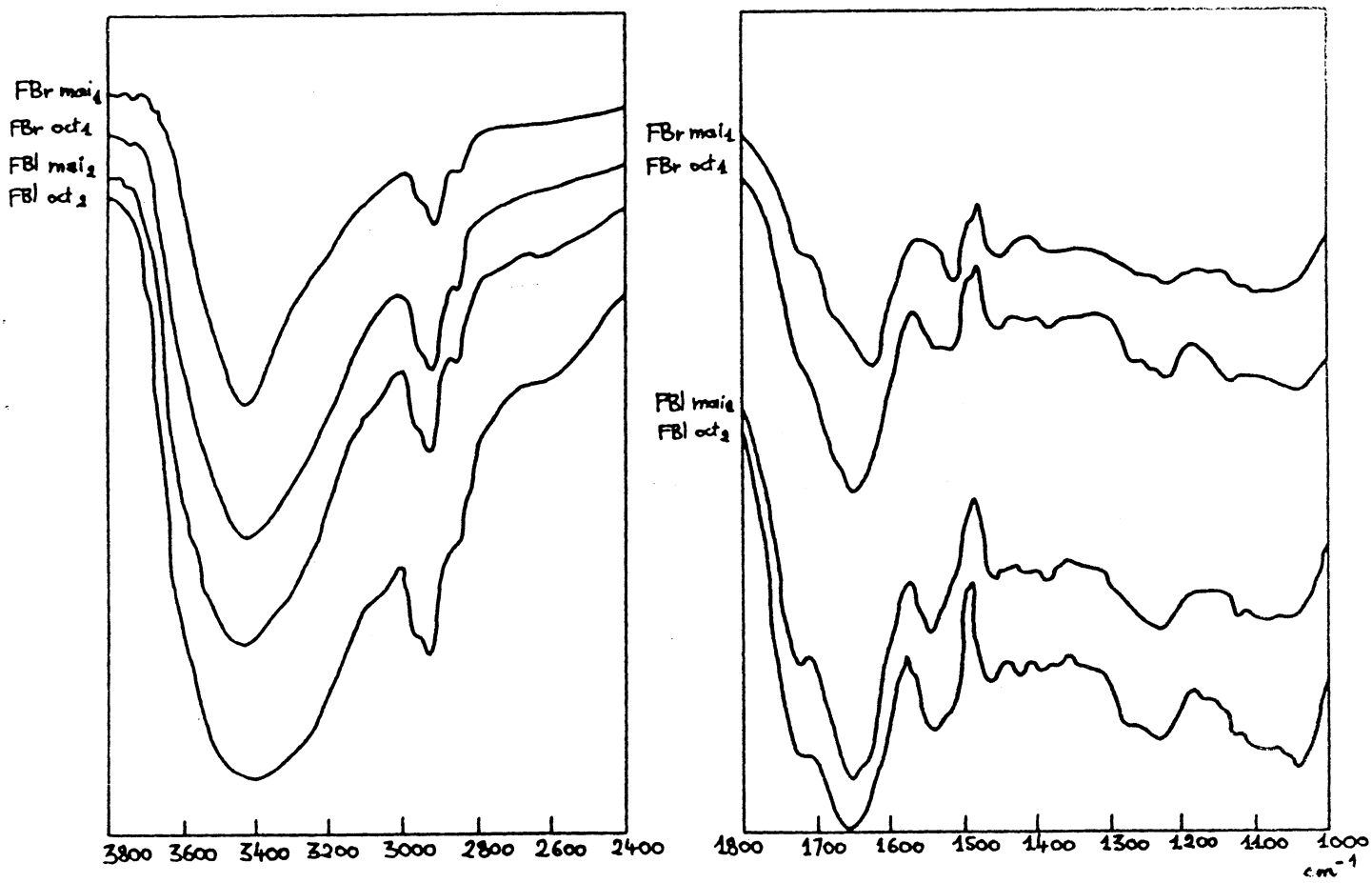


Figure 12.- Spectres infra-rouge des acides humiques des feuilles

+ Sur les acides humiques des échantillons minéraux : dans les turricules (Figure 13), le caractère aliphatique est très marqué pour l'endentère, avec des pics de forte intensité, entre 2920, 2840 et 1450 cm^{-1}. L'intensité de ces pics diminue avec le vieillissement des déjections. Par contre, les pics caractérisant les groupements fonctionnels oxygénés présentent une tendance inverse (3400-3200 cm^{-1}).

Dans la deuxième partie du spectre, les acides humiques de l'endentère présentent des pics bien nets à 1520, 1525 et 1540 cm^{-1} et sont bien plus intenses que ceux obtenus dans les feuilles. Ces pics traduisent une absorption due à des liaisons peptidiques. Ce caractère tend à disparaître avec l'horizon A_1. Une hydrolyse chlorhydrique (Figures 14 et 15) entraîne la disparition de ces bandes peptidiques et confirme cette analyse. L'hydrolyse entraîne également une meilleure expression des groupements acides, démasqués par la disparition des bandes peptidiques (Figures 13 et 14). Les bandes à 1720 cm^{-1} (carboxyles) et 1615 (carboxylates) vibrent mieux, ce qui montre qu'il subsiste encore des groupements COOH matriciels.

L'absence d'impuretés minérales pour l'ensemble des spectres est comfirmée par l'examen de la bande aux environs de 1000 cm^{-1}.

On peut conclure que ces observations spectroscopiques qualitatives s'accordent parfaitement avec les données obtenues précédemment.

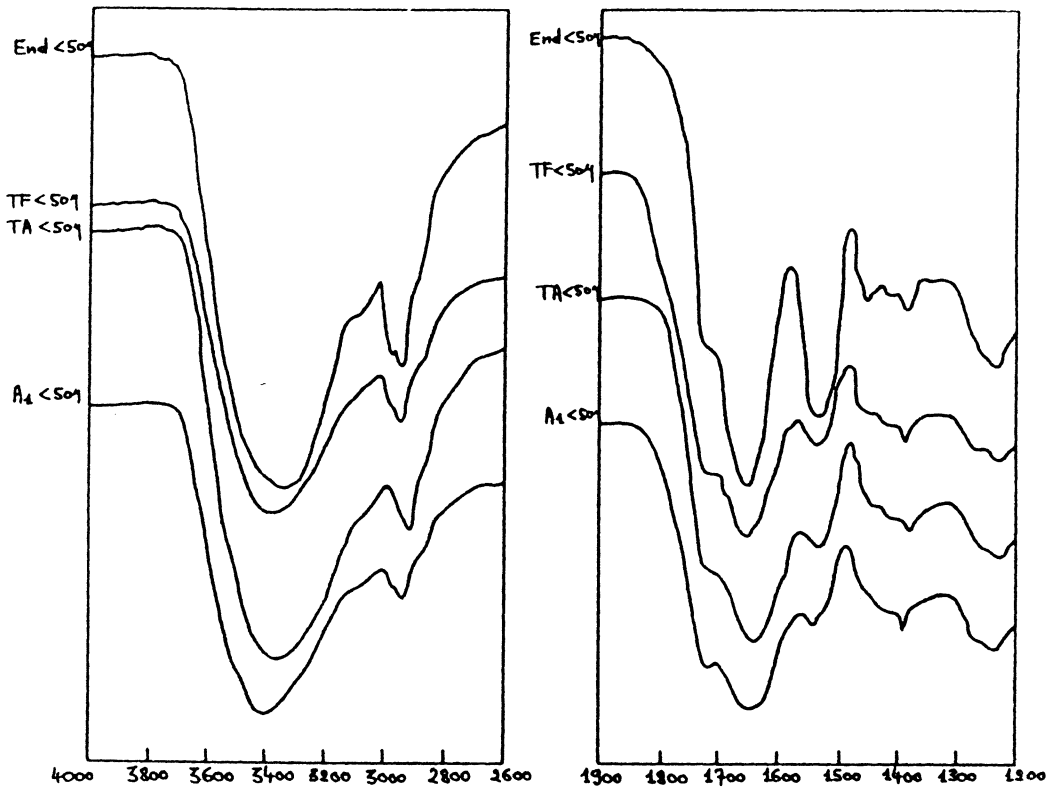


Figure 13.- Spectres infra-rouge des acides humiques des échantillons minéraux.

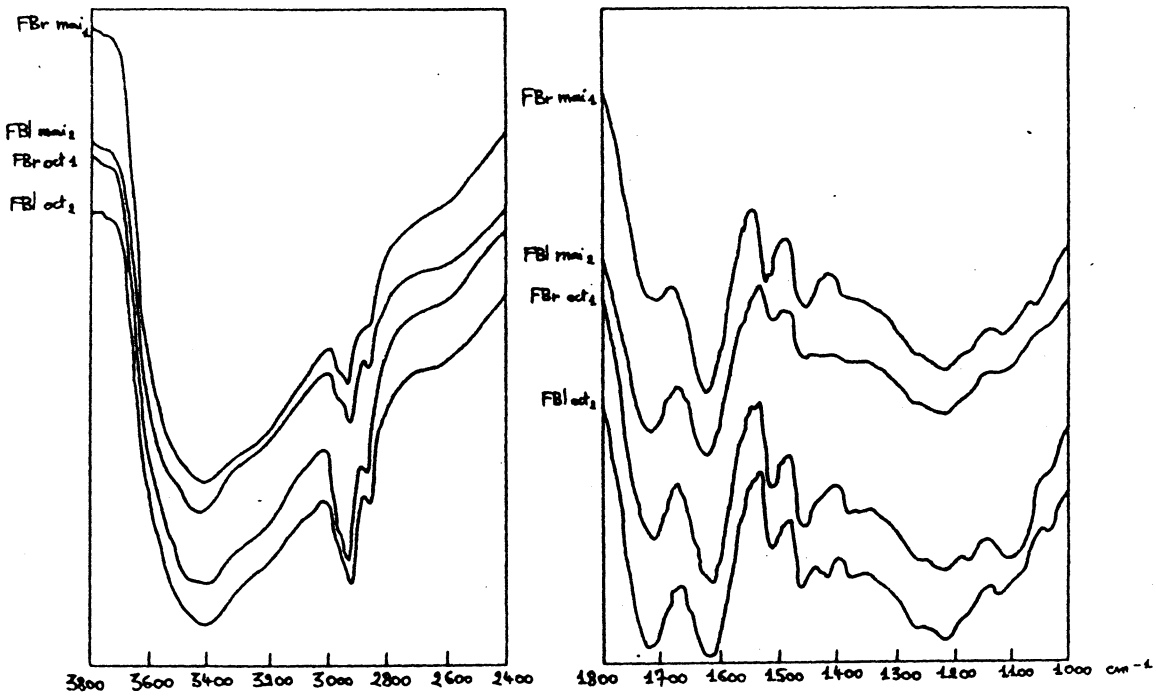


Figure 14.- Spectres infra-rouge des résidus d'hydrolyse des acides humiques des feuilles

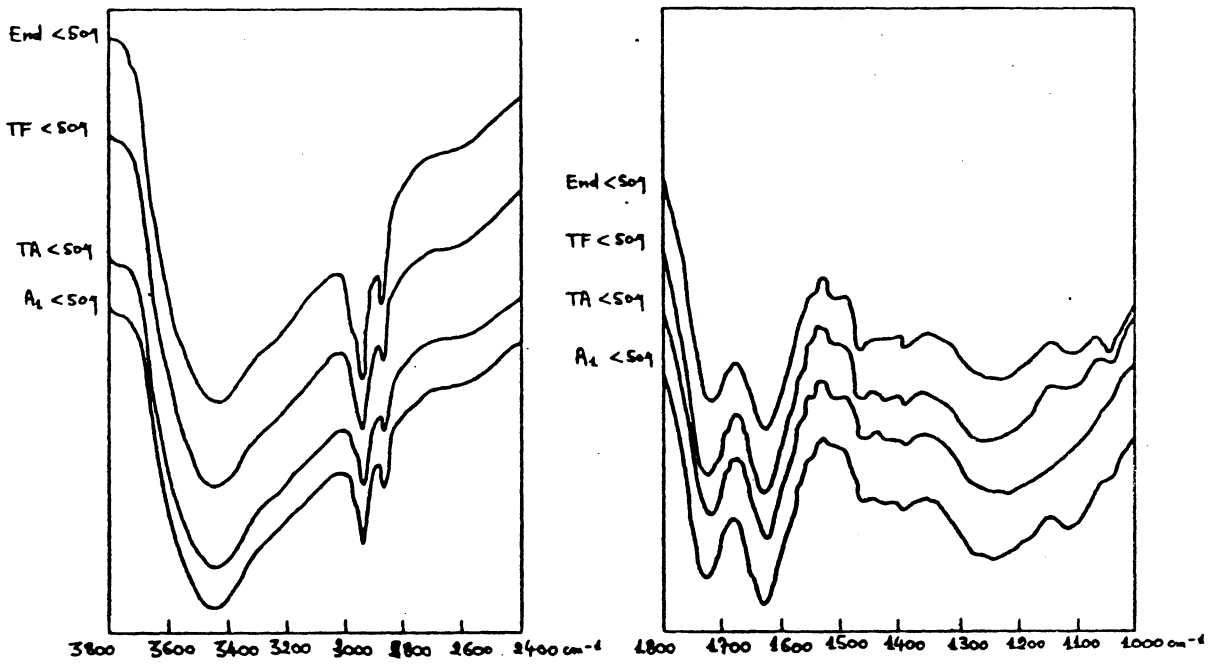


Figure 15.- Spectres infra-rouge des résidus d'hydrolyse des acides humiques des échantillons minéraux.

- Chromatographie d'exclusion

Cette technique permet d'avoir une idée de l'encombrement moléculaire des macromolécules des acides humiques. Elle nécessite un étalonnage des gels et assimile les macromolécules humiques à des protéines globulaires. Dans la figure 16 sont réparties les courbes de fractionnement sur gel Sephadex G75 des acides humiques des différents échantillons. Sur toutes ces courbes, nous pouvons observer :

+ une fraction exclue, qui représente des molécules à encombrement moléculaire équivalent ou supérieur à 100 000. Cette fraction exclue est prépondérante.

+ une fraction retenue, dont le maximum d'absorption correspond à un coefficient d'élution (Kav). Pour tous les échantillons, ces Kav sont voisins (0,68 à 0,81) et correspondent à des encombrement moléculaires de 3600 à 6000.

En conclusion, l'exclusion d'une grande partie des acides humiques sur gel Sephadex G75 montre qu'il s'agit de polycondensats.

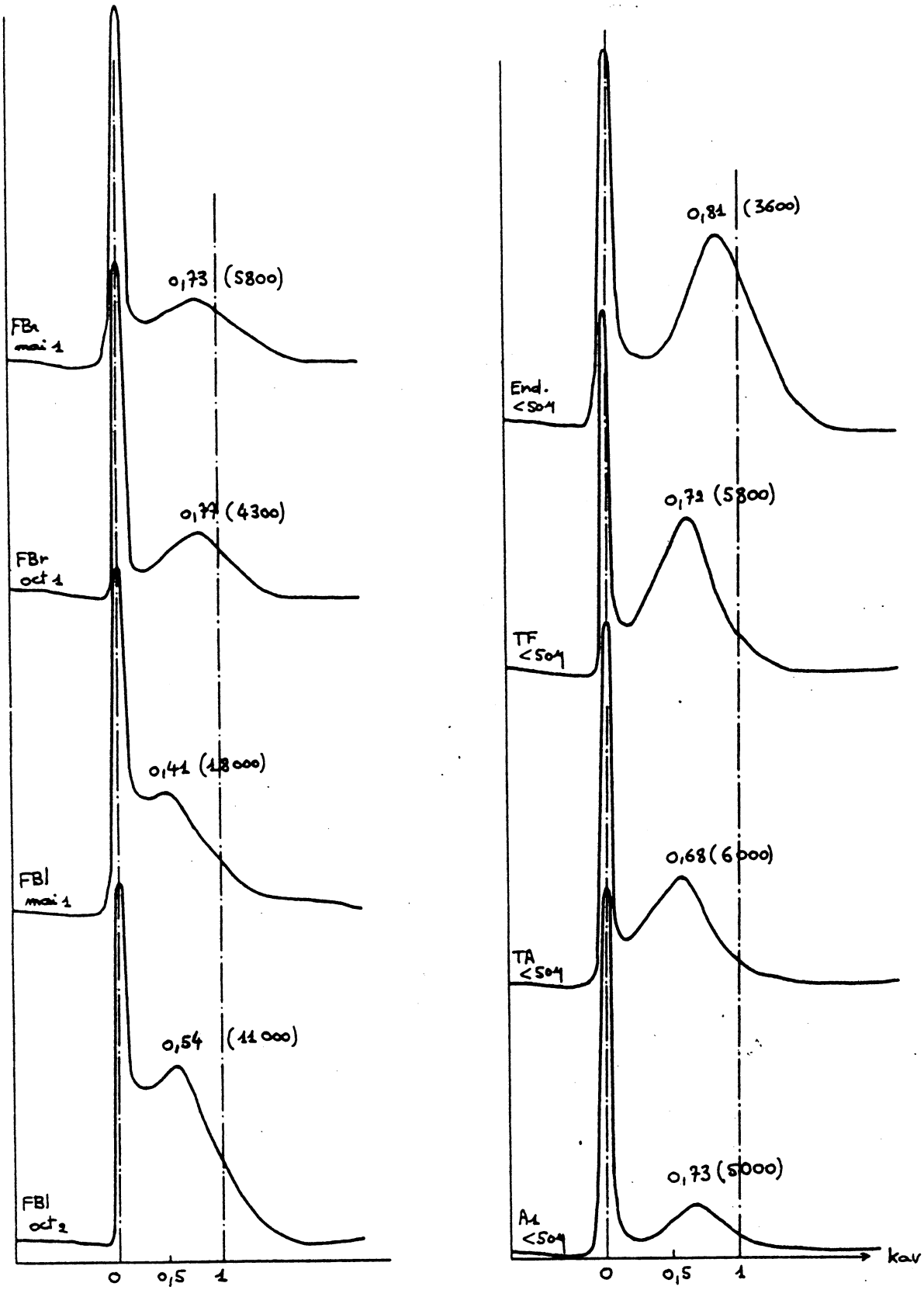


Figure 16.- Chromatogramme d'exclusion des acides humiques des différents échantillons

- Dosage des groupements fonctionnels acides des acides humiques (Tableau 22)

Tableau 22.- Dosage des groupements fonctionnels oxygénés, titrés sur des acides humiques des différents écnahtillons (en m.e./g)

	pH initial	Acidité forte pic 1 pH 4,5 (-COOH)	Acidité faible Pic 2 pH 8 (-OH)	Acidité faible pH 10	Acidité totale	charges Pic 1 / charges pic 1 + pic 2 en %	charge Pic 2 / charges pic 1 + pic 2 en %
F. brunes							
mai 1	3,6	0,8	1,9	1,5	4,2	29,4	70,6
oct. 1	3,6	1,1	1,6	1,2	3,9	39,7	60,3
F. blanchies							
mai 2	3,3	1,6	2,8	0,6	5,0	36,0	64,0
oct. 2	3,4	1,4	2,8	0,7	4,9	34,0	66,0
End. < 50µ	3,6	0,7	0,8	0,4	1,9	49,3	50,6
T.F. < 50µ	3,4	1,2	1,2	0,8	3,2	48,7	51,3
T.A. < 50µ	3,4	1,0	1,4	0,8	3,2	42,3	57,7
A_1 < 50µ	3,4	0,9	1,8	0,4	3,1	33,3	66,6

+ La titration potentiométrique des solutions des acides humiques dans KCl N, conduit à des courbes sigmoïdales, dont deux points d'inflexions sont mis en évidence par enregistrement en dérivée première. Ces deux points correspondent à deux acidités principales ; la première (pic 1) est neutralisée à pH 4,5 et correspondrait aux groupements -COOH ; la seconde (Pic 2), titrée à pH 8, est généralement attribuée surtout à des groupements -OH phénoliques et aussi à des acidités COOH faibles. Ces fonctions sont importantes, parce qu'elles peuvent se dissocier et complexer des cations. La titration potentiométrique a été poursuivie jusqu'à pH 10 et la somme de toutes ces acidités correspond à l'acidité totale.

+ L'acidité totale (cf. tableau 22) est plus forte dans les acides humiques des feuilles blanchies que dans ceux des feuilles brunes ; elle diminue avec le vieillissement des feuilles ; elle est encore plus faible dans les acides humiques de l'endentère ; elle augmente et se stabilise dans ceux des déjections.

+ Une grande part de l'acidité totale est attribuable aux acidités faibles, leurs variations sont donc parallèles (par exemple, dans les échantillons minéraux, l'acidité phénolique augmente de l'endentère à l'horizon A_1, et cela au détriment de l'acidité carboxylique). Ces observations sont renforcées par l'examen de la distribution relative entre les charges respectives de l'acidité 1 et de l'acidité 2. Dans les feuilles blanchies, il y a une distribution plus forte des charges -COOH (pic 1) par rapport à celle rencontrée dans les feuilles brunes et donc, diminution des charges -OH (pic 2). Cette tendance est encore plus nette dans l'endentère, par rapport à l'ensemble des feuilles. Au cours du vieillissement des turricules, au contraire, on observe une augmentation du pourcentage des charges -OH.

+ La proportion élevée de ces groupements -COOH dans les feuilles blanchies, et surtout dans l'endentère, révèle l'apparition de sites acides sur les chaînes aliphatiques et aussi, par suite de transformation structurales profondes, sur le nucléus (ouverture oxydative probable de cycles aromatiques). Cette transformation dans ces deux échantillons peut être mise en relation avec l'augmentation de l'extractibilité, et plus précisément, dans le cas des feuilles blanchies, avec l'apparition, par exemple, de l'acide vanillique. C'est la perte, ou le blocage par les cations, de ces groupements -COOH, qui entraîne l'insolubilisation des acides humiques au cours du vieillissement des turricules (diminution de l'extractibilité.

+ Toutes ces observations concordent avec les analyses qualitatives tirées des spectres infra-rouge et avec toutes les analyses précédentes. La diminution relative des teneurs en carboxyles, et l'augmentation des groupements phénoliques au cours du vieillissement des échantillons minéraux, vont dans le sens d'une augmentation du degré de polycondensation des molécules (SCHEFFER et UHLRICH, 1960). C'est un résultat classique dans l'étude des composés humiques (ANDREUX, 1979).

- Analyse thermique différentielle sur les acides humiques

L'examen des courbes d'analyse thermo-différentielle fait apparaître, en dehors des pics endothermiques relatifs aux pertes d'eau, des réactions exothermiques situées à 350° et à 500°C dans tous les échantillons. Il y a donc deux fractions de stabilité thermique différente dans les échantillons humiques. Des études complémentaires (infra-rouge après chauffage à ces deux températures) permettraient de fournir de plus amples précisions sur l'origine de ces pics. Faute de temps, nous nous sommes contentés de comparer la répartition de ces pics dans les divers échantillons, et remarqué que :

+ Au cours du vieillissement des feuilles, le pic à 500°C se déplace et sort à 475°C ;
+ Dans les acides humiques des feuilles blanchies, ce pic à 500°C est beaucoup moins intense que celui obtenu avec les feuilles brunes ;
+ Dans l'endentère, le pic à 500°C est également peu important ;
+ Dans les déjections, non seulement le pic à 500°C sort à 475°C, mais sont importance diminue au cours du vieillissement. Il apparaît d'autre part un autre pic à 400°C.

Les acides humiques étudiés présentent donc des différences dans la stabilité thermique de leurs composants, sans qu'on puisse interpréter avec certitude la nature de ces fractions.

c) Les constituants chimiques des acides humiques

Les hydrolyses acides des composés humiques donnent un certain nombre de précisions sur les constituants de bases de ces acides humiques.

- Carbone hydrolysable (cf. tableau 23)

Carbone total hydrolysable et sucres obtenus : la quantité de carbone hydrolysable des acides humiques des feuilles brunes décroît avec le vieillissement des feuilles (58 % en mai, 37 % seulement en octobre).

Elle augmente par contre dans ceux provenant des feuilles blanchies (39 % en mai et 49 % en octobre) où la quantité d'hexoses est forte par rapport à celle obtenue avec les autres échantillons (12 % en équivalent carbone-glucose du carbone hydrolysable. Cette richesse en sucres est sans doute à mettre en relation avec la colonisation fongique.

Dans les acides humiques provenant de la fraction fine des échantillons minéraux, la teneur en carbone hydrolysable décroît de l'endentère aux turricules, et des turricules à l'horizon A_1 (de 55 à 33 %). Les acides humiques provenant de la fraction fine de l'horizon A_1 sont donc proportionnellement nettement plus difficiles à dégrader par les acides, que ceux provenant de l'endentère. Dans tous les cas, la teneur en sucres des hydrolysats est très faible (non détectable).

Tableau 23.- Répartition des différentes formes du carbone et de l'azote dans les acides humiques, après hydrolyse chlorhydrique.

	C hydrolysable	N hydrolysable	N α-aminé	N NH_4^+	N combiné	N non hydrolysable
	C initial en %	N initial en %	N initial en %	N initial en %	N initial en %	N initial en %
F. Brunes						
mai 1	58,2	79,4	70,0	0,9	8,5	20,6
oct. 1	37,4	81,6	66,7	2,7	9,6	18,4
F. Blanchies						
mai 2	39,4	78,6	64,0	2,4	9,9	21,4
oct. 2	48,8	84,3	70,7	1,3	11,0	15,7
End.	55,1	83,6	51,7	0,6	30,8	16,4
T.F.	34,2	79,7	40,0	2,6	33,9	20,3
T.A.	34,2	76,9	46,7	3,0	23,2	23,1
A_1	32,5	68,5	48,1	8,0	11,4	31,5

- Azote hydrolysable (Tableau 23)

+ Azote total hydrolysable : dans le cas des feuilles, la teneur en azote hydrolysable reste toujours élevée et augmente avec le vieillissement des éléments foliaires, dans les feuilles brunes comme dans les feuilles blanchies, ce qui est conforme aux résultats obtenus par JANEL et al. (1977) sur les feuilles de hêtre, mais dans d'autres stations de milieu acide.

Dans le cas des échantillons minéraux, l'évolution a lieu dans le sens inverse (83 % de l'azote total est hydrolysable dans les acides humiques de la fraction fine de l'endentère, et seulement 69 % pour ceux qui proviennent de l'horizon A_1). Carbone et azote deviennent donc plus résistants à l'hydrolyse acide lorsque les déjections vieillissent et s'incorporent au sol.

+ Répartition des différentes formes d'azote hydrolysable (Tab.23)

++ L'azote α-aminé représente, dans tous les cas, une part importante de l'azote hydrolysable :

dans les acides humiques des feuilles, l'azote α-aminé représente de l'ordre de 80 à 90 % de l'azote hydrolysable (88 % pour les extraits des feuilles brunes, 84 % pour les feuilles blanchies, en mai),

dans les acides humiques de la fraction fine des échantillons minéraux, la quantité d'acides aminés ne représente plus que de 50 à 70 % de l'azote hydrolysable (62 % dans le cas des extraits issus de l'endentère, 59 et 64 % dans le cas des turricules et 71 % pour les extraits de l'horizon A_1).

++ les hexosamines n'ont été détectées d'une façon significative dans aucun des échantillons.

++ l'azote ammoniacal représente, dans le cas des échantillons étudiés, en général moins de 10 % de l'azote hydrolysable (de 1 à 3 % dans les extraits des feuilles et de 1 à 12 % dans les extraits des échantillons minéraux). Dans les acides humiques provenant des échantillons minéraux, on constate l'existence d'une augmentation significative du taux d'azote ammoniacal des extraits de la fraction inférieure à 50μ de l'endentère (0,7 % de l'azote hydrolysable) à ceux provenant de l'horizon A_1 (11,8 %). Ce type d'azote provient pour une part de la désamination des amides et des aminosucres (ANDREUX, 1979).

++ Les teneurs en azote combiné : il s'agit d'azote hydrolysable qui échappe à l'identification (ALDAG, 1977). Ce type de produits azotés peut correspondre à des amino-acides basiques (non comptabilisés par la méthode de détection des acides α-aminés) ou bien provenir de produits de recombinaison inhérents au traitement d'hydrolyse (JOCTEUR MONROZIER et al., 1981). Les teneurs en azote combiné augmentent en valeur relative avec le vieillissement des feuilles, ce qui est conforme aux résultats globaux obtenus par JANEL (1977) sur les feuilles brunes. Ces teneurs se situent en valeur relative, autour de 10 à 15 %. Dans les acides humiques issus de la fraction fine des échantillons minéraux, les teneurs relatives varient de 15 à 45 % et décroissent d'une façon très nette avec le vieillissement des déjections (37 % dans les extraits de l'endentère, 44 % et 32 % dans ceux des turricules et 17 % dans les extraits de l'horizon A_1).

- Azote non hydrolysable

L'azote non hydrolysable a une origine encore actuellement mal définie : d'après FLAIG et BREYHAM (1956), une partie de cet azote serait hétérocyclique, une autre partie, d'après ANDREUX et METCHE (1975) correspondrait à des groupements phénylamine. Selon HAIDER et al. (1965), cet azote proviendrait essentiellement des résidus des amino-acides terminaux les plus solidement fixés sur le nucléus polycondensé. Dans les échantillons étudiés, le taux d'azote non hydrolysable augmente avec le vieillissement des déjections.

En conclusion, les hydrolyses du carbone et de l'azote des acides humiques étudiés ont mis en évidence certains éléments caractérisant ces acides humiques. C'est ainsi que l'on note :

- En ce qui concerne l'hydrolyse du carbone :

+ dans les extraits des feuilles brunes, une résistance croissante à l'hydrolyse avec le temps,
+ dans ceux des feuilles blanchies, au contraire, cette résistance diminue avec le vieillissement des feuilles,
+ dans les extraits des échantillons minéraux, une forte sensibilité aux hydrolyses acides des extraits issus de l'endentère et, par contre, une résistance croissante par la suite, avec le temps.

- En ce qui concerne l'hydrolyse des composés azotés :

+ le caractère très hydrolysable de l'ensemble des acides humiques étudiés (c'est le cas des feuilles et, pour une moindre part, des horizons minéraux,
+ la très forte proportion d'azote α-aminé obtenue par hydrolyse des acides humiques des feuilles (l'azote provient de structures peptidiques) et les importante teneurs en azote dit combiné, obtenu par hydrolyse acide des extraits humiques des échantillons minéraux (ces teneurs diminuant d'ailleurs avec le vieillissement des déjections).

L'ensemble de ces hydrolyses du carbone et de l'azote mettent en évidence l'augmentation de la stabilité des acides humiques des déjections avec leur vieillissement

Conclusion sur la caractérisation des acides humiques

L'étude des propriétés structurales et fonctionnelles de ces macromolécules fournit des indications quant à leur processus de formation. La représentation générale de ces acides humiques sous forme d'une combinaison nucléus polyaromatique - chaînes latérales aliphatiques, semble se vérifier pour ces macromolécules.

Dans la feuille brune (Chap. III-A), ces molécules se réduisent à des systèmes "polyphénols protéines" (réactions de monomères phénoliques avec des amino-acides et des peptides). Au cours du vieillissement de la feuille brune, l'extractibilité diminue considérablement et les extraits sont surtout composés d'acides fulviques. Les acides humiques semblent subir une certaine dégradation, portant sans doute sur la partie aromatique du polycondensat.

Dans les feuilles blanchies, une certaine oxydation des tannins est mise en évidence par les différents résultats des études fonctionnelles. Les systèmes qui en résultent réincorporent de nombreux résidus amino-acides, ainsi que des peptides. Ces recombinaisons sont en relation avec la colonisation mycélienne et doivent incorporer également des hexoses.

Dans l'endentère, l'analyse des caractères structuraux et fonctionnels des polycondensats humiques met également en évidence une hydrolyse enzymatique encore plus poussée. L'abondance et la variété des structures aliphatiques traduisent des incorporations de métabolites peptidiques d'origine microbienne et sans doute aussi lombricienne (métabolites qui sont, généralement, sensibles à l'action dissolvante de la soude, d'après JANEL, 1976). L'extractibilité à la soude est très élevée.

Au cours du vieillissement des turricules, par contre, les données analytiques suggèrent une polycondensation progressive vers l'horizon A_1. Les polycondensats se condensent en incorporant des substituants aminés, mais en

même temps, s'insolubilisent par perte des groupements fonctionnels acides. L'extractibilité diminue fortement vers l'horizon A_1.

Il semblerait donc que cette voie de l'humification donne des produits de transformation très différents des structures biologiques qui leur ont donné naissance.

5.- Caractérisation des humines et résidus d'extraction

a) Le résidu d'extraction des feuilles

Tableau 24.- Répartition du carbone et de l'azote non extractibles à la soude à pH 10 dans les feuilles (en % du carbone ou de l'azote total des échantillons)

	C/C initial %	N/N initial %	C/N résidu
F. brunes			
mai 1	93,4	86,6	53,2
nov. 2	97,2	92,1	40,9
F. blanchies			
mai 1	91,7	77,1	39,9
nov. 2	91,1	79,1	38,7

Dans ces résidus d'extraction, on retrouve la majorité du carbone et de l'azote de la feuille. Ces produits ne constituent pas encore des "humines". En effet, ils incorporent encore des produits bruns qui n'ont pas été extraits à la soude pH 10 et ils ne sont pas associés à la matière minérale. Nous allons toutefois examiner leur comportement à l'hydrolyse acide, en même temps que celui de l'humine vraie des échantillons minéraux.

β) L'humine dans les échantillons minéraux

L'humine de la fraction inférieure à 50µ des échantillons minéraux représente de 30 à 50 % de l'humine totale (Tableau 19). Cette humine totale est constituée pour une part de matière organique fraîche (fractions supérieures à 50µ à C/N élevé, supérieur à 40) et de la fraction inférieure à 50µ à C/N plus bas, qui correspond davantage à une fraction humifiée.

Les teneurs globales en carbone et en azote diminuent de l'endentère à l'horizon A_1, les quantités totales de carbone et d'azote non extractibles augmentent avec le vieillissement des déjections. (Tableau 25).

Tableau 25.- Teneur en carbone et en azote de l'humine des échantillons minéraux (fraction inférieure à 50µ)

	C%	N%	C/N	C/C Fraction %	N/N fraction %
End.	7,2	0,51	14,0	37,8	26,5
T.F.	4,7	0,24	19,5	58,2	53,4
T.A.	3,7	0,19	19,6	59,1	62,5
A_1	2,6	0,15	17,0	72,1	70,5

La fraction inférieure à 50µ a été divisée en deux parties, par sédimentation (tableau 26) : 5µ < et 5-50µ

Tableau 26.- Répartition du carbone et de l'azote dans les différentes fractions de l'humine des échantillons minéraux (en % du carbone et de l'azote de la fraction inférieure à 50µ)

Sous-fractions	C/C fraction %	N/N fraction %	C/N
End. < 5µ	53,1	78,9	10,1
T.F. < 5µ	71,8	79,0	17,2
T.A. < 5µ	67,6	77,5	14,9
A_1 < 5µ	66,3	78,6	14,0
End. 5-50µ	46,9	21,8	31,5
T.F. 5-50µ	28,2	21,0	26,5
T.A. 5-50µ	31,4	22,5	27,6
A_1 5-50µ	33,3	21,4	27,4

Bien que pondéralement la fraction 5-50µ soit la plus importante (Tableau 14), environ 80 % de l'azote et 60 % du carbone de la fraction totale inférieure à 50µ se retrouvent dans la fraction inférieure à 5µ à C/N peu élevé. C'est donc dans la fraction inférieure à 5µ que se concentrent l'essentiel des composés humifiés.

b) Identification et importance des composés carbonés et azotés obtenus par hydrolyses acides (tableau 27)

Tableau 27.- Répartition des différentes formes du carbone et de l'azote dans les humines, après hydrolyses acides

	Carbone en %/Carbone initial			Azote en %/Azote initial de l'humine				
	C hydrol. total	Hexoses en équivalent carbone-glucose	C polyphénolique	N hydrol. total	N α-aminé	$N\text{-}NH_4^+$	N combiné	N non hydrol.
F. brunes								
mai 1	18,4	3,5	0,9	73,7	48,9	5,6	19,2	26,3
oct. 1	21,6	3,3	1,4	80,7	41,8	18,8	20,1	19,3
F. blanchies								
mai 2	21,7	4,4	1,1	55,7	39,1	4,1	12,5	44,1
oct. 2	20,4	3,5	1,5	64,9	33,0	14,5	17,4	35,1
End. < 50µ	31,4	6,1	2,6	66,2	30,9	2,9	32,4	33,8
T.F. < 50µ	41,2	10,5	3,9	76,6	37,9	7,0	31,7	23,4
T.A. < 50µ	40,9	9,3	4,9	80,3	42,5	9,3	28,5	21,8
A_1 < 50µ	40,1	9,3	6,2	84,9	41,3	10,2	33,4	15,1
dont End. < 5µ	36,9	6,9	3,9	74,4	33,1	2,3	39,0	25,6
T.F. < 5µ	36,6	4,3	3,6	79,7	41,6	3,6	34,5	20,3
T.A. < 5µ	37,4	3,3	5,1	84,3	47,4	6,2	30,6	19,8
A_1 < 5µ	42,9	5,1	7,5	89,8	46,2	8,4	35,2	10,1
et End. 5-50µ	25,1	5,2	1,2	45,5	27,2	5,8	12,5	54,6
T.F. 5-50µ	52,0	26,4	4,9	65,1	24,0	20,0	21,0	35,0
T.A. 5-50µ	49,1	22,2	4,7	71,7	25,4	19,9	26,4	28,2
A_1 5-50µ	35,0	17,5	3,8	69,3	24,2	17,1	28,0	30,7

- Formes du carbone

+ *Carbone total hydrolysable*

. Le taux de carbone hydrolysable varie peu dans les résidus non extractibles des feuilles. Ces fractions carbonées non extractibles sont sensiblement plus résistantes à l'hydrolyse que les acides humiques correspondants.

. Dans les humines des échantillons minéraux, la proportion de carbone hydrolysable augmente nettement par rapport à celle des feuilles. Elle augmente encore de l'endentère aux turricules frais, puis se stabilise. Les humines sont plus résistantes à l'hydrolyse que les acides humiques correspondants.

++ Hydrates de carbone :

. Les teneurs en hexoses varient peu dans le résidu non extractible des feuilles. Elles diminuent très légèrement avec le vieillissement des feuilles. Dans les "humines" des feuilles blanchies du mois de mai, ces teneurs sont légèrement pous élevées que dans celles des feuilles brunes.

. Dans les échantillons minéraux (fraction inférieure à 50µ), les teneurs en sucres sont beaucoup plus élevées que celles des "humines" des feuilles (10 % contre 4 %). Elles augmentent nettement de l'endentère à l'ensemble des turricules et horizon A_1. Ces variations se font dans le même sens que celles du carbone total hydrolysable. Ces teneurs sont de l'ordre de 3 à 6 % pour la fraction inférieure à 5 µ. Elles sont plus importante dans la fraction 5-50µ surtout pour les déjections.

. La totalité des hexoses se retrouve dans les humines, ce qui rejoint les observations de GUCKERT (1973). Une analyse qualitative de ces hexoses fait apparaître les répartitions suivantes (Figure 17) : dans les feuilles brunes, il y a essentiellement des hexoses : glucose, galactose et mannose ; dans les feuilles blanchies et également dans les déjections, il y a en outre des pentoses (arabinose, fructose, ribose et rhamnose) qui seraient d'origine microbienne, d'après certains auteurs (HORTON et WOLFROM, 1963;DECAU,1968 ; GUCKERT,1973).Cette hypothèse est étayée par la mise en évidence au M.E.T. (coloration de Thierry) de polysaccharides autour des colonies bactériennes. Toutefois, une origine animale de ces sucres n'est pas à écarter. En effet, le lombric secrète un mucus dont le principal composé serait, d'après NEEDHAM (1970), une glycoprotéine.

En résumé, comme on peut le voir sur la figure 17, les sucres obtenus par hydrolyse sulfurique sont essentiellement des hexoses dans les feuilles brunes et dans l'endentère,alors que dans les feuilles blanchies ainsi que dans les déjections, ces sucres sont des hexoses et des pentoses.

++ Carbone polyphénolique libre :

. Les teneurs en carbone polyphénolique sont légèrement plus forte dans les feuilles blanchies que dans les feuilles brunes. Elles augmentent avec le vieillissement des feuilles.

. Dans les humines des échantillons minéraux, ces teneurs augmentent aussi avec le vieillissement des déjections.

Cette libération de composés phénoliques au cours du vieillissement des échantillons peut être mise en relation avec une certaine dégradation des cellules ligneuses.

- Les constituants azotés

+ *Azote hydrolysable*

L'hydrolyse acide des humines libère une quantité élevée d'azote (jusqu'à 80 %). Cet azote hydrolysable est relativement plus abondant dans les feuilles brunes que dans les feuilles blanchies et augmente avec le vieillissement des feuilles. Il augmente aussi avec le temps dans les déjections, contrairement à ce qui a été observé pour les acides humiques.

++ Parmi les formes hydrolysables, c'est la forme α-aminée qui est la plus abondante et qui varie donc dans le même sens que l'azote hydrolysable.

++ L'azote ammoniacal est beaucoup moins abondant dans les échantillons. Il augmente avec le vieillissement des feuilles et celui des déjections, mais rappelons que ce type d'azote peut résulter aussi d'un artefact d'analyse (JANEL et al., 1977).

++ De 12 à 20 % de l'azote des feuilles et de 34 à 44 % de l'azote des turricules participent à des combinaisons complexes non identifiées (azote dit combiné). Il s'agit peut-être pour une part aussi d'artefacts réactionnels, engendrés par l'hydrolyse acide (recombinaisons entre composés saccharidiques et protéiques : JAMES, 1972). Les teneurs en ces composés azotés complexes augmentent avec le vieillissement des feuilles.

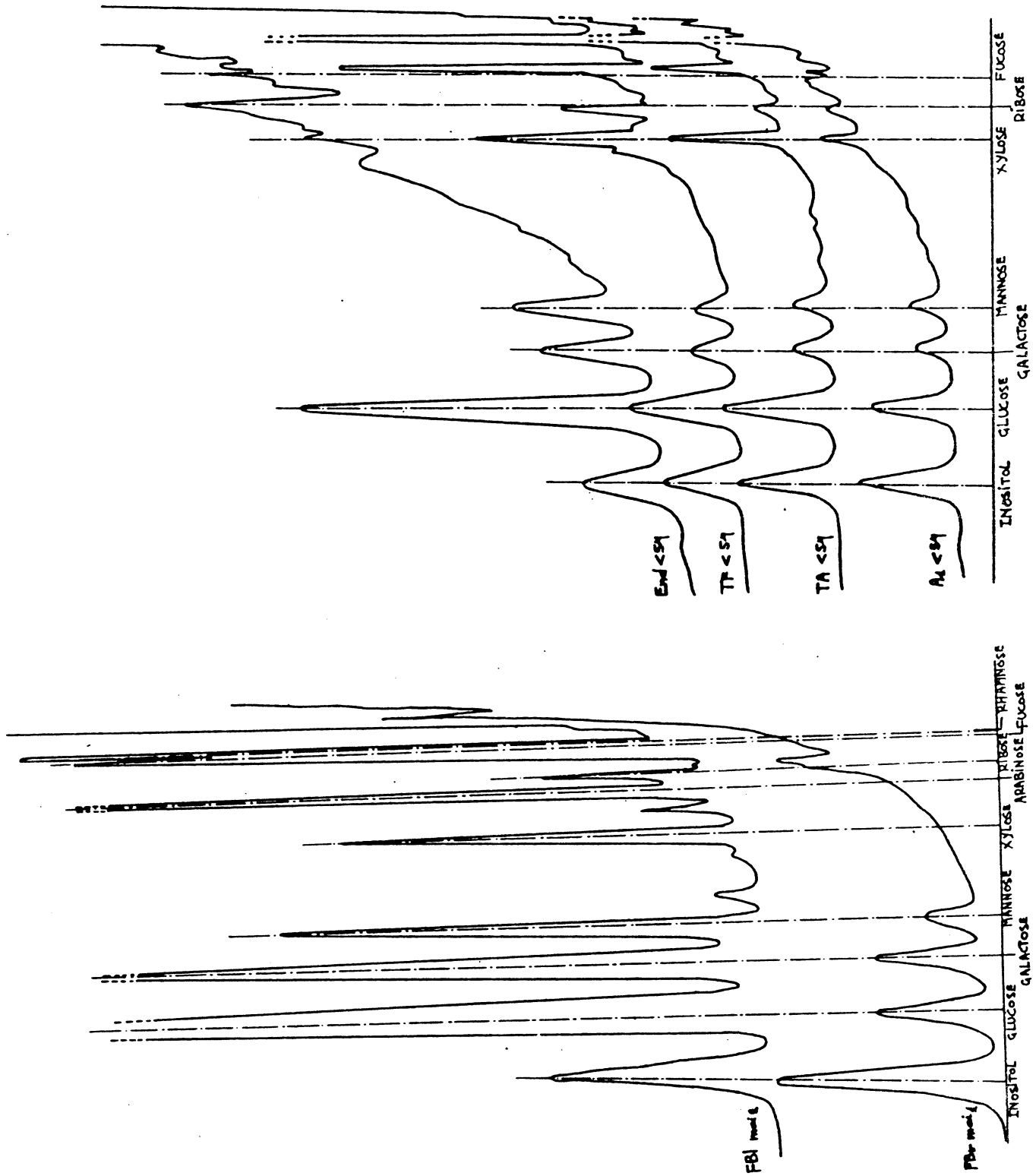


Figure 17.- Chromatogramme des sucres dans les résidus non extractibles des feuilles et dans les humines des échantillons minéraux.

+ *Azote non hydrolysable*

La forme non hydrolysable de l'azote organique est assez abondante, et nettement plus forte que dans les acides humiques correspondants. Elle diminue avec le vieillissement des feuilles, et également avec celui des turricules. Cette forme serait constituée principalement d'azote hétérocyclique (FLAIG, 1970 ; CHESHIRE et al., 1967). Elle est très stable, insoluble, non hydrolysable et résiste à la biodégradation microbienne.

- Les hexosamines (tableau 28)

Tableau 28.- Teneurs en hexosamines (et N acétylglucosamine) dans les résidus non extractibles des feuilles et dans l'humine de la fraction inférieure à 5µ des échantillons minéraux (en % de l'azote total de la fraction).

	N glucosamine / N fraction en %	N acétylglucosamine / N fraction en %	Total / N fraction
F. blanchies			
mai 2	8,33	0,65	8,98
End. < 5µ	10,35	0,50	10,85

Généralement, dans les sols, la détection de sucres aminés souligne la présence de matériel d'origine animale ou fongique (chitine). Ces hexosamines entrent dans la synthèse de matériel pariétal et sont résistants à la biodégradation. La forme N acétylglucosamine caractérise plus particulièrement le matériel pariétal fongique (MUZZARELLI, 1977). Ces héxosamines n'ont été décelées que dans deux échantillons : la feuille blanchie et l'endentère (essentiellement au bout de 8 heures d'hydrolyse). Nous avons alors obtenu une certaine quantité d'hexosamines et très peu de N acétylglucosamine. D'une façon générale, on admet que la forme N acétylglucosamine peut être transformée par désacétylations en hexosamines au cours d'hydrolyses prolongées (MUZZARELLI, 1977).

Dans les feuilles blanchies, ces teneurs en hexosamines sont liées à la colonisation fongique. Dans l'endentère, elles sont à relier à l'observation au microscope électronique à transmission, de nombreux débris de parois mycéliennes. Celles-ci sont dégradées dans la partie postérieure du tube digestif (cf. étude expérimentale ultérieure), ce qui expliquerait l'absence d'hexosamines dans les turricules et l'horizon A_1.

- L'acide diaminopimélique (tableau 29)

Tableau 29.- Teneurs en acide diaminopimélique dans les résidus non extractibles des feuilles et dans l'humine de la fraction inférieure à 5 µ des échantillons minéraux (en % de l'azote total de la fraction, ou de l'azote α-aminé)

	N-DAP/N α-aminé de la fraction	N-DAP/N total de l'humine de la fraction
F. brunes		
mai 1	0,16	0,08
oct. 1	0,57	0,24
F. blanchies		
mai 2	0,66	0,26
oct. 2	0,36	0,12
End. 5	0,15	0,05
T.F. 5	0,10	0,04
T.A. 5	0,15	0,07
A_1 5	0,39	0,18

Les teneurs en DAP sont plus abondantes dans l'hydrolysat de 24 heures que dans celui de 8 heures. Elles sont plus fortes dans les feuilles que d dans l'humine de la fraction fine des échantillons minéraux. Dans les feuilles brunes, elles augmentent avec le vieillissement, dans les feuilles blanchies, c'est le contraire, mais les valeurs obtenues au mois de mai sont nettement plus élevées.

Dans les déjections, les teneurs en DAP augmentent au cours du vieillissement. Le DAP est attribuable aux parois des bactéries Gram - (STEUBING, 1970). La taille des bactéries (et donc la quantité de DAP) varie avec la bactérie et le type de sol (AKAN'YEVA et al., 1979). Le dosage du DAP ne permet donc pas d'établir une numération rigoureuse des bactéries dans les échantillons ; il permet seulement de suivre l'évolution de l'humine microbienne, dont l'importance ici semble augmenter au cours du temps dans les échantillons.

Les molécules organiques azotées foliaires participent donc, non seulement à la constitution de polycondensats préhumiques, mais également à la synthèse de métabolites microbiens.

c) Discussion et conclusions

La proportion de matières non extractibles augmente avec le vieillissement des feuilles et celui des déjections.

La résistance à l'hydrolyse acide du carbone et de l'azote diminue au cours du vieillissement des feuilles et aussi au cours du vieillissement des déjections.

- En ce qui concerne le carbone, cette sensibilité accrue à l'hydrolyse s'explique par l'augmentation avec le temps des teneurs en polysaccharides dans les humines des déjections (polysaccharides d'origine microbienne). Il y a, d'autre part, une augmentation sensible du carbone polyphénolique au cours de cette évolution. Cette augmentation provient sans doute de la dégradation des épaississements lignifiés des tissus conducteurs et des tissus de soutien microdivisés, qui sont inextractibles à la soude pH 10 (SAUERBECK et FÜHR, 1968), et aussi des produits bruns non extraits pour une part à pH 10.

- En ce qui concerne l'azote, on retrouve dans les résidus des feuilles, une quantité d'azote hydrolysable qui est plus faible dans les feuilles blanchies que dans les feuilles brunes : l'azote, dans les feuilles blanchies, est sans doute incorporé dans des structures plus stables (en partie fongiques). Les quantités d'azote combiné sont nettement plus abondantes dans les résidus des extraits minéraux que dans ceux des feuilles. Dans les humines de l'endentère et des déjections, les teneurs en DAP augmentent avec le vieillissement, cette augmentation étant à mettre en parallèle, semble-t-il, avec la sensibilité à l'hydrolyse, qui croît, comme nous l'avons indiqué, avec le temps. Or, les variations de teneur en DAP, acide aminé qui entre dans la constitution des parois des bactéries Gram -, sont liées à la production de biomasse bactérienne et donc, à une certaine activité microbiologique (DECAU, 1971) ; il y a donc une biomasse bactérienne plus importante dans l'humine de l'horizon A_1 que dans celle de l'endentère. Rappelons que les parois bactériennes ne sont pas extractibles à la soude à pH 10 (JANEL, 1976), qu'elles sont peu biodégradables et par conséquent, qu'elles s'accumulent d'une façon relative dans les résidus d'extraction. Quant à l'azote α-aminé de ces humines, il est beaucoup mons abondant que celui des acides humiques correspondants, surtout pour l'endentère et les feuilles.

En conclusion, le résultat essentiel de cette étude sur la matière organique non extractible nous paraît être qu'à partir de feuilles essentiellement carbonées, se fabrique, au cours du travail intestinal, une matière organique relativement humifiée, qui est liée à la matière minérale. Cette matière organique évolue par la suite avec le temps sous l'influence des facteurs pédoclimatiques ; elle évolue aussi sous l'influence de la microflore, qui reprend certains de ces produits et abandonne des métabolites peu stables. La particularité nouvelle de cette humine est d'être constituée d'une fraction de néosynthèse biologique (polysaccharides d'origine microbienne et d'origine animale).

6.- Etude sommaire du support minéral dans les échantillons minéraux

a) Extraction des composés amorphes et oxydes (Tableau 30)

Dans les extraits au réactif de TAMM, on peut noter une très légère augmentation des teneurs en aluminium et fer, et au contraire, une diminution du silicium, au cours du vieillissement des déjections.

Dans les extraits au réactif de MEHRA-JACKSON, les variations des teneurs en éléments sont beaucoup plus nettes avec le temps ; les teneurs en silicium diminuent, alors que celles de l'aluminium et surtout du fer augmentent très nettement.

Tableau 30.- Teneurs en éléments amorphes et éléments oxydes, rapportées à la quantité totale de l'élément dans l'échantillon (en ‰)

	Eléments amorphes (réactif de Tamm)			Eléments oxydes (réactif de Mehra-Jackson)		
	Al	Si	Fe	Al	Si	Fe
End.	1,25	0,04	4,87	4,33	0,58	17,7
T.F.	1,83	0,03	6,30	4,59	0,33	47,3
T.A.	1,89	0,03	6,30	6,80	0,46	56,3
A_1	2,25	0,02	7,16	7,50	0,11	59,8

Cette augmentation des teneurs en oxydes (pour Al et Fe) est sans doute liée à l'altération des minéraux, qui croît jusque dans l'horizon A_1 et qui est due, pour une grande part, à une forte acidité organique.

b) Granulométrie (tableau 31)

Tableau 31.- Répartition granulométrique des échantillons (en % du minéral)

	End.	T.F.	A_1
Sables grossiers (2000-200µ)	9,0	8,8	8,9
Sables fins (200-50µ)	2,8	4,7	3,6
Limons grossiers (50-20µ)	18,7	18,3	18,1
Limons fins (20-2µ)	48,8	48,7	51,2
Argiles (< 2µ)	20,7	19,5	18,2

La répartition des fractions granulométriques varie peu entre les différents échantillons. On peut seulement noter l'existence de teneurs légèrement plus faibles en argiles inférieures à 2µ dans l'horizon A_1, par rapport aux autres échantillons.

Cette étude sommaire du support minéral des états successifs du brassage pédo-intestinal souligne l'existence d'une nette augmentation des teneurs en oxydes de fer des échantillons. Cependant, les variations des répartitions granulométriques des échantillons sont très faibles. Le support minéral ne subit donc que de très faibles transformations, qui n'ont aucune commune mesure quant à leur importance, avec celles subies par la matière organique.

7.- Remarques générales concernant la méthode utilisée

L'utilisation de la soude à pH 10 contrôlé et sous atmosphère d'azote n'extrait pas que les polycondensats humiques, et elle ne les extrait pas tous ; cependant, elle permet d'en solubiliser une quantité appréciable sans dénaturation. D'autre part, l'utilisation de ce réactif sur les feuilles et les déjections nous a fait craindre de regrouper sous des mêmes qualificatifs, des substances dont les significations biologiques sont peut-être différentes. En fait, tous les acides humiques extraits sont comparables entre eux et l'utilisation de la soude à pH 10 a permis de suivre l'évolution de la matière organique foliaire transitant par cette voie de l'humification.

Parmi les formes de l'azote, nous n'avons que peu étudié les formes minérales, parce qu'elles n'apparaissent que de façon transitoire (NO_2^- et NO_3^-). Elles sont promptement soustraites par les microorganismes et immobilisées sous forme d'azote organique. D'autre part, les états du brassage pédo-intestinal étant des "systèmes ouverts", ne permettent pas de dresser des bilans (lessivage, etc...). D'ailleurs, dans les horizons superficiels, il y a prédominance des formes organiques (95 % de l'azote total, selon KICKUTH et al., 1969, cité par JOCTEUR MONROZIER et ANDREUX, 1981), qui sont finalement d'exellents traceurs de l'évolution du matériel foliaire.

CHAPITRE III

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE TERRAIN

MODÈLES SIMPLIFIÉS

Nous rappelons que nous avons mis en place sur le terrain, une étude expérimentale constituée par les modèles suivants :

- horizon A_1 + vers de terre, sans feuilles
- horizon B_t + vers de terre + feuilles brunes
- horizon B_t + vers de terre + feuilles blanchies

1.- Observations macroscopiques

a) A la fin de l'expérience, dans les sacs témoins, sans vers, les feuilles restent intactes, mais elles sont tassées et aplaties.

b) Dans les traitements avec vers, beaucoup de feuilles sont tirées par les vers dans les ouvertures des galeries. D'après BOUCHE (1972), les feuilles ainsi accumulées dans les galeries sont mises en "incubation microbiologique", et ce comportement aurait un rapport avec le choix alimentaire. Les feuilles sont toutes très découpées (cf. Horizon L_T de BRUN, 1978). Les vers mangent les limbes foliaires, laissant les grosses nervures. Les feuilles blanchies sont consommées préférentiellement aux feuilles brunes, si les feuilles sont mélangées. En effet, les vers effectuent un choix alimentaire (DUNGER, 1958 ; DRIFT, 1950 cité par PEREL et SOKOLOV, 1964). Ce choix est orienté par la teneur en azote des feuilles (SATCHELL et LOWE, 1967 ; BOUCHE, 1972).

c) Les vers de l'espèce de *Nicodrilus velox*, même en présence de feuilles, avalent de la terre de l'horizon B_t en assez grande quantité. Ils creusent de nombreuses galeries, qui sont surtout localisées dans les 30 premiers centimètres, pour les traitements avec feuilles, alors qu'en l'absence de feuilles, elles sont beaucoup plus nombreuses et parcourent l'ensemble du sol.

d) Nous avons également observé la présence de cocons, ainsi que de jeunes dans les sacs avec vers, et les adultes avaient leur clitellum (preuve de la maturité sexuelle des vers).

2.- Caractérisation analytique de la matière organique des rejets

Nous appellerons les déjections "rejets", parcequ'elles ont été trouvées abandonnées dans les galeries. L'absence de turricules dans ces modèles expérimentaux est attribuée à la porosité élevée du milieu d'élevage (BOUCHE, 1972).

Tableau 32.- Teneurs en carbone et en azote des feuilles, des horizons minéraux et des différents rejets obtenus dans les modèles expérimentaux.

	C%	N%	C/N
F. Brunes : mai 1	44,0	1,08	40,8
F. blanchies : mai2	41,3	1,15	36,4
Terre horizon B_t	0,3	-	-
Terre horizon A_1	3,1	0,14	22,2
Rejets F. brunes	0,8	0,08	10,0
Rejets F. blanchies	0,7	0,10	7,0
Rejets horizon A_1	1,7	0,11	15,0

- Les rejets des vers des traitements avec feuilles, comme il fallait s'y attendre, se sont montrés plus riches en matière organique que la terre de l'horizon B_t, pris pour l'expérience. A partir d'une terre exempte de matière organique, les vers émettent des déjections ayant quelques teneurs par dégradation des feuilles (avec sans doute aussi assimilation partielle). Les rapports C/N de ces rejets sont bas, et celui des rejets des feuilles blanchies est encore plus faible que celui des rejets des feuilles brunes.

- Dans les rejets des vers des traitements sans feuilles, il y a moins de substance organique que dans l'horizon A_1, pris comme milieu d'élevage. Ceci s'explique visiblement par une assimilation partielle de la matière organique lors du transit intestinal. La baisse du rapport C/N de l'horizon s'explique par une assimilation différentielle du carbone et de l'azote.

a) Répartition pondérale des différentes fractions (Tab. 33)

La terre d'élevage, les rejets et endentères, ont approximativement la même répartition granulométrique. C'est la fraction inférieure à 50µ qui est, pondéralement, la plus importante (80 à 90 % du total).

Tableau 33.- Répartition granulométrique des différentes fractions dans les échantillons (en %)

	> 100µ	50-100µ	< 50µ
Endentères : F. brunes	18,1	3,9	78,1
F. blanchies	14,9	4,3	80,7
horizon A_1	13,1	2,9	84,0
Rejets : F. brunes	16,7	5,1	78,1
F. blanchies	15,0	4,3	80,7
horizon A_1	8,1	1,8	90,1
Horizon B_t	11,4	3,6	84,9
Horizon B_t + F. brunes	11,7	3,7	84,6

Au niveau de la fraction supérieure à 100µ, on observe toutefois une légère différence entre la terre d'élevage et les traitements. Cette différence est sans doute due à l'apport de débris de feuilles.

b) Répartition du carbone et de l'azote dans les fractions

Pour tous les échantillons, l'essentiel du carbone et de l'azote (80 à 90 %) se retrouve dans la fraction inférieure à 50µ. D'autre part, entre l'endentère et le rejet, on observe une diminution des teneurs en carbone et azote dans toutes les fractions. Cette diminution confirme bien celle que nous avons observée avec le vieillissement du turricule.

c) Extractibilité alcaline des fractions inférieures à 50µ des rejets

Tableau 34.- Extractibilité alcaline de la fraction inférieure à 50µ pour les différents rejets.

Frac.< 50µ	C % extrait / C (f. < 50µ)	$C_{AF/AH}$	N % extrait / N (f. < 50µ)	$N_{AF/AH}$	C/N_{AF}	C/N_{AH}
Rejets						
F. brunes	29,0	0,7	26,7	0,4	15,5	8,6
F. blanchies	32,3	0,6	20,8	0,3	16,5	8,6
Horizon A_1	29,2	0,5	37,4	0,5	12,8	13,6

L'extractibilité alcaline augmente nettement de la feuilles seule aux rejets modèles (8 à 30 %. Cette extractibilité est légèrement plus élevée dans les rejets du traitement avec feuilles blanchies.

La comparaison de l'extractibilité des rejets et celle des turricules correspondants étudiés précédemment (T.F. et T.A.) montre que le vers ingère non seulement des feuilles, mais également un sol contenant déja des produits extractibles (horizon A_1).

Les rapports AF/AH (exprimés par rapport au carbone ou par rapport à l'azote) sont comparables pour tous les rejets. Les acides fulviques ont des rapports C/N élevés et comparables pour tous les échantillons. Les acides humiques ont des rapports C/N plus faibles. Le passage des feuilles à travers le tube digestif accroît considérablement la solubilité des produits préhumiques.

- Cations dosés dans les extraits alcalins

Dans les extraits alcalins, seul l'aluminium est détectable par spectrométrie d'absorption atomique, mais les teneurs restent faibles et varient peu pour les différents échantillons.

d) Caractérisation des acides humiques (tableau 35)

Tableau 35.- Composition élémentaire des acides humiques des rejets comparée à celle des turricules et de l'horizon A_1 (fraction < 50µ)

	C%	N%	H%	O%	C/N
Rejets					
Feuilles brunes	39,0	1,6	4,8	54,6	24,4
Feuilles blanchies	37,3	3,0	4,0	55,7	12,4
Horizon A_1	33,6	2,8	4,0	59,6	12,0
Turricules "naturels"	51,5	4,9	7,1	36,4	10,3
Horizon A_1	50,5	4,3	5,9	40,2	11,6

Le composition élémentaire des acides humiques extraits s'apparente à celle des acides humiques des turricules précédemment étudiés. Toutefois les teneurs en carbone, azote et hydrogène sont légèrement plus faibles. Ces acides humiques sont moins azotés que les acides humiques des turricules (cf. rapport C/N), ce qui s'explique par une assimilation partielle de l'azote au cours du transit intestinal par le ver de terre, au moins dans les modèles.

Caractérisation fonctionnelle des acides humiques par spectrométrie infra-rouge

Les acides humiques des rejets donnent des spectres IR d'allure comparable à ceux des acides humiques des feuilles correspondantes (cf. c). Les bandes sont identiques, mais il y a une disparition des pics à 1520, 1525 et 1540 cm^{-1}, correspondant aux bandes peptidiques, ce qui confirme les résultats précédents.

3.- Caractérisation minéralogique des rejets

Une étude minéralogique aux rayons X a été effectuée sur les argiles de l'horizon B_t et sur les argiles du rejet traitement feuilles brunes. Les poudres inférieures à 2µ ont une composition minéralogique extrêmement proche. Les raies caractéristiques indiqueraient la présence de quartz, de kaolinite, d'halloysite, de glauconite et de vermiculite/montmorillonite. Ce diagnostic global ne permet pas de déceler s'il y a ou non une transformation de ces minéraux lors du transit dans le tube digestif du ver anécique.

4.- Observations en microscopie à haute résolution des échantillons obtenus dans le cadre de cette expérience

a.- Observations au M.E.B.

L'examen au M.E.B. de microprélevats montre que, dans l'endentère, les restes végétaux ingérés sont fortement fragmentés (Photo 11).

b.- Observations au M.E.T.

- La feuille brune : les caractéristiques ultrastructurales de ces feuilles ont été rapidement décrites précédemment (photos 1 et 2) ; nous donnons quelques précisions supplémentaires :

Dans la feuille brune tombée sur le sol depuis moins d'un an, les cellules épidermiques peuvent déjà présenter des figures d'altération, en particulier sous l'action des champignons et des bactéries de la "phyllosphère" (cf. Photo 12, dans laquelle on voit des amas de pigments bruns, dont certains ont été transformés par des filaments mycéliens). Dans les parenchymes, par contre, ces membranes pecto-cellulosiques se recroquevillent autour des amas opaques aux électrons, encore non altérés (photo 13). Les champignons sont rares, et les bactéries absentes. Les pigments bruns de ces feuilles peuvent être déjà un peu altérés par les champignons, dans les cellules épidermiques, alors qu'ils sont intacts dans les cellules parenchymateuses.

- la feuille blanchie : On observe dans la feuille blanchie, un éclaircissement général de l'ensemble des cellules (photo 14). Les cellules épidermiques sont fortement altérées, les amas opaques aux électrons ont disparu, ainsi que les enduits de pigments bruns, dont il ne reste plus que quelques traces. Les membranes pecto-cellulosiques sont fortement dégradées et parsemées de microgranules opaques aux électrons (KILBERTUS, 197 ; REISEINGER, 1972). Les parenchymes palissadiques et lacuneux se sont aussi éclaircis et l'opacité aux électrons a disparu. Les filaments mycéliens y sont nombreux et les parois altérées ; on observe aussi des bactéries à réserves polyosidiques dans le parenchyme collendrymateux. Quant aux fibres du sclérenchyme et aux vaisseaux du bois, les épaississement lignifiés ne sont pas altérés, mais la lumière est occupée par de nombreux filaments mycéliens (photo 15).

- l'endentère dans le modèle feuille brune :

+ au niveau de la partie antérieure du tube digestif : les cellules ont subi une altération mécanique ; certaines ont été broyées, d'autres ont été écrasées (photo 16). De ce fait, les enduits opaques aux électrons se

PLANCHE 3

Photo 11 : Contenu du tube digestif (endentère) de *Nicodrilus velox* (df = débris foliaires, M = grain minéral) (M.E.B.)

Photo 12 : Feuille brune initiale : Cellules épidermiques altérées par des champignons et des bactéries de la "phyllosphère" (Pb = produits opaques aux électrons) (M.E.T.)

Photo 13 : Feuille brune initiale : parenchyme palissadique avec Pb = produits opaques aux électrons, et membrane pecto-cellulosique intacte (M.E.T.)

Photo 14 : Feuille blanchie initiale : éclaircissement des produits opaques aux électrons dans le parenchyme palissadique, membrane pecto-cellulosique très altérée (M.E.T.)

Photo 15 : Feuille blanchie initiale : fibres du sclérenchyme et vaisseaux du bois avec épaississements lignifiés (Ep) non altérés (Fm = filaments mycéliens présents dans la lumière des fibres).

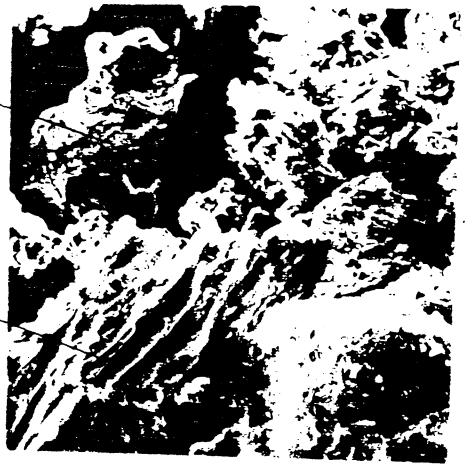


Photo 11 — 30µ

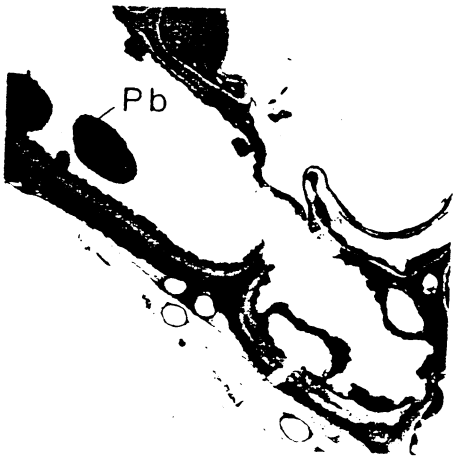


Photo 12 — 3µ

Photo 13 — 2µ

Photo 14 — 2µ

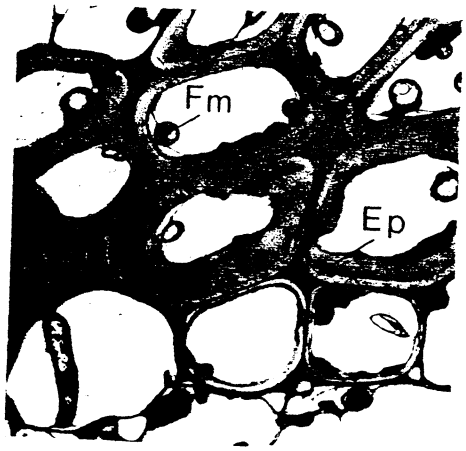


Photo 15 — 10µ

PLANCHE 3

décollent en lambeaux le long des parois, et certains amas globulaires subissent une fragmentation. Les cellules ou les fragments de cellules sont juxtaposés aux éléments phylliteux qui remplissent une grande partie des vides, les argiles s'adsorbent sur les parois (photo 17).

Les bactéries sont nombreuses dans ce milieu : bactéries isolées ou surtout colonies bactériennes entourées de mucilage, à la surface duquel adhèrent des phyllosilicates (photos 18, 19 et 20). Ces mucilages sont de nature polysaccharidique, comme le montre la réaction positive de Thierry (BRUCKERT et KILBERTUS, 1980). Les filaments mycéliens sont rares et réduits à des parois fongiques.

Les cellules des parenchymes peuvent être aussi fragmentées et remplies de minéraux argileux. Beaucoup d'enduits opaques aux électrons se desquament. Les parois pecto-cellulosiques ne semblent pas altérées. Les bactéries sont rares.

Le matériel végétal subit donc, dès ce stade, des transformations importantes par broyage des cellules et mise en contact avec des éléments phylliteux. Les bactéries, encore relativement peu nombreuses, se rencontrent surtout sous forme de colonies "baignant" dans un mucilage qu'entourent des éléments argileux. Les filaments mycéliens sont peu nombreux et vides.

+ au niveau de la partie postérieure du tube digestif : les cellules de l'épiderme présentent le même aspect que précédemment (beaucoup de cellules sont fragmentées ou ouvertes et remplies d'argiles : photo 21 ; la plupart des enduits de pigments bruns se desquament et se décollent des parois, les bactéries sont nombreuses, les colonies sont entourées d'argile).

Les cellules des parenchymes subissent le même type de transformation (enduits décollés et framentés, les fragments semblant se rassembler autour des amas globulaires, qui prennent de ce fait, ou du fait d'une altération spécifique, un contour festonné : cf. photo 22). On remarque aussi, sur l'ensemble des produits opaques aux électrons (enduits et amas), l'existence de perforations qui pourraient correspondre à des phénomènes de lyse (photos 23 et 24). Les éléments phylliteux envahissent les cellules et entourent les amas globulaires opaques aux électrons (photo 25). Les agrégats d'origine bactérienne sont nombreux, beaucoup de bactéries sont des bactéries GRAM - ; certaines (photo 26), du fait de leur structure particulière, peuvent être classées dans les bactéries du cycle de l'azote (ces bactéries présentent des invaginations cytoplasmiques caractéristiques : il s'agit très probablement de *Nitrobacter* et peut-être *Nitrobacter agilis* (JOSSERAND et CLEYET-MAREL, 1979) ; d'autres bactéries sont lysées et réduites à leur paroi (photo 27).

- l'endentère dans le modèle feuille blanchie :

+ au niveau de la partie antérieure du tube digestif : la fragmentation des tissus et des cellules est, là encore, plus avancée ; on ne rencontre plus de cellules entières dans ce milieu, mais seulement des fragments de parois, dont les microgranules semblent d'ailleurs avoir disparu. La surface de ces fragments de membrane cellulaire est irrégulière et présente des petits cupules remplis de minéraux argileux (photo 28). L'argile enrobe tous les fragments d'origine végétale (ce qui explique l'inefficacité des séparations densimétriques). Aucun mycélium vivant n'a été observé dans nos échantillons, les restes de filaments morts sont par contre nombreux, ils sont entourés d'argile. Les bactéries vivantes, par contre, ne sont pas rares, elles sont

PLANCHE 4

Photo 16 : Endentère (modèle feuille brune) : partie antérieure du tube digestif
Parenchyme palissadique avec desquamation des enduits opaques aux électrons (M.E.T.)

Photo 17 : Endentère (modèle feuille brune) : partie antérieure du tube digestif :
Adsorption de particules argileuses sur des restes de parois végétales (M.E.T.)

Photo 18 : Endentère (modèle feuille brune) : partie antérieure du tube digestif
Colonies bactériennes (B) entourées de mucilage (m) autour duquel s'adsorbent des phyllosilicates (a).

Photo 19 : idem

Photo 20 : idem

Photo 21 : Endentère (modèle feuille brune): partie-postérieure du tube digestif
Adsorption des phyllosilicates (a) sur les amas globulaires opaques aux électrons (Pb)

Photo 16 ——— 10µ

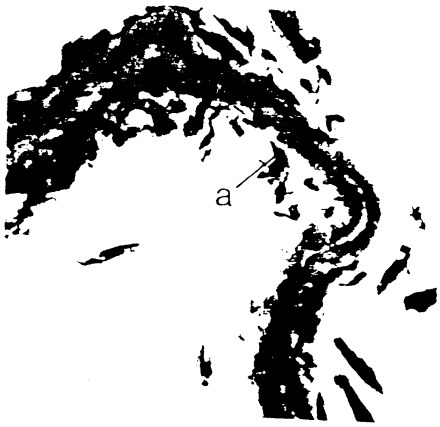


Photo 17 ——— 1µ

Photo 18 ——— 2µ

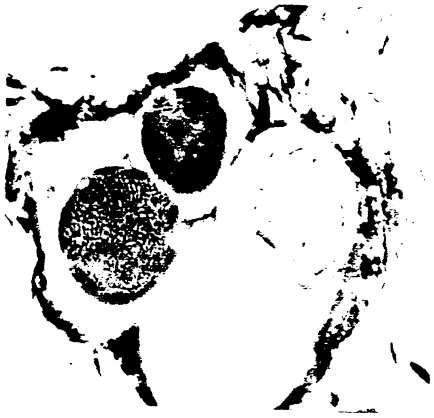


Photo 19 ——— 1µ

Photo 20 ——— 2µ

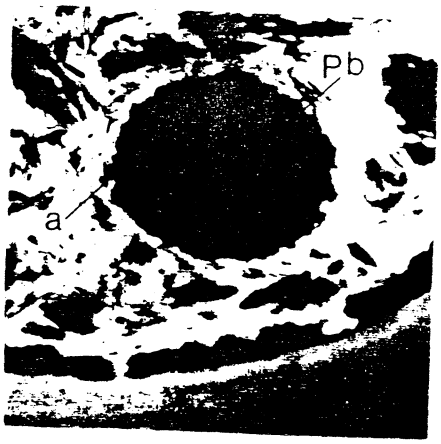


Photo 21 ——— 1µ

PLANCHE 4

surtout rassemblées en colonie, qui forment des agrégats entourés d'argile. Leur structure interne présente un aspect alvéolaire original (photo 29).

+ au niveau de la partie postérieure du tube digestif : les transformations précédentes sont encore plus nettes (érosion des surfaces membranaires, liseré de particules argileuses sur toutes les surfaces d'origine végétale). Les bactéries sont nombreuses (photos 30 et 31) ; elles se présentent surtout en colonies dans un mucilage polysaccharidique entouré de minéraux argileux (la structure interne de la plupart de ces bactéries rappelle celle des bactéries observées dans les feuilles blanchies initiales, mais l'aspect alvéolaire est beaucoup plus marqué).

c.- Discussions sur les transformations des débris foliaires observées dans l'endentère

- Système endentère-feuille brune :

Dans la partie antérieure de l'endentère, l'observation la plus importante est la désorganisation des cellules épidermiques de la feuille. Cette transformation, d'ordre mécanique, permet aux bactéries de pénétrer dans les cellules et d'accroître ainsi leur champ d'activité. D'autre part, elle entraîne un mélange intime entre les débris de parois, les restes de produits opaques aux électrons et les particules argileuses. Les tannins en enduit se détachent de la paroi cellulaire et se fragmentent. Ces phénomènes sont moins marqués dans les cellules plus "protégées" des tissus palissadiques.

Dans la partie postérieure de l'endentère, nous assistons à d'autres transformations, qui concernent l'ensemble des cellules de la feuille. Ce sont des processus lytiques d'ordre enzymatique, qui semblent être en cause. En effet, on assiste à un décollement systématique des enduits et à leur fragmentation. Les fragments produits présentent des figures de lyse (perforations) ; décollements et perforation sont très certainement à mettre en relation avec l'augmentation de l'extractibilité. D'autre part, ces morceaux d'enduits semblent s'agglutiner autour des amas globulaires qui, eux aussi, présentent une certaine érosion périphérique. Ces altérations libèrent sans doute des aminoacides.

Les particules argileuses pénètrent dans les cellules et s'adsorbent sur les membranes et autour des amas globulaires, ainsi que sur les exsudats bactériens, de nature polysaccharidique (néosynthèse bactérienne). Ces polyosides sont facilement biodégradables, mais une partie de ces polysaccharides, liés aux minéraux argileux, joue très certainement un rôle sur la stabilité de la structure, stabilité qui sera renforcée ultérieurement par les alternances d'humectation et de dessiccation.

Les nombreux restes de parois bactériennes constituent une humine microbienne (inextractible par les solvants alcalins : JANEL, 1976). La disparition des cytoplasmes bactériens (nature peptidique, C/N = 6) correspond à une assimilation de ces produits.

Les parois sont constituées, pour une part importante, de polysaccharides (cellulose) ; l'altération de ces produits (cellulolyse) conduit sans doute à la production d'oligomères de glucose, vite consommés par les bactéries. PARLE (1963) attribue cette altération aux cellulases produits par les lombriciens.

PLANCHE 5

Photo 22 : Endentère (modèle feuille brune) : partie postérieure du tube digestif
Cellule épidermique, décollement des enduits pariétaux opaques aux électrons, amas globulaires altérés (M.E.T.)

Photo 23 : Endentère (modèle feuille brune) : partie postérieure du tube digestif
décollement des enduits pariétaux et lyse par perforation (p) de ces produits opaques aux électrons (M.E.T.)

Photo 24 : Idem

Photo 25 : Endentère (modèle feuille brune) : partie postérieure du tube digestif
amas globulaire opaque aux électrons, entouré d'éléments phylliteux (M.E.T.)

Photo 26 : Endentère (modèle feuille brune) : partie postérieure du tube digestif
Colonie bactérienne (B) (bactéries du cycle de l'azote) dans mucilage entouré de particules argileuses (M.E.T.)

Photo 27 : Endentère (modèle feuille brune) : partie postérieure du tube digestif
décollement des enduits pariétaux opaques aux électrons et reste de membrane bactérienne (mb) (M.E.T.).

Photo 22 ——— 2µ

Photo 23 ——— 1µ

Photo 24 ——— 1µ

Photo 25 ——— 1µ

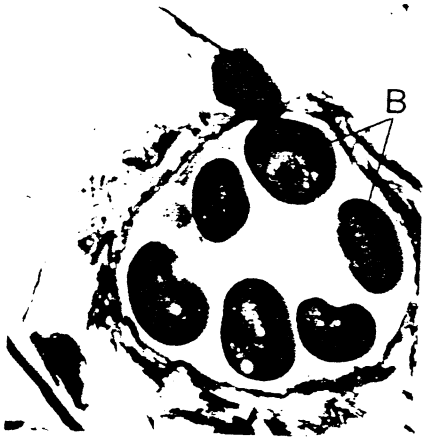


Photo 26 ——— 1µ

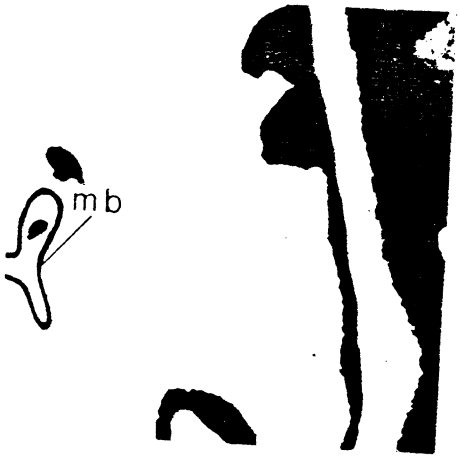


Photo 27 ——— 1µ

PLANCHE 5

- Système endentère-feuille blanchie :

Dans la feuille blanchie, on observe un éclaircissement de l'ensemble des pigments bruns et un assombrissement des parois cellulaires. Ce sont les champignons qui provoquent ces transformations (ouverture des noyaux aromatiques des composés phénoliques (HAIDER et MARTIN, 1975) et formation de microgranules de mélanines qui se fixent dans les parois).

Dans la partie antérieure de l'endentère, on constate la disparition de ces microgranules, sans doute assimilés par les bactéries ou les vers de terre. On peut observer aussi une certaine érosion des parois fragmentées, érosion qui se traduit par la formation de petites cupules, qui se remplissent d'argile. Cette altération aboutit très certainement à la production de glucose facilement assimilable. Les particules argileuses sont adsorbées sur les parois, et forment un liseré plus ou moins continu. Ces liaisons entre matière minérale et matière organique relativement fraîche aboutissent à une séquestration prédoc de ce type de matière organique (humine héritée).

Aucun mycélium vivant n'a été observé, alors qu'il y en avait beaucoup dans les feuilles blanchies. PARLE (1963) a d'ailleurs observé que les champignons ne se reproduisaient pas dans le tube digestif du ver. Les débris de mycélium sont par contre nombreux et entourés le plus souvent d'un liseré d'argiles. Ces débris font partie de l'humine microbienne.

Les cytoplasmes mycéliens sont très probablement assimilés par *Nématrilus velox*.

Dans la partie postérieure de l'endentère, les bactéries sont nombreuses et variées ; elles sont généralement en colonies et constituent des agrégats. Les colonies bactériennes sont en effet entourées d'exsudats polysaccharidiques, qui attirent des particules argileuses. Cette forme de liaison polysaccharides et matière minérale est assez fréquente. Les microgranules ont disparu et les parois sont très altérées.

La lumière des fibres du sclérenchyme est occupée par les restes de filaments mycéliens, et ces fibres commencent à subir des altérations. Les cellules ligneuses (bois et sclérenchyme) libèrent ainsi de nombreux composés phénoliques simples, extractibles par les solvants alcalins (BRUCKERT et al., 1967) (cf. Dosage phénols).

Les restes de mycélium sont absents dans cette partie de l'endentère, absence qui traduit sans doute la dégradation et l'assimilation de ces restes pariétaux (cf. dosage hexosamines).

Conclusion : La feuille ingérée par l'animal subit des modifications au niveau du tube digestif, par l'action mécanique et l'activité enzymatique. Des liaisons entre la matière organique et la matière minérale s'établissent : entre les particules argileuses et les restes de parois, entre les éléments phylliteux et les exsudats bactériens qui entourent les colonies, ou entre ces éléments minéraux et les tannins (enduits fragmentés et amas globulaires). Des hydrolyses extracellulaires décollent les enduits des membranes, les fragmentent, les altèrent (perforations) et les solubilisent.

Remarques : Ces méthodes d'observations microscopiques ne donnent qu'une idée approximative de l'ordre de grandeur des phénomènes considérés.

PLANCHE 6

Photo 28 : Endentère (modèle feuille blanchie) : partie antérieure du tube digestif
fragment de paroi cellulaire (mb) altérée "incrustée" de minéraux phylliteux (Fm = reste de filament mycélien) (M.E.T.)

Pnoto 29 : Endentère (modèle feuille brune) : partie antérieure du tube digestif :
Colonie de bactéries (B) à structure interne alvéolaire (M.E.T.)

Photo 30 : Endentère (modèle feuille blanchie) : partie postérieure du tube digestif :
Colonie de bactéries (B) à structure alvéolaire, entourées de polysaccharides et d'argile (M.E.T.)

Photo 31 : Idem (M.E.T.)

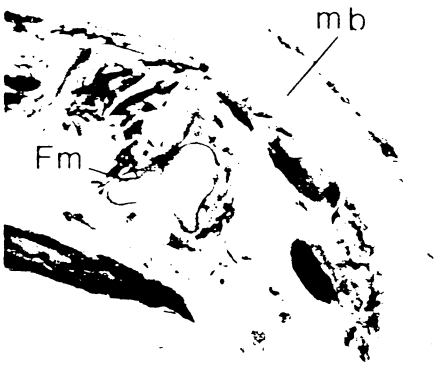


Photo 28 —— 1μ

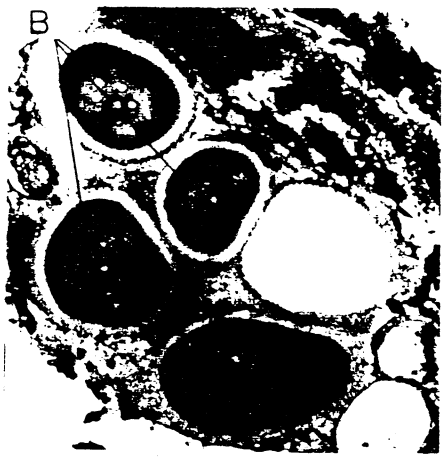


Photo 29 —— 1μ

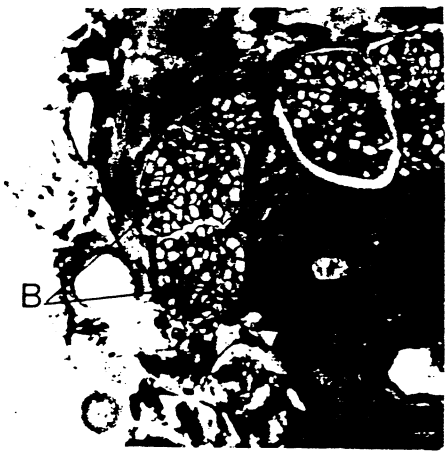


Photo 30 —— 1μ

Photo 31 —— 1μ

PLANCHE 6

Cependant, dans la mesure où nous avons retrouvé ces observations dans d'autres prélèvements, elles permettent de tirer des indications intéressantes sur les transformations du matériel foliaire dans le tube digestif de *Nicodrilus velox*.

5.- Conclusion

Les vers de l'espèce de Nicodrilus velox accélèrent notablement les transformations des feuilles déposées dans l'expérience, en les introduisant dans le sol :

- l'extractibilité des substances préhumiques augmente de 6 à 30 %. Leur charge protéique diminue. Les produits opaques aux électrons sont fragmentés et dégradés, et ils commencent à contracter des liaisons avec la matière minérale.

- les bactéries envahissent toutes les cellules ; elles se développent et s'entourent de sécrétions de nature polysaccharidique, sur lesquelles se fixent des particules argileuses, l'ensemble constituant des microagrégats.

La mise en évidence de ces microagrégats dans l'endentère est une observation importante. En effet, *ces microagrégats de nature biologique sont les premiers constituants organo-minéraux formés à la suite de l'activité des vers de terre* (et qui, finalement, aboutirons à la formation d'un mull). *Avec eux, apparaît un début de stabilité structurale, qui s'accentuera sous l'influence des conditions pédoclimatiques d'humectation et de dessiccation.* L'expérience, menée sur le terrain, a montré qu'en neuf mois, *à partir d'un substrat sans matière organique, auquel on a rajouté des feuilles, Nicodrilus velox induisait la formation de ces microagrégats d'origine biologique.* Des expériences complémentaires, qui seront reprises ultérieurement, ont montré qu'ils apparaissaient en fait, *en moins de huit jours.*

L'étude de ces modèles expérimentaux, menée in situ, confirme les résultats obtenus en forêt, sur les systèmes naturels, et nous a permis d'obtenir des renseignements originaux sur la formation des agrégats d'origine biologique. Les conditions expérimentales utilisées ici se sont avérées relativement proches des conditions naturelles, bien que certains éléments aient pu être perturbés (compétition interspecifique, écoulement de l'eau, etc...).

SYNTHÈSE ET CONCLUSION

SYNTHÈSE ET CONCLUSION

La faune du sol a fait l'objet, depuis une cinquantaine d'années, d'un grand nombre d'études. Il y a d'abord eu des recensements systématiques des animaux du sol, puis des études sur les exigences écologiques de ces organismes. La plupart des études actuelles portent sur la dynamique des populations et sur des problèmes de nutrition. Il n'y a en fait que très peu de travaux menés sur le rôle de ces animaux du sol dans la transformation et l'humification de la matière organique (BACHELIER, 1961 ; JEANSON, 1966 ; VANNIER et KILBERTUS, 1981), bien que ce rôle ait été constaté globalement par de nombreux auteurs (KUBIENA, 1953 ; HARTMANN, 1965 ; ZACHARIAE, 1965 ; BABEL, 1972 ; BOUCHE, 1972).

Nous nous sommes donc proposé d'étudier l'influence d'un ver anécique, fréquent dans l'Est de la France : *Nicodrilus velox*, sur l'humification des débris foliaires d'une Hêtraie. Pour ce faire, nous avons utilisé une méthode essentiellement biochimique, qui nous a permis :

- de connaître les caractéristiques du matériel foliaire initial,
- de suivre son évolution après son ingestion, puis son rejet et son intégration au sein de l'horizon A_1.

Cette démarche est originale, et ses résultats sont étayés par des observations au microscope électronique à transmission.

La feuille verte encore sur l'arbre est un matériel hétérogène, constitué de produits relativement inertes (membranes pectocellulosiques, épaississements lignifiés) et de produits beaucoup plus réactifs (contenus intracytoplasmiques). Si, au moment de la sénescence, les produits inertes ne subissent aucune transformation notable, il n'en est pas de même des contenus cellulaires des tissus fondamentaux (épidermes et parenchymes), qui subissent une préhumification veritable par la formation, du fait de la mise en contact des composés tanniques présents dans les vacuoles avec les protéines cytoplasmiques, de polyphénols protéines très stables et très difficiles à biodégrader. La persistance de ces produits (de couleur brune) caractérise les moder et les mor, leur disparition rapide, les mull (TOUTAIN, 1981).

La question que nous nous sommes posée en abordant ce travail, était de savoir ce que devenaient ces pigments bruns lorsqu'ils étaient ingérés par un ver de terre anécique, par exemple *Nicodrilus velox*, et quelle était leur évolution ultérieure.

Pour connaître l'importance initiale de ces produits bruns (opaques aux électrons) dans les feuilles qui tombent sur le sol, nous les avons extraits (après enlèvement préalable des cires, des graisses et des tannins hydrolysables ou peu condensés) par le diméthylformamide (DMFA). Nous avons, d'autre part, mis au point une méthode simple d'extraction par référence à l'extraction au DMFA, et abordé les problèmes d'efficacité et risque de néoformation. Cette méthode d'extraction partielle, à la soude pH 10 contrôlé, nous a permis de suivre l'évolution des produits bruns au cours de brassage pédo-intestinal.

I.- LA PREHUMIFICATION FOLIAIRE

La préhumification foliaire comprend deux temps :

- une phase d'humification chimique précoce : c'est celle dont nous venons de parler, et qui se fait au moment de la sénescence, avec brunissement de la feuille à la suite de la formation de pigments bruns par tannage des protéines du cytoplasme.

- une éventuelle phase biologique, avec blanchiment des feuilles à la suite de l'intervention des champignons de la pourriture blanche qui transforment, par lyse enzymatique, les produits bruns (REISINGER et al., 1980).

Les extractions au DMFA des feuilles brunes et des feuilles blanchies prélevées au mois de mai, au moment du réveil de l'activité des vers anéciques, permettent d'avoir une idée de la répartition du carbone et de l'azote des pigments dans ces feuilles (Figure 18).

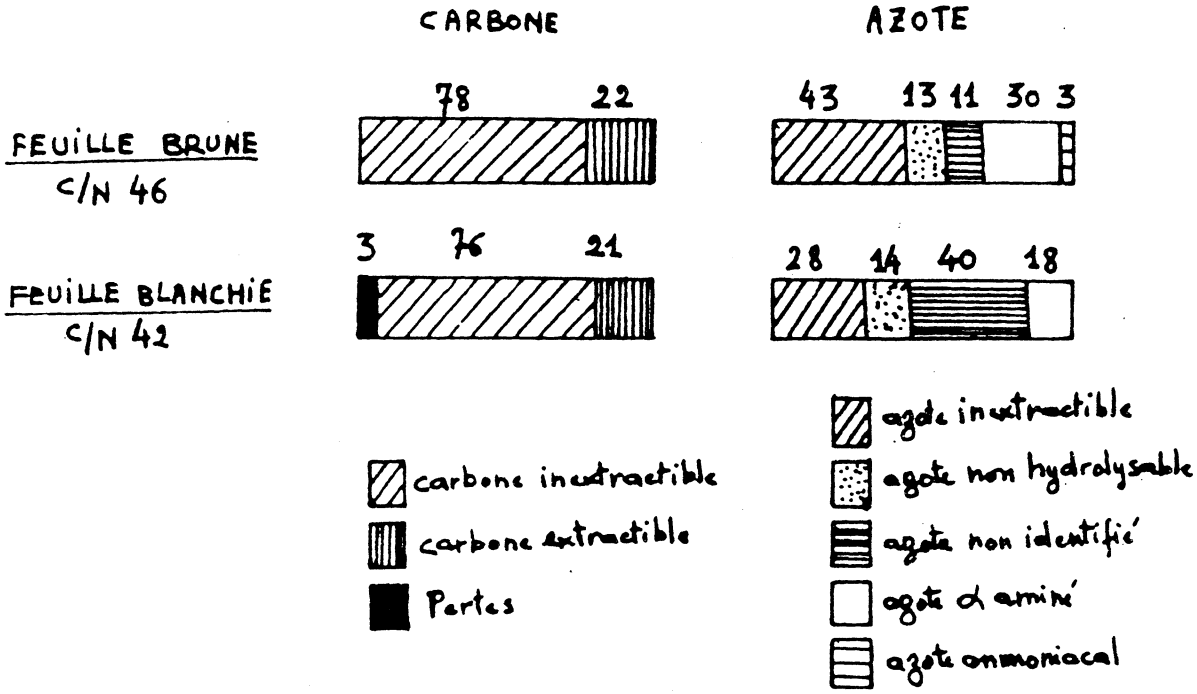


Figure 18.- Taux d'extraction du carbone et de l'azote par le DMFA (feuilles brunes et feuilles blanchies du mois de mai), représentation à azote constant.

+ 20 % du carbone et 60 % de l'azote des feuilles sont combinés sous forme de polyphénols-protéines (pigments bruns). Il est étonnant de retrouver, dans les feuilles blanchies, une quantité de produits extraits très proche de celle des pigments précédents, bien que ces produits ne soient plus opaques aux électrons, et qu'ils présentent quelques particularités.

+ L'azote extrait est essentiellement sous forme combinée, par opposition aux pigments bruns, dont l'azote est sous forme α-aminée pour la plus grande part.

+ De même, les structures sont moins condensées et beaucoup plus aliphatiques et acides que celles des systèmes tannins-protéines des feuilles brunes.

Les mécanismes essentiels que nous avons pu percevoir sont les suivants :

+ Dans les feuilles brunes, il y a polycondensation sans intervention des bactéries ni des minéraux argileux. Il y a humification, en quelque sorte intracellulaire. C'est un mécanismes essentiellement chimique.

+ Dans les feuilles blanchies, il y a dégradation des produits bruns, sous l'influence des filaments mycéliens, suivie de synthèse des phénols microbiens (KILBERTUS, 1970 ; MARTIN et HAIDER, 1971), et interactions chimiques donnant des produits moins condensés et réactifs. Ce sont des processus biologique et chimique qui sont ici en cause.

Toutes ces interprétations sont corroborées avec une évolution ultrastructurale observée au MET.

Ainsi, entre feuilles brunes et feuilles blanchies, les structures polyphénoliques qui représentent plus de 80 % du carbone et 60 % de l'azote, évoluent par diminution de l'opacité aux électrons et simplification des structures, qui s'enrichissent en polysaccharides et en phénols microbiens.

II.- TRANSFORMATIONS AU COURS DES ETAPES DU BRASSAGE PEDO-INTESTINAL

Nicodrilus velox ingère aussi bien des feuilles brunes que des feuilles blanchies. Nous discuterons des indices d'humification, puis nous tenterons un bilan des différentes fractions au cours de cette évolution. Les résultats analytiques dans les systèmes naturels, et ceux obtenus dans l'expérience, permettent les observations suivantes :

- dans le tube digestif, on peut noter différentes transformations :

+ *une microdivision d'ordre mécanique*, au niveau du gésier, suivie par la pénétration simultanée des particules argileuses et des bactéries de souches variées.

+ *une décomposition d'ordre enzymatique*, au niveau de l'intestin, portant :

. sur les résidus de parois. Cette cellulolyse constitue une source d'énergie accessible aux microorganismes ;
. sur les filaments mycéliens (protéolyse) et certains cytoplasmes bactériens ;
. sur les polycondensats humiques (hydrolyse enzymatique de ces produits).

+ *une biosynthèse de polysaccharides et de corps microbiens*, mais également de *mucus d'origine lombricienne*. Les colonies microbiennes, entourées de leurs exsudats, contractent des liaisons avec les particules argileuses, et constituent des microagrégats nouveaux. Tous ces produits constituent *l'humine microbienne*.

+ *une synthèse chimique*, qui aboutit à la formation *d'humine d'insolubilisation* au contact de la matière minérale, par polycondensation de composés aromatiques dégradés, s'associant avec divers composés (peptides, polysaccharides). Les restes des parois sont séquestrés par les minéraux argileux: ils constituent une *humine héritée*.

Dans l'endentère, la matière organique des feuilles subit donc une succession de décompositions et de synthèses, c'est-à-dire une humification, sous l'action mécanique et enzymatique du ver et de la microflore associée. Ces transformations aboutissent à différentes fractions humifiées et surtout, à l'apparition de microagrégats biologiques, premiers maillons dans la formation d'une structre, et donc d'un sol. La brunification, caractérisée par l'élaboration d'un complexe argilo-humique stable, commence donc dans l'endentère.

- Au cours du vieillissement des déjections et de leur intégration au sol, on peut noter :

+ une maturation des polycondensats humiques, notamment par dégradation des chaînes latérales aboutissant à la formation d'une humine d'insolubilisation.

+ en même temps, les synthèses biologiques augmentent la proportion d'humine microbienne, puisque la biomasse augmente en relation avec une forte activité microbiologique concentrée dans les turricules (DAY, 1950 ; PONOMAREVA, 1962 ; GHILAROV, 1963 ; PARLE, 1963). Cette évolution aboutit à la formation d'un horizon A_1, dont les caractéristiques de la matière organique restent finalement très proches de celles du turricule âgé.

III.- ESSAI D'ETABLISSEMENT D'UN BILAN DE L'HUMIFICATION

Nous avons tenté d'étudier les répartitions de toutes ces formes au cours de l'évolution des déjections. Ce bilan est très approximatif pour les raisons suivantes :

- les "pertes" (minéralisation, lessivage) sont sous-estimées par l'hypothèse de départ que l'azote est invariant, relativement au carbone.

- la quantité de carbone hydrolysable à HCl 3N (essentiellement saccharidique) correspond à la totalité du carbone de l'humine microbienne.

- les produits bruns, pour une part, s'insolubilisent sous forme de composés inextractibles (humine d'insolubilisation : DUCHAUFOUR, 1977), ou sont partiellement dégradés (acides fulviques) ou décomposés (CO_2).

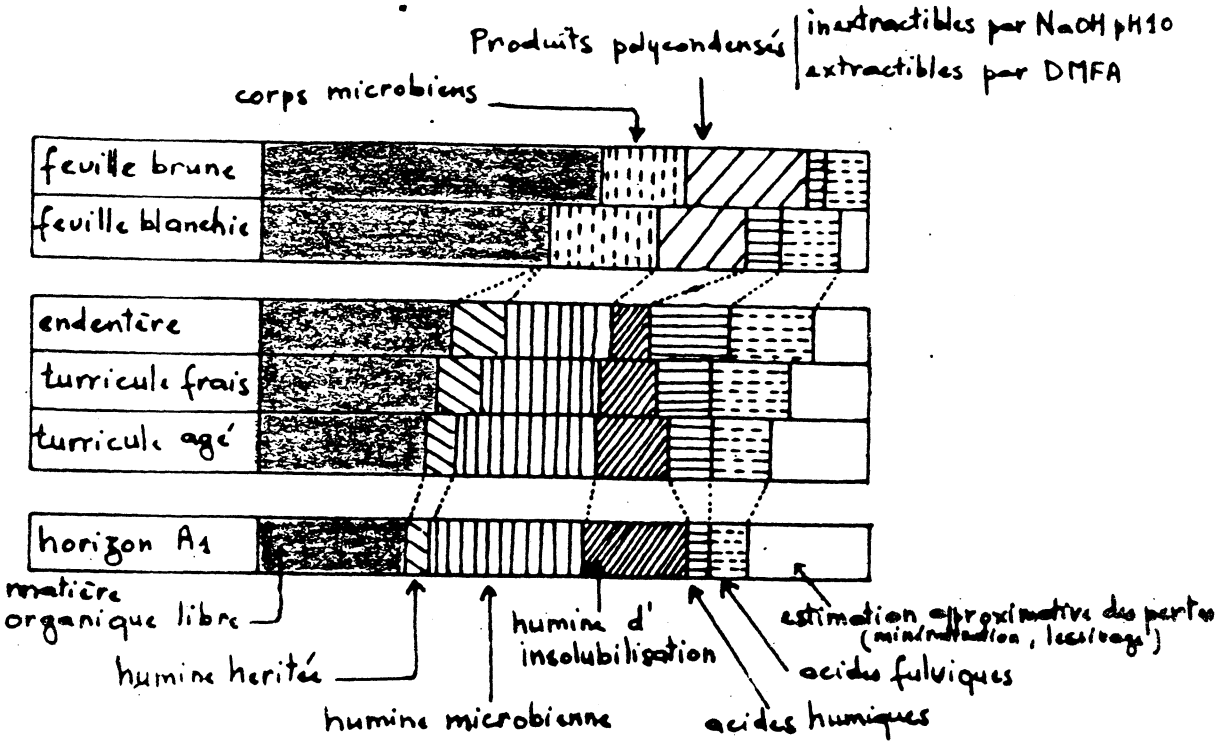


Figure 19.- Estimations approximatives de l'importance des différentes fractions humifiées au cours du brassage pédo-intestinal.

Ce bilan approximatif visualise le rôle de *Nicodrilus velox* :

- au cours de l'évolution des litières, on observe une succession de transformations sous l'influence de la colonisation mycélienne, bientôt relayée par l'envahissement bactérien (MANGENOT et TOUTAIN, 1980).

- dans ce système, l'intervention de *Nicodrilus velox* entraîne des transformations plus intenses :

+ La dégradation est plus importante : l'extractibilité augmente (de 6 à 30 %),

+ une partie de ces produits extractibles s'humifie et se lie à la matière minérale introduite brutalement ; il se constitue une humine d'insolubilisation (5 % du carbone initial de la feuille),

+ des synthèses élaborent des produits originaux et variés : il se forme une humine microbienne (15 %),

+ enfin, l'importance de la matière organique libre diminue (de 52 % à 37 %), tandis qu'une partie de cette matière organique relativement fraîche est séquestrée et constitue l'humine héritée (4 %).

Toute cette évolution est rapide, puisque le transit intestinal n'excède pas 24 heures.

Dans les déjections, la part de la matière organique fraîche, l'humine héritée, et surtout les produits extractibles fulviques, diminuent au bénéfice de l'humine microbienne (15 à 25 %) et de l'humine d'insolubilisation, qui, au total, augmente de 20 à 40 %. Cette évolution est également rapide, 2 à 3 mois.

La matière première végétale est donc progressivement remplacée par les produits de néosynthèses microbiennes, et par une fraction humifiée d'insolubilisation. La part de l'humine totale augmente au cours du temps. Cependant, cette humine est peu stable ; elle est vraisemblablement "peu évoluée" (DUCHAUFOUR, 1977). Au total, cette humification rapide, et la disparition très sensible de la litière fraîche, caractérisent les milieux actifs de type mull.

Au cours de cette évolution, la matière minérale semble subir quelques transformations, mais qui se déroulent à une échelle beaucoup plus réduite que celles de la matière organique. Elle semble surtout activer la transformation de la matière organique.

Les vers de l'espèce *Nicodrilus velox* sont donc bien des agents très actifs de l'humification des mull, favorisée par le pédoclimat et les alternances climatiques. Parmi les organismes de la faune du sol, les vers anéciques seuls réalisent le mélange simultané matière organique-matière minérale-microflore, alors que les autres consommateurs phytophages sont de simples décomposeurs de la matière organique, et ne fabriquent pas de microagrégats organo-minéraux.

Cette étude descriptive de l'humification des feuilles par un ver anécique a permis de proposer un schéma des processus d'humification, qui peuvent d'ailleurs varier suivant les espèces anéciques (LE BRETON, 1979 ; FERRIERE, 1977).

BIBLIOGRAPHIE

ALDAG (R.W.), 1977 - In : C.R. Coll. "Soil Organic Matter Studies, I.A.E.A. Vienna, vol. I., 293-299.

ANAN'YEVA (N.D.) et NIKITIN (D.I.), 1979 - Sizes of bacterial cells in some soils. Pochvovedeniye, 4, 132-135.

ANDREUX (F.), 1978 - Etude des étapes initiales de la stabilisation physico-chimique et biologique d'acides humiques modèles. Thèse Doct. Etat, Univ. Nancy I, 174 p. + annexes.

ANDREUX (F.), 1979 - Genèse et propriétés des moélcules humiques. In : Pédologie. Tome II : Constituants et Propriétés du sol. M. Bonneau et B. Souchier ed., Masson Paris Publ., 97-122.

ANDREUX (F.) et METCHE (M.), 1974 - Formation d'allomélanines préhumiques au cours de l'autolyse des feuilles de Juglans regia. II. Variations des propriétés fonctionnelles avec l'emcombrement moléculaire. In : C.R. Coll. "Biodégradation-Humification", Nancy Sept. 1974, 479-490. Pierron ed.

ANDREUX (F.), GOLEBIOWSKA (Dorota), CHONE (Thérèse), JACQUIN (F.) et METCHE (M.), 1977 - Caractérisation et transformations en milieu mull d'un modèle humique issu de l'autoxydation du système catéchol-glycine et marqué sélectivement au carbone-14. In : C.R. Coll. "Soil Organic Matter Studies", I.A.E.A. Vienna, SM-211/42, 43-57.

ANDREUX (F.), GOLEBIOWSKA (Dorota) et METCHE (M.), 1979 - Polymérisation oxydative des O-diphénols en présence ou non d'amino-acides. Cas des systèmes (Catéchol-glycocolle) et (catéchol-diglycylglycine). C.R. Assemblée Générale Groupe Polyphénols, Logrono (Espagne), mai 1979.

ATLAVINYTE (O.) et TENAGAS (W.), 1973 - Mobility of nutritive substances in relation to earthworm number in the soil. Pedobiologia, 13 (5), 344-352.

BABEL (U.), 1972 - Moderprofile in Wälden. Morphologie und Unsetzungsprozesse. Hohenheimer Arbeiten 50, Stuttgart, Ulmer Publ.

BACH (A.), 1980 - Evolution dans les conditions d'affleurement de shales uranifères à matière organique (Bassin Permien de l'Aumance, France). Thèse Doct. 3ème Cycle, Univ. Nancy I, 100 p.

BACHELIER (G.), 1961 - La faune du sol et son action. Ed. ORSTOM, Paris.

BACHELIER (G.), 1963 - La vie animale dans les sols. 279 p. Ed. ORSTOM Paris.

BACHELIER (G.), 1971 - La vie animale dans les sols. I et II. In : La vie dans les sols. Gauthier-Villars Ed., 1-45.

BAL (L.), 1970 - Micromorphological investigation in two moder-humus profiles and the role of the soil fauna in their genesis. Geoderma, 4, 5-36.

BAL (L.), 1977 - The formation of carbonate nodules and intercalory crystals in the soil by the earthworm *Lumbricus rubellus*. Pedobiologia, 17 (2), 102.

BHATNAZAR (T.), 1974 - Lombriciens et humification : un aspect nouveau de l'incorporation microbienne d'azote induite par les vers de terre. In : C.R. Coll. "Biodégradation et Humification", Nancy. Pierron Ed., 169-182.

BOUCHE (M.B.), 1967 - Observations sur les Lombricidés. I. Présentation générale. Revue d'Ecol. Biol. Sol, 4 (4), 597-598.

BOUCHE (M.B.), 1969 - Comparaison critique de méthodes d'évaluation des populations de Lombricidés. Pedobiologia, 9 (1-2), 26-34.

BOUCHE (M.B.), 1972 - Lombriciens de France. Ecologie et systématique. Ann. Zoologie-Ecologie Animale, I.N.R.A., n° hors série.

BOUCHE (M.B.), 1975 - Fonctions des Lombriciens. III. Premières estimations quantitatives des stations françaises du P.B.F. Rev. Ecol. Biol. Sol, 12 (1), 25-44.

BRUCKERT (S.), JACQUIN (F.) et METCHE (M.), 1967 - Contribution à l'étude des acides phénols présents dans les sols. Bull. E.N.S.A.N., IX (2), 73-92.

BRUCKERT (S.), HETIER (J.M.) et GUTIERREZ (F.), 1974 - Dynamique de l'humification des andosols du Massif Central français et des Iles Canaries : caractérisation physico-chimique des complexes organo-minéraux. Bull. A.F.E.S., Science du sol, 4, 225-245.

BRUCKERT (S.), ANDREUX (F.), CORREA (Adela), AMBOUTA (K.J.M.), et SOUCHIER (B.), 1978 - Fractionnement des agrégats appliqué à l'analyse des complexes organo-minéraux. Note technique C.P.B.-C.N.R.S. n° 22, 14 p.

BRUCKERT (S.) et KILBERTUS (G.), 1980 - Fractionnement et analyse des complexes organo-minéraux de sols bruns et de chernozems. Plant and Soil, 57, 271-295.

BRUN (J.J.), 1978 - Etude de quelques humus forestiers aérés acides de l'Est de la France. Critères analytiques. Classification morphogénétique. Thèse Doct. Spéc., Univ. Nancy I, 118 p.

BURGES (A.), HURST (H.M.), WALKDEN (S.B.), DEAN (F.M.) et HIRST (M.), 1963 - Nature of humic acids. Nature, London, 17 (199), 696-697.

CACHAN (P.), 1974 - Etude bioclimatique du massif vosgien. Bull. E.N.S.A.I.A. Nancy, XVI (1-2).

CAILLIER (M.), 1977 - Etude chronoséquentielle des sols sur terrasses alluviales de la Moselle. Genèse et évolution des sols lessivés glossiques. Thèse Doct. Spéc. Univ. Nancy I, 87 p.

CARBALLAS (Tarsy), ANDREUX (F.) et METCHE (M.), 1972 - Influence directrice de certains constituants de la litière sur l'élaboration et les propriétés de la matière organique d'un sol brun calcaire. Bull. E.N.S.A.I.A., Nancy, 34 (2), 245-269.

CHESHIRE (M.V.), CRANWELL (P.A.), FALSHAW (C.P.) et FLOYD (A.J.), 1967 - Tetrahedron, 23, 1669-1682.

CHESHIRE (M.V.), MUNDIE (C.M.) et SHEPHERD (H.), 1973 - The origin of soil polysaccharides : transformation of sugars during the decomposition in soil of plant material labelled with ^{14}C. J. Soil Sci., 24 (1), 54-68.

DAY (G.M.), 1950 - Influence of earthworms on soil microorganisms. Soil Sci. 69, 175-184.

DECAU (J.), 1968 - Les polysaccharides du sol : origine, évolution et rôle. Ann. Agron., 19 (1), 65-82.

DECAU (J.), 1969 - Contribution à l'étude de l'influence des conditions du milieu sur la répartition de l'azote dans le sol. II. Acides aminés extraits par hydrolyse. Ann. Agron., 20 (1), 35-39. III. Acides aminés et conditions d'aération. Ann. Agron., 20 (3), 277-303.

DUCHAUFOUR (Ph.), 1977 - Atals écologique des sols du monde. Masson, Paris ed.

DUCHAUFOUR (Ph.) et JACQUIN (F.), 1966 - Nouvelles recherches sur l'extraction et le fractionnement des composés humiques. Bull. E.N.S.A.N., 8 (1).

DUCHAUFOUR (Ph.) et SOUCHIER (B.), 1977 - Pédologie. Tome I : Pédogénèse et classification. Masson Paris éd., 477 p.

DUNGER (W.), 1958 - Uber die Voränderung des Follaubes im Dorm von Bodentieren. Z. Pflanzenern. Bodenkde, 82 (2/3), 174-193.

DUNGER (W.), 1963 - Leistungsspezifität bei Streuzersetzern. Soil organisms. Doeksen J., Van der Drift J. ed. North-Holland Publ. Co, Amsterdam, 92-102.

DUVIGNEAUD (P.), 1974 - La synthèse écologique. Doin, Paris, 296 p.

FERRIERE (G.), 1977 - Contribution à la caractérisation de l'endentère des Lombriciens : élaboration d'une méthode d'identification des fragments végétaux ingérés. D.E.A. Ecologie-Science de la Nature. Thèse 3ème Cycle Ecologie Microbienne, Univ. Claude Bernard, Lyon I.

FLAIG (W.), 1970 - Contribution à la connaissance de la constitution et de la synthèse des acides humiques. Conf. Paris, 16 avril 1970, Assemblée Générale A.F.E.S.

FLAIG (W.) et BREYHAN (T.), 1956 - Z. Pflanzenern. Bodenkde, 75, 132.

GHILAROV (M.S.), 1963 - On the interrelations between soil dwelling invertebrates and soil microorganisms. In : "Soil organisms", North-Holland Publ. Amsterdam, 255-259.

GRAFF (O.), 1967 - Sur la migration d'éléments nutritifs dans les sous-sols par les vers de terre. Landwirtschaft. Forsch., 20 (2-3), 117-127.

GRAFF (O.), 1967 - Uber di Verlagerung von Nährelementen in den Unterboden durch Regenwurmtätigkeit. Landwirtsch. Forsch., 22, 116-127.

GUCKERT (A.), 1973 - Contribution à l'étude des polysaccharides dans les sols et de leur rôle dans les mécanismes d'agrégation. Thèse Doct. Etat, Univ. Nancy I, 124 p.

GUCKERT (A.), 1975 - Origine et devenir des polysaccharides du sol. In : C.R. Coll. "Biodégradation et Humification, Nancy. Pierron ed., 116-127.

HAIDER (K.), FREDERICK (L.R.) et FLAIG (W.), 1965 - Reactions between amino-acid compounds and phenols during oxydation. Plant and Soil, 22, 49-64.

HAIDER (K.) et MARTIN (J.P.), 1975 - Decomposition of specifically carbon-14 labelled benzoic and cinnamic acid derivatives in soil. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 39 (4), 657-662.

HARTMANN (F.), 1965 - Waldhumusdiagnose auf biomorphologischer Grundlage. Springer Verlag, Berlin.

HORTON (D.) et WOLFROM (M.L.), 1963 - Polysaccharides. Comprehensive biochemistry. Vol. 5 : Carbohydrates, 7, 185-231. Florkin and Stotz ed. Cité par DECAU, 1968.

JAMES (L.B.), 1972 - Amino-acid analysis : the humin problem. J. Chromat., 68, 123-130.

NIELSEN (G.A.) et HOLE (F.D.), 1964 - Earthworms and the development of coprogenous A_1 horizons in forest soils of Wisconsin. Soil Sci. Soc. Amer. Proc.

PARLE (J.N.), 1963 - A microbiological study of earthworm casts. J. Gen. Microbiol., 31, 13-22.

PEREL (T.S.) et SOKOLOV (D.F.), 1964 - Evaluation quantitative de la participation des vers de terre Lumbricus terrestris L. (Lumbricidae oligochaeta) dans la transformation de la litière des forêts. Zool. J., 43 (11), 1618-1625.

PONOMAREVA (S.I.), 1950 - The role of earthworms in the creation of a stable structure in ley rotations. Pochvovedeniye, 476-486.

PONOMAREVA (S.I.), 1959 - The influence of the activity of the earthworms on the formation of stability structure of podzolic soil. Trudy Pochvennogo. Inst. inn. Dokuchaeva, 41, 304-78.

RAFIDISON (Z.), 1979 - Etude de la structuration par la pédofaune dans trois sols malgaches. D.E.A. Agro-Eco-Pédologie, Univ. Nancy I, 37 p.

RAW (F.), 1959 - Estimating earthworm populations using formalin. Nature, London, 184, 1661-1662.

REISINGER (O.), 1972 - Contribution à l'étude ultrastructurale de l'appareil sporifère chez quelques hyphomycètes à paroi mélanisée. Genèse. Modification et décomposition. Thèse Doct. Etat, Univ. Nancy I. 2 vol., 300 p.

REISINGER (O.), TOUTAIN (F.), MANGENOT (F.) et ARNOULD (Marie-France), 1978 - Etude ultrastructurale des processus de biodégradation. I. Pourriture blanche des feuilles de hêtre (Fagus sylvatica). Can. J. Microbiol., 24 (6), 725-733.

REISINGER (O.) et KILBERTUS (G.), 1980 - Mécanismes et facteurs de biodégradation en milieu forestier. In : Actualités et écologie forestières. P. Pesson ed. Gauthier-Villars Publ., 61-86.

REYNOLDS (E.S.), 1963 - The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol., 17, 208-212.

RIBEREAU-GAYON (P.), 1968 - Les composés phénoliques des végétaux. Dunod, Paris, 253 p.

ROUILLER (J.), BURTIN (G.) et SOUCHIER (B.), 1972 - La dispersion des sols dans l'analyse granulométrique ; méthode utilisant les résines échangeuses d'ions. Bull. E.N.S.A.I.A. Nancy, XIV (2), 193-205.

ROUILLER (J.), PHILIPPY (Renée), BARTOLI (F.) et GUILLET (B.), 1979 - Acidité dans les sols. Titration potentiométrique. Note technique C.P.B. n° 26.

RUSSELL (J.D.), JONES (D.), VAUGHAN (D.) et FRASER (A.R.), 1980 - A preliminary study of fungal melanin by infrared spectroscopy. Geoderma, 24, 207-213.

SAITO (T.), 1956 - Microbiological decomposition of beech litter. Ecol. Rev., 14, 141-147.

SAITO (T.), 1957 - Chemical changes in beech litter under microbiological decomposition. Ecol. Rev., 14, 209-216.

SAITO (T.), 1966 - Sequetial pattern of decomposition of beech litter with special reference to microbial succession. Ecol. Rev., 16, 245-254.

SATCHELL (J.E.), 1958 - Earthworm biology and soil fertily. Soils and Fertil. 21, 209-219.

SATCHELL (J.E.), 1960 - Earthworms and soil fertility. The new scientist, 7, (165), 79-81.

SATCHELL (J.E.), 1966 - Lumbricidae. In : "Soil Biology". Acad. Press Publ., 259-322.

SATCHELL (J.E.) et LOWE (D.G.), 1967 - Selection of leaf litter by Lumbricus terrestris. In : "Progress in soil biology". F. Vieweg ed., Brunswick, 102-119.

SAUERBECK (D.) et FÜHR (F.), 1968 - Alkali extraction and fractionation of labelled plant material before and after decomposition. A contribution to the technical problems in humification studies. In : Proc. Symp. on Isotopes and radiations in soil organic matter studies, Vienna, 3-11.

SAUSSEY (M.), 1956 - Observations sur les relations entre la composition physico-chimique du sol et son peuplement en Lombricidés. Arch. Zool. Exp. Gén. 93 N et R, n° 3, 123-134.

SCHEFFER (P.) et ULRICH (B.),1960 - Lehrbuch der Agrikulturchemie und Bodenkunde. III. Humus and Humusdüngung. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Publ., 266 p.

SCHNITZER (M.) et KHAN (S.V.), 1972 - Humic substances in the environment. Marcel Dekker, New-York Publ., 327 p.

SCHVARTZ (Ch.), 1975 - Evolution des hydrosolubles de litière de callune et de hêtre au cours des processus d'humification. Thèse Doct. ing. Univ. Nancy I, 81 p.

SMITH (I.), 1960 - Chromatographic and electrophoretic techniques. Vol. I. W. Heinemann ed. Interscience Publ. Inc. New York, Publ., 617 p.

STEUBING (L.), 1970 - Zentralbl. Bakt., Parasitkde, Infekt. und Hygiene, 124 (3-5), 245-249.

STEVENSON (F.J.), KIDDER (G.) et TILO (S.N.), 1967 - Extraction of organic nitrogen and ammonium from soil with hydrofluric acid. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 31, 71-78.

STEVENSON (F.J.), 1973 - Non biological transformation of amino-acids in soils and sediments. In : Adv. in organic Geochemistry. 6ème Cong. Int. Géochimie organique, 701-704.

SWIFT (R.S.) et POSNER (A.M.), 1971 - Gel chromatography of humic acid. J. Soil Sci., 22 (2), 237-249.

SWIFT (R.S.) et POSNER (A.M.), 1972 - Nitrogen, phosphorous and sulphur contents in humic substances.fractionated with respect to molecular weight. The J. Soil Sci., 23 (1), 50-57.

SWIFT (M.J.), 1973 - The estimation of mycelial biomass by determination of the hexosamine content of wood tissue decayed by fungi. Soil Biol. Biochemistry, 5, 321-332.

TAMM (O.), 1922 - Um bestämmung ow de oorgeniska komponenterna i markens gelkomplex. Medd. Statens Skogsförsökomt, 19, 385-404.

THOMPSON (R.S.), JACQUES (D.), HASLAM (E.) et TANNER (R.J.), 1972 - Plant Proanthocyanidins. Part I. Introduction : the isolation ; structure and distribution in nature of plant Procyanidins. J. Chem. Soc. Perkin trans. I. p. II 9/10, 1387-1399.

TISSUT (M.), 1968 - Etude du cycle annuel des dérivés phénoliques de la feuille de Hêtre (Fagus sylvatica L.). Physiol. Végét, 6, 351-365.

TOLLIN (G.) et STEELINK (C.), 1966 - Biological polymers related to catechol-electron paramagnetic resonance and infrared studies of melanin, tannin, lignin, humic acid and hydroquinones. Biochim. Biophys. Acta , 112, 377-379.

TOUTAIN (F.), 1974 - Etude écologique de l'humification dans les hêtraies acidiphiles. Thèse Doct. Etat, Univ. Nancy I,114 p.

TOUTAIN (F.), VILLEMIN (Geneviève), ALBRECHT (A.) et REISINGER (O.), 1982 - Etude ultrastructurale des processus de biodégradation. II. Modèle enchytraéides-litière de feuilles. Pédobiologia (à paraître).

TOUTAIN (F.), 1982 - Les humus forestiers. Structures et modes de fonctionnement. Rev. Forest. Fr. (à paraître).

VAN DER LINDE (M.J.H.R.), 1971 - Availability of protein in leaf litter (an enzymological approach). In : C.R. IV Coll. Pédobiologie, Dijon, 1970. Ann. Zoologie-Ecologie animale. N° Hors série, 137-348.

VAN KREVELEN (D.W.), 1961 - Coal. Elsevier, Amsterdam Publ., 514 p.

VANNIER (G.) et KILBERTUS (G.), 1981 - Participation des insectes collemboles et des microorganismes telluriques aux processus de migration des substances organo-minérales. In : C.R. Coll. Int. C.N.R.S. Nancy "Migrations organo-minérales dans les sols tempérés. C.N.R.S. Paris Publ., 133-144.

VISSER (S.A.), 1964 - A physico-chemical study of the properties of humic acids and their changes during humification. The J. Soil Sci., 15, 202-209.

YASUNOBU (K.T.), PETERSON (E.W.) et MASON (H.S.), 1959 - J. Biol. Chem., 234-329. Cité par C.N.R. RAO in : UV and visible spectroscopy chemical applications. Butterworths, 1975, 3rd ed. 242 p.

ZACHARIAE (G.), 1965 - Welche Bedeutung heben Enchytraeen im Waldboden. In : Soil Micromorphology. Proc. 2nd Int. Working Meet. on Soil Micromorphology, Arnhem, Amsterdam. A. Jongerius ed. Elsevier, Amsterdam Publ.

WURSCH (P.), ROSSET (J.) et SMILEY (M.), 1980 - Tanins condensés de la gousse (verte et mûre) de Cerotonia siliqua L. Poster Ass. Gén. Groupe Polyphénols Neuchâtel, Sept. 1980.