ACADEMIE DE MONTPELLIER

UNIVERSITE DE MONTPELLIER (MONTPELLIER II)
SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

THESE

présentée à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc
pour obtenir le diplôme de DOCTORAT
Spécialité :

PHYSIOLOGIE, BIOLOGIE DES ORGANISMES ET DES POPULATIONS

TRANSFORMATION ET TRANSLOCATION DE L'AZOTE SOUS INFLUENCE LOMBRICIENNE ET MICROBIENNE : MODELES ET VALIDATION ECOLOGIQUES

par

HAMEED HASSAN Rasheed

Soutenue le devant le Jury composé de :

M.me	PARIS-PIREYRE	Président
MM.	M.B. BOUCHE	
	A. CHALAMET	
	J. CORTEZ	
	P. LAVELLE	

A mes Parents,

A ma femme,

A mes filles, Samar et Saba.

Travail de recherche effectué dans le groupe "Interactions plantes - ressources du sol" du C.E.F.E. - C.N.R.S. sous la direction scientifique de J. Cortez et M.B. Bouché.

AVANT PROPOS

Ce travail a été réalisé dans le groupe "Interactions plantes - ressources du sol" au C.E.F.E - C.N.R.S.

Au terme de la rédaction d'une thèse, c'est un devoir agréable d'exprimer, en quelques lignes, la reconnaissance que l'on doit à tous ceux dont on a recherché ou rencontré la collaboration.

Mes remerciements vont donc à toutes les personnes qui, par leur aide, leurs conseils avisés et leurs encouragements, ont contribué à la réalisation de ce travail.

J'adresserai une mention toute particulière à Mr. J. Cortez, Directeur de Recherche au C.N.R.S., et à Mr. M.B. Bouché, Directeur de Recherche à l'I.N.R.A., responsable du laboratoire de Zooécologie du Sol, qui m'ont proposé ce sujet de recherche. Pour leur aide matérielle et morale, leur collaboration, leurs encouragements, leurs conseils et leur soutien, que je ne saurais jamais oublier, qu'ils trouvent ici l'expression de ma respectueuse gratitude et de ma profonde reconnaissance.

A Madame Paris, Professeur à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier II, qui a bien voulu examiner ce texte et me faire l'honneur de présider ce jury.

A Monsieur Lavelle, Professeur à l'Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, qui m'a fait l'honneur de juger ce travail et d'accepter d'en être le rapporteur malgré ses nombreuses responsabilités tant en France qu'à l'étranger.

A Monsieur Chalamet, Maître de Conférences à l'Université Claude Bernard de Lyon I, qui a accepté d'examiner ce travail, de faire le rapport et de prendre part à ce jury. Qu'il soit assuré de ma reconnaissance.

A Monsieur Billès, Chargé de Recherche au C.N.R.S.
je lui suis reconnaissant pour l'aide qu'il m'a apportée lors de discussion que nous avons eues tout au long de ce travail.

A Monsieur Janès qui, par sa collaboration technique, a largement contribué à l'aboutissement de ce travail.

A Monsieur Joffre, Chargé de Recherche au C.N.R.S. Je lui suis reconnaissant pour sa contribution à la détermination des espèces végétales de la station de Lavérune.

Mes remerciements vont également à l'ensemble du personnel du Groupe "Interactions plantes- ressources du Sol", qui, par sa gentillesse, m'a permis de travailler dans une ambiance amicale.

Je remercie aussi les membres du laboratoire de Zooécologie du Sol. Mademoiselle Aliaga et Monsieur Soto qui m'ont toujours accueilli avec devouement et sympathie et mon ami, Al-Addan, étudiant en thèse, pour sa contribution à l'effort collectif et pour son aide amicale.

J'aurai soin de ne pas oublier dans mes remerciements tous mes camarades étudiantes et étudiants, qui m'ont apporté, en plus de leur aide, le réconfort de leur amitié.

Au personnel de terrain du C.E.F.E., pour l'aide précieuse, qu'ils m'a toujous apporté.

A Messieurs les dessinateurs du C.E.F.E., qui ont réalisé les figures de ce texte avec un soin attentif.

Je tiens aussi à remercier le personnel du Bureau Culturel Irakien à Paris et celui du C.R.O.U.S. de Montpellier pour leur gentillesse et leur disponibilité durant mon séjour en France.

PLAN DE LA THESE

Pages

INTRODUCTION GENERALE 7

CHAPITRE I: NOTIONS GENERALES 11

1.1 Systèmes écologiques et modélisation 12

1.2. Le milieu herbacé 16

1.3. L'azote, élément majeur 16

1.4. Echanges métaboliques des lombriciens avec leur milieu 18

1.4.1 Concepts généraux 18
1.4.1.1. Le métabolon: Notion d'individu biochimique 18
1.4.1.2. L' ingestion 18
1.4.1.3. L' assimilation 20
1.4.1.4. L'émanation 20
1.4.1.5. Notion de débit 20
1.4.2. Choix alimentaire 21
1.4.3. Digestion et assimilation 22
1.4.4. Emanation 22
1.4.4.1. Excrétion 22
A. Excrétats cutanés 22
B. Excrétats intestinaux 23
1.4.4.2. Elaboration 24
1.4.5. Défécation 24
1.4.6. Influence du métabolisme lombricien sur l'activité microbienne 25
1.4.6.1. Activité microbienne des turricules 25
1.4.6.2. Activité microbienne de la drilosphère 25

CHAPITRE II: MATERIEL ET METHODES 27

2.1. Dosage du carbone total (C_t) et du carbone radioactif (^{14}C) 28

2.2. Dosage de l'azote minéral 28

2.2.1. Extraction de l'azote minéral 28
2.2.2. Dosage des ions NH_4^+ 28
2.2.3 Dosage des ions NO_3^- 28

2.3 Dosage de l'azote total 29

2.4 Dosage de l'azote 15 29

2.4.1 Principe de la spectrométrie optique 29
2.4.2 Préparation des échantillons 29

2.5 Biomasse microbienne 30

2.5.1 Carbone de la biomasse microbienne 30
2.5.1.1 Fumigation du sol 31
2.5.1.2 Respirométrie 31
2.5.2 Azote de la biomasse microbienne 31
2.5.2.1. Fumigation du sol 31
2.5.2.2 Extraction et dosage de l'azote total 32
2.5.2.3 Détermination de ^{15}N de la biomasse microbienne 32

2.6 Marquage au ^{15}N des plantes servant de nourriture aux lombriciens 32

2.6.1 Choix des plantes 32
2.6.2 Culture des plantes 33
2.6.2.1 Cas des expériences réalisées au laboratoire 33
2.6.2.2 Cas des expériences réalisées dans la nature 34

2.7 Choix des lombriciens 34

2.7.1 Description des catégories écologiques des lombriciens 34
1) Les épigés 36
2) Les endogés 36
3) Les anéciques 36
2.7.2 Prélèvement des lombriciens in situ 36
- méthodes physiques: 37
- méthodes éthologiques: 37
2.7.3 Conditions d'élevage au laboratoire 38
2.7.3.1 Température du sol 38
2.7.3.2 Humidité du sol 38
2.7.3.3 Aération du sol 38
2.7.3.4 Alimentation des lombriciens 38

CHAPITRE III: INFLUENCE DU SYSTEME LOMBRICO-MICROBIEN SUR LES TRANSFERTS D'AZOTE - ETUDE EN MICROCOSMES. 41

3.1. Introduction 42

3.2. Etude en microcosmes des transferts d'azote des litières vers les plantes sous influence lombrico-microbienne 44

3.2.1. Matériel et méthodes 44
3.2.1.1. Caractéristiques du sol 45

3.2.1.2. Caractéristiques des lombriciens 45
3.2.1.3. Caractéristiques des litières 46
3.2.1.4. Dispositifs expérimentaux 46
3.2.1.5. Analyses statistiques 50
3.2.2. Résultats 50
3.2.2.1. Compartiment sol 50
A. Litière à C/*N 9,5 50
A.1. En présence de lombriciens 50
A.2. En absence de lombricien 54
B. Litière à C/*N 42,6 54
3.2.2.2. Compartiment biomasse microbienne 56
A. Litière à C/*N 9,5 56
B. Litière à C/*N 42,6 56
3.2.2.3. Compartiment lombricien 60
3.2.2.4. Compartiment plante 62
A. Production de biomasse végétale 62
B. Origine de l'azote assimilé par les plantes 67
B.1.Litière à C/*N 9,5 67
B.2.Litière à C/*N 42,6 67
3.2.3. Discussion et conclusions sur les transferts en microcosmes 69
1) Au niveau des lombriciens 69
2) Au niveau des plantes 72

3.3. Biostimulation des plantes par les lombriciens 84

3.3.1. Matériel et méthodes 86
3.3.1.1. Les microcosmes 86
3.3.2. Résultats 86
3.3.2.1. Dynamique de l'azote minéral dans le sol 86
3.3.2.2. Activité lombrico-microbienne 88
3.3.2.3. Dynamique de l'azote dans les plantes 92
3.3.3. Conclusion sur la biostimulation 97

3.4. Etude du renouvellement de l'azote par les lombriciens 100

3.4.1. Introduction 100
3.4.2. Matériel et méthodes 102
3.4.2.1 Caractéristiques du sol 102
3.4.2.2 Caractéristiques des lombriciens 102
3.4.2.3 Caractéristiques du compartiment litière 102
3.4.2.4 Méthodes utilisées 102
3.4.3.5 Dispositifs expérimentaux 103
3.4.4. Résultats 104
3.4.4.1 Etats de l'azote dans le sol et la biomasse microbienne 104
3.4.4.2 Cinétiques de l'azote au niveau des lombriciens 104
A. Dispositif A (S+ *V+L) 106
B. Dispositif B (*S+*V+*P+L) 107
C. Vérification des ordres de grandeur des débits obtenus 110

D. Conclusion sur le renouvellement de l'azote 110

CHAPITRE IV: ETUDES *IN SITU* DES TRANSFERTS D' AZOTE D'ORIGINE LOMBRICIENNE (*LUMBRICUS TERESTRIS* L.) VERS LES PLANTES 111

4.1 Station de l'expérience 112

4.1.1. Principales espèces et recouvrement moyen à la station de Lavérune 112

4.2. Matériel et méthodes appliqués *in situ* 113

4.2.1 Coloration des lombriciens 114

4.2.1.1. Deshydratation partielle des lombriciens 114

4.2.1.2. Technique de coloration 114

4.2.2 Marquage des lombriciens au ^{15}N 116

4.2.3 Lâcher *in situ* des lombriciens marqués au ^{15}N 116

4.2.4 Recapture *in situ* des lombriciens marqués au ^{15}N 118

4.3. Délimitation des compartiments étudiés 118

4.3.1. Compartiment Sol 118

4.3.2. Compartiment Lombricien 119

4.3.3. Compartiment Turricules frais 119

4.3.4. Compartiment Végétal 119

4.3.5. Compartiment de Transfert Lombricien --> Plante (CTLP) 120

4.3.6. Codification des compartiments 120

4.4 Résultats 123

4.4.1. Changements d'états et émanation des lombriciens 123

4.4.2 Assimilation d'azote d'origine lombricienne par les plantes 123

4.4.3. Les Turricules 128

CHAPITRE V: CONCLUSIONS GENERALES 133

5.1 Introduction 134

5.2. Modélisations, validations et interpolations 134

5.2.1.Du végétal au système sol: Rôle des litières 138

5.2.2. Du système sol au végétal: Disponibilité des éléments et activité microbienne. 138

5.2.3. Modélisation: déphasage et ajustement 141

RESUME 145

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 147

INTRODUCTION GENERALE

L'azote est un élément souvent limitant comme en témoigne la nécessité de son apport en agriculture. Au niveau du système sol-plante cet azote est essentiellement sous deux formes:

-1) minérale assimilable par les plantes et les microorganismes

-2) organique c'est à dire lié par anabolisme à des molécules carbonées

Les microorganismes, en utilisant une source énergétique généralement d'origine végétale, ont la possibilité de "réorganiser" l'azote minéral libéré par d'autres organismes en azote organique.

Il y a en fait très peu d'azote minéral assimilable dans ce système organisé (généralement moins de 10% dans les sols cultivés). Par contre, la plus grande partie de l'azote se trouve sous forme de biomasses (végétale, animale, microbienne) et de nécromasses (litières, humus sous formes variées ;Cortez et Schnitzer, 1979). Cet azote de la nécromasse représente l'essentiel de ces formes azotées du système sol-plante (nous négligeons, dans ce raisonnement, l'azote arrivant dans ce système sous forme, par exemple, d' aérosols, de gaz ammoniac et par fixation biologique et l'azote quittant le système par volatilisation, lessivage ou dénitrification).

Il y a donc concurrence d'accès aux formes minérales de l'azote entre microorganismes et plantes.

D'une façon générale, si les sources énergétiques accessibles aux microorganismes sont abondantes, ceux-ci utilisent l'azote minéral disponible et créent une carence pour les végétaux: c'est la "faim" d'azote décrite par les agronomes notamment après l'enfouissement des pailles.

Depuis longtemps, on exprime globalement les systèmes favorisant la minéralisation, donc l'existence d'azote minéral libre, par un rapport global C/N organique faible. Par contre, un rapport élevé témoigne d'une faible disponibilité.

Dans l'étude des 1255 sites de France, Bouché (1972) a montré que les lombriciens anéciques étaient étroitement associés aux sols de type mull à $C/N < 13$. Dans ces sols, les litières formées chaque année par la partie aérienne de la végétation sont ingérées, enfouies ou/et digérées par ces animaux. Par ailleurs, Satchell (1963) estime à partir des données de Needham (1957), ce que pourrait être la part d'azote émané par les lombriciens sous forme de cadavres (2/3) et d'excrétats (1/3). Il arrive à une estimation de 100 $kg.ha^{-1}.an^{-1}$. De nombreuses recherches de laboratoire ont précisé la nature des excrétats et leur production et des études de terrain ont permis d'estimer les biomasses lombriciennes succeptibles de libérer l'azote. On trouvera dans la synthèse de Lee (1985) un bon résumé de ces travaux. Toutefois, comme le souligne Bouché (1977), ces estimations ne sont pas réfutables car on ne savait pas mesurer, en conditions écologiques, le débit d'azote à travers le compartiment lombricien.

La mise au point d'un marquage par coloration des lombriciens (Meinhardt, 1976; Mazaud, 1979), la maîtrise de l'usage des isotopes (Dietz,1979) ont ouvert la voie à la mesure *in situ* de débit d'éléments chez ces animaux.

Ferrière (1986) devait utiliser ces moyens en pratiquant des marquages au laboratoire (^{14}C, ^{15}N) et au terrain (coloration, ^{15}N). Il a montré que le débit d'azote avait été fortement sous estimé par les travaux antérieurs. Il observe, pendant quarante jours, dans une prairie permanente, un renouvellement corporel de l'azote de 10% par jour. L'extrapolation de ces résultats à l'année, pour un peuplement lombricien moyen de 153 $g.m^{-2}$, aboutit à un débit de 630 kg $N.ha^{-1}.an^{-1}$ pour les seuls excrétats.

Un tel résultat suggère un phénomène qui n'a pas été envisagé par les modèles expérimentaux classiques. Il fallait approfondir les systèmes d'échange dans le sol en abordant simultanément les compartiments majeurs qui peuvent être conceptuellement identifiés à savoir: le sol, la plante (parties aériennes et racinaires), les biomasses lombriciennes et microbiennes. Contrairement à un usage fréquent, nous ne dissocierons pas ces cinq compartiments lors de leur fonctionnement expérimental. Cela signifie que nous avons mis en oeuvre des microcosmes comportant ces cinq compartiments en leurs états initiaux, puis nous avons laissé fonctionner les systèmes en fournissant de la litière aux vers de terre, sans intervenir. Nous arrétons ce fonctionnement à des dates fixées auxquelles nous observons les changements d'état qui en résultent.

Nous n'avons donc pas conçu des dispositifs binaires (sol-plante, glucose-microorganismes) ou ternaires (engrais-sol-plante ou lombricien-sol-plante) mais un système complet quant à ses composantes principales (sol-plante-microorganismes-animaux); en effet, la vie microbienne est indissociable de l'activité racinaire (rhizosphère) et lombricienne (drilosphère) et est diffuse dans le sol.

Nous nous attacherons donc, après un rappel de notions de base (Chapitre I) et une présentation des méthodes (Chapitre II) à une étude de ce système complexe par diverses approches expérimentales (Chapitre III) pour étudier les mécanismes en cause.

Les travaux antérieurs et cette recherche expérimentale, pour être utiles, doivent permettre en outre une utilisation rationnelle des résultats. Ceux-ci doivent être applicables aux systèmes écologiques le plus largement possible. Les fonctions de transfert, tant des matières carbonées que de l'azote, s'appliquent aux écosystèmes. Pour utiliser et réutiliser les résultats, il faut qu'ils s'inscrivent dans une approche systémique qui comporte des modèles simples ou complexes permettant une prédiction par simulation; ces prédictions étant ultérieurement validables vis-à-vis des systèmes réels.

Nous nous sommes donc aussi attaché à valider les modèles de laboratoire (microcosmes) avec des mesures dans les systèmes réels (au champ). Un tel investissement devant s'appliquer si possible à de nombreuses situations écologiques, nous nous sommes également attaché à valider les hypothèses d'extrapolation et à étendre les résultats obtenus par Ferrière (1986) à un autre site et à une espèce lombricienne différente. Cette validation et généralisation des modèles sont présentés au chapitre IV avant de conclure (chapitre V).

CHAPITRE I

NOTIONS GENERALES

Le présent travail, bien que focalisé avec précision, s'inscrit (1) dans une recherche collective sur l'écologie prairiale (Casimir, cf. 1.2), (2) spécifique des lombriciens (cf. 1.1) et (3) dans un contexte d'écologie générale sur les transferts d'azote (cf. 1.3). Les "Notions générales" qui vont suivre visent à situer nos recherches dans un contexte préexistant et s'appuient sur les concepts et les nomenclatures développées notamment par Casimir (1982) et Bouché (sous presse).

1.1. Systèmes écologiques et modélisation

L'Ecologie étant la " science **globale** étudiant les relations des organismes avec **leur** milieu" (version simplifiée de la définition originale), les systèmes écologiques sont biophysico-chimiques, le milieu étant sur le plan quantitatif essentiellement abiotique. Un système est concrètement une "combinaison d'éléments qui se coordonnent pour concourir à un résultat ou de manière à former un ensemble". Un système écologique sera donc un ensemble concret de **compartiments** reliés par des **cinèses** d'échanges entre eux ou avec l'extérieur; ces composants (=compartiments et cinèses) forment un ensemble cohérent interconnecté. Etant écologiques, ils s'appliquent aux domaines où les organismes sont dans **leur** milieu et non dans un milieu artificiel.

La modélisation écologique est un processus continu visant, à partir de données issues des systèmes écologiques, à les représenter sous forme de **modèles**. Ces modèles tendent à mimer la réalité et sont comparés aux systèmes pour voir leur degré de **validation**. Comme il y a plusieurs degrés dans la validation (notamment une autovalidation comparant les données initiales obtenues depuis le système ou ses représentations), cette validation aux systèmes écologiques concrets est l'**écovalidation**.

La modélisation met en oeuvre, tour à tour ou simultanément, plusieurs types de modèles.

- les **diagrammes**, ou modèles conceptuels, qui permettent une représentation des idées que l'on se fait sur les systèmes, par différentes figurations ou maquettes ayant un rôle didactique de communication et permettant de poser les limites d'une validation.
- Les **microcosmes**, ou modèles physiques, qui sont des dispositifs permettant de mettre en oeuvre la transposition des compartiments retenus, pour étudier leurs changements d'états et les cinèses dans un modèle simulant les systèmes réels.
- Les **infosystèmes**, ou modèles mathématiques, basés sur les informations issues directement des systèmes ou indirectement des microcosmes et visant à traduire des changements d'état des compartiments ou à calculer, par mode dérivé, les cinèses entre ces états.

Comme indiqué en introduction, notre travail s'inscrit à la suite d'une série de travaux portant, d'une part, sur les lombriciens, mais aussi sur le système prairial (cf. le paragraphe suivant). Ces recherches sont souvent focalisées sur les éléments carbone et azote. Pour notre part, nous nous sommes essentiellement interessé à l'azote (cf. 1.3).

Le modèle du "Rôle Ecologique et Agronomique des Lombriciens" (REAL), proposé dès 1976 au stade conceptuel, s'est depuis complété et amélioré. Son diagramme actuel (REAL II) est donné figure 1.1 (p.14) et sert de cadre à notre étude qui, elle, portera sur les deux autres types de modèles à savoir microcosmes et infomodèles. Soulignons que Gounod et Bouché (1974) ont souligné l'importance de la **transposabilité** de tels modèles, c'est à dire la possibilité d'utiliser les acquis de la modélisation en variant les positions dans l'espace et le temps. Cette transposabilité permet d'appliquer à divers lieux et dates, les connaissances acquises ailleurs et, réciproquement, d'apporter aux modèles synthétiques les informations écologiques acquises en différentes circonstances. Pour que cette transposabilité soit optimale, il faut que le modèle n'exige que peu d'informations locales et que celles-ci soient accessibles à un coût acceptable. La figure 1.2 (p.15) montre schématiquement les données nécessaires pour REAL en différentes circonstances où les peuplements sont sous contraintes écologiques et d'origines humaines.

Les populations, relatives à diverses espèces (L_1,L_2,L_N...), peuvent être regroupées en catégories écologiques fondées sur les caractéristiques morphofonctionnelles des lombriciens, ce qui permet de comparer des espèces dans des lieux différents. Le niveau des populations indique à la fois les limitations locales "naturelles" et les effets des actes humains.

REAL nécessite également des informations sur les variables d'ambiances qui conditionnent l'activité des lombriciens. Heidet et Bouché (sous presse) ont montré que ces variables sont au nombre de trois: l'humidité, la photopériode et la température.

1) L'humidité: Elle agit éventuellement comme un seuil en tout ou rien. En dessous de pF=3,4 (0,25MPa), les lombriciens sont actifs et au dessus inactifs. Nous nous sommes placé sous ce seuil tant en microcosme qu'au champ.

2) La photopériode: Elle agit sur les euanéciques, c'est à dire sur des animaux à diapause induite, par voie endocrine, par cette durée du jour. Nous avons choisi *Lumbricus terrestris* L., un épianécique, sans diapause, pour nous affranchir de cette contrainte.

3) La température: Elle agit sur l'activité des poïkilothermes. Nous l'avons régulée (en serre) et enregistrée (au champ) et nous avons cherché à en connaître l'incidence sur nos observations.

Notons toutefois que les conditions de transposabilité du modèle REAL se fondent sur des hypothèses, telle l'identité fonctionnelle des anéciques entre eux qui mérite d'être vérifiée. Nous reviendrons sur ces validations de modèles dans le chapitre V.

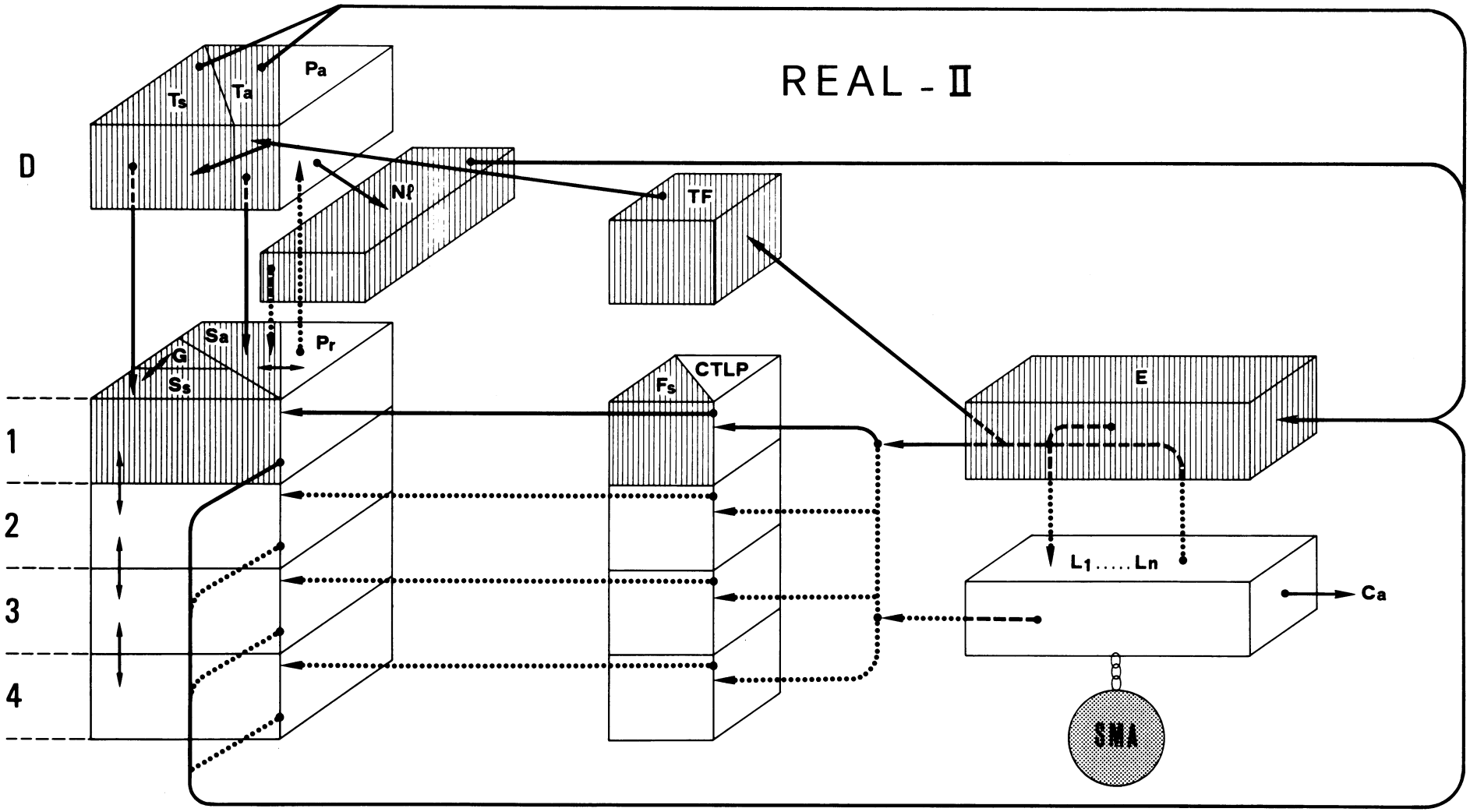

Figure 1.1: Modèle conceptuel sur le Rôle Ecologique et Agronomique des Lombriciens (2ème version : REAL - II). Les lombriciens ingèrent la terre stable (**Ts**) et assimilable (**Ta**) ainsi que la nécromasse à l'état de litière (**Nl**) dans le contenu de leur tube digestif (=endentère :**E**). Les diverses populations lombriciennes (L1...Ln) assimilent ces ingestats ou les défèquent dans le sol. Les assimilats sont finalement excrétés dans le sol ou consommés (élaborats) par les prédateurs (**Ca**). Excrétats et fèces circulent vers le sol stable (**Ss**) et assimilable (**Sa**) et les racines via les turricules frais (**TF**) puis stables (**Ts**) et assimilables (**Ta**). Les fèces endogés (**Fs**) ou le Compartiment de Transfert Lombricien-Plantes (**CTPL**). Ces fonctions créent des macropores ou galeries (**G**) et permettent le transfert vers les plantes depuis les racines (**Pr**) vers les parties aériennes (**Pa**) puis, à leur mort, vers la litière (**Nl**). Toute cette activité est régulée par les conditions hydriques et thermiques par sous-modèle d'activité (**SMA**) (d'après Bouché, sous presse).

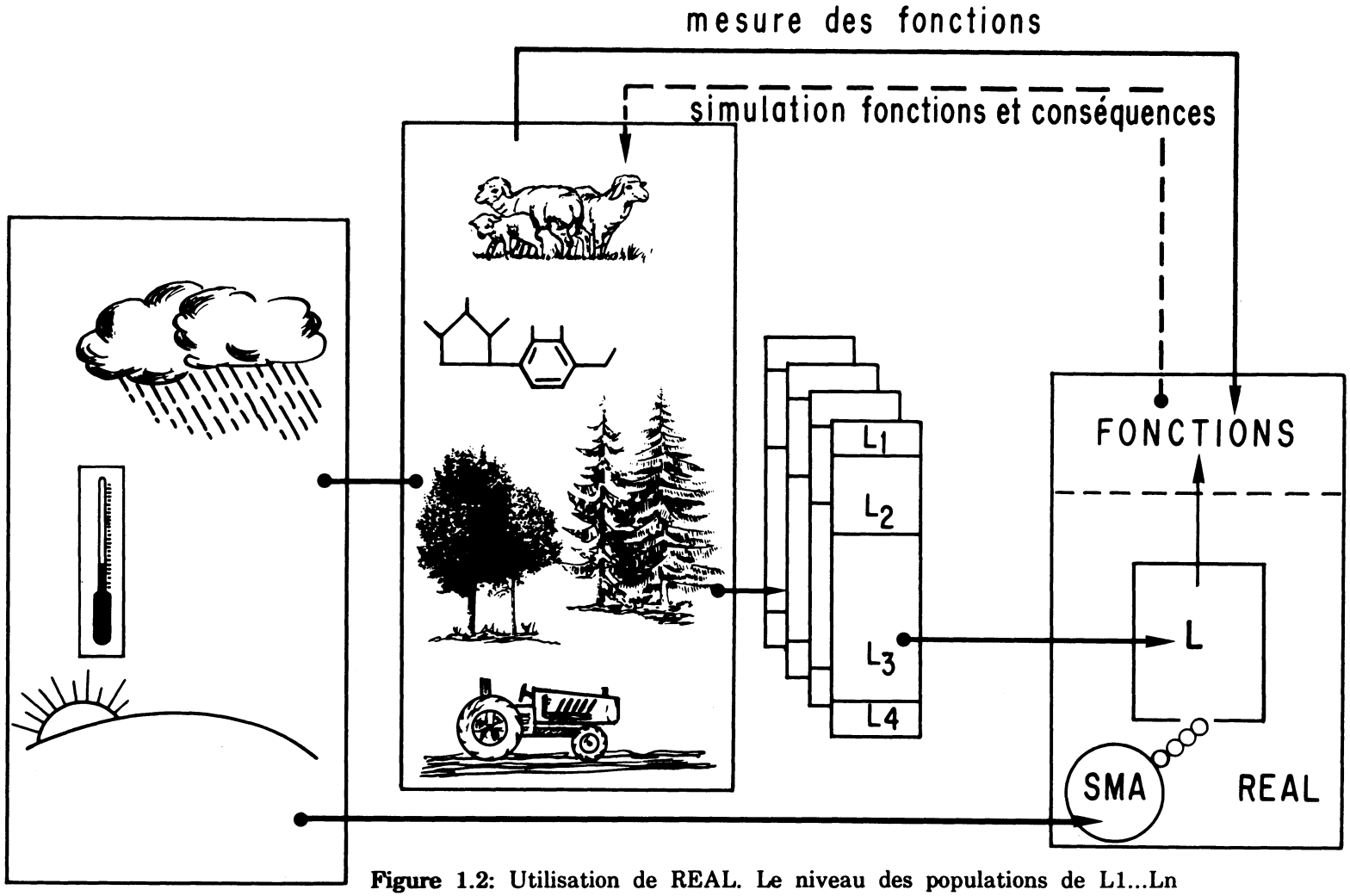

Figure 1.2: Utilisation de REAL. Le niveau des populations de L1...Ln dépend des pratiques agricoles ou de gestion de l'espace (élevage, pesticides, végétation, travaux aratoires, etc...). Le fonctionnement de chaque population dépend d'une régulation relative à l'humidité, la température et la photopériode gérées par le Sous-Modèle d'Activité (SMA). Ceci permet le fonctionnement de REAL pour prédire par simulation l'importance des fonctions. La mesure des fonctions effectives au terrain permet de valider, ou de remettre en cause, le modèle (d'après Bouché, sous presse).

1.2. Le milieu herbacé

Notre recherche a été limitée aux milieux herbacés, tant au niveau des microcosmes qu'au niveau des validations *in situ*. Ce choix n'est pas arbitraire mais relève de l'importance de ce milieu par rapport aux systèmes écologiques en général: La prairie occupe une position centrale (Figure 1.3; p.17) et ce milieu occupe, en se référant à la France, une très grande superficie soit le quart du territoire (Gounot et Bouché, 1974). De plus, du fait de leur manipulation aisée en laboratoire, les plantes prairiales sont en général un matériel de choix. Elles se développent rapidement ce qui permet un marquage éventuel, facile et homogène de ce type de plantes par des marqueurs spécifiques (^{14}C, ^{15}N...). Enfin cette importance du système prairial a été, en France, l'occasion d'un travail coopératif transdisciplinaire dont une synthèse est présentée dans Casimir (1982) et dont le présent travail est une "suite" naturelle.

1.3. L'azote, élément majeur

L'azote, qui sera l'élément privilégié de cette étude, est un composant dominant de l'écosystème, et est indispensable à la vie, mais, comme la plupart des composés majeurs, il est limitant. L'azote de la partie non squelettique des êtres vivants entre pour environ 16% dans la constitution des matières protéiques qui sont essentiels aux êtres organisés. Une partie de ces protéines, les enzymes, assurent d'ailleurs la fraction dynamique et fonctionnelle de la cellule.

97,82% de l'azote terrestre se trouve dans la lithosphère, 1,96% dans l'atmosphère et seulement 0,02% dans l'écosphère. 86,76% de l'azote de l'écosphère est sous forme organique (39,72% dans les sols et 47,04% dans les océans), 12,55% est sous forme minérale (7,32% dans les sols et 5,23% dans les océans) et 0,69% dans les plantes et les animaux (0,64% sur terre et 0,05% dans les océans) (Porter, 1975). L'essentiel de l'azote récupérable par les plantes est donc situé dans l'atmosphère (N_2 moléculaire) et la biosphère (azote minéral et organique) puisque l'azote de la lithosphère est très peu concentré dans les roches et pratiquement inutilisable par les plantes. Hormis le mécanisme de fixation d'azote atmosphérique, les plantes ne peuvent assimiler l'azote que sous forme réduite ou oxydée, mais c'est, en fait, la même quantité minime qui est récupérée par les plantes et sans arrêt recyclée. C'est à ce niveau qu'interviennent les lombriciens et les microorganismes qui leur sont associés.

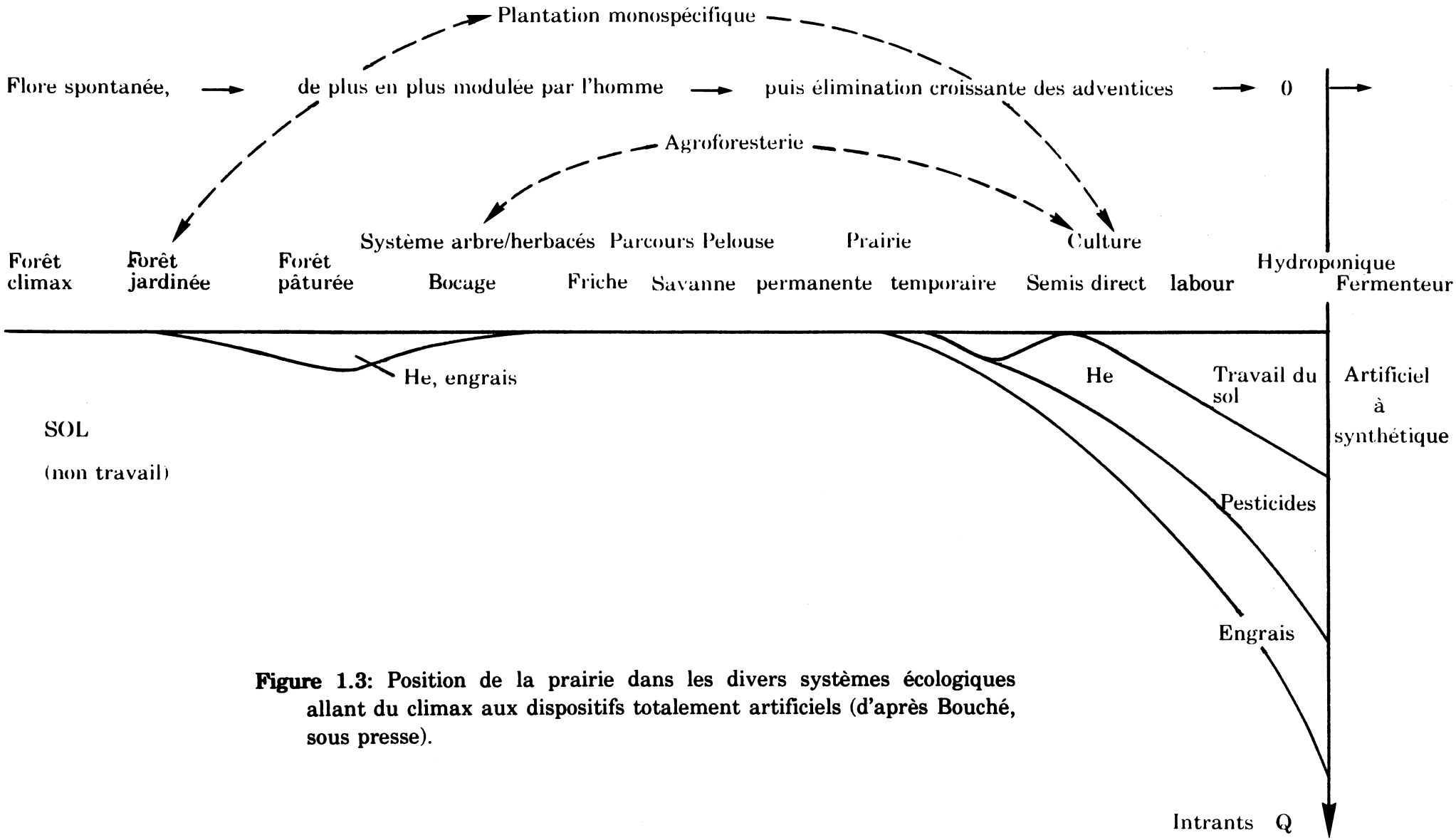

Figure 1.3: Position de la prairie dans les divers systèmes écologiques allant du climax aux dispositifs totalement artificiels (d'après Bouché, sous presse).

1.4. Echanges métaboliques des lombriciens avec leur milieu

1.4.1. Concepts généraux

En général, les êtres vivants ont besoin d'une quarantaine d'éléments chimiques pour assurer leur vie et leur survie. Ces éléments sont constamment échangés avec le milieu extérieur. Il est difficile de comprendre et d'étudier ces phénomènes de recyclage d'éléments car ils diffèrent notablement selon le type de sol et l'espèce concernée puisqu'il existe une interconnexion remarquable entre l'individu et le milieu dans lequel il évolue.

De nombreux chercheurs ont essayé de s'intéresser à ces phénomènes de recyclage à partir de modèles généraux (Odum, 1959). Mais le sol est un système complexe associant des processus encore peu connus et, pour cette raison, ces modèles théoriques ne donnent pas entièrement satisfaction. Pour mieux comprendre les relations mutuelles lombriciens-microorganismes-plantes-sol, on doit définir de façon claire les compartiments et les mécanismes qui leur sont propres. On définira donc la notion d'individu biochimique et les termes d'ingestion, d'assimilation et d'émanation.

1.4.1.1. Le métabolon: Notion d'individu biochimique

Bouché (1978) a précisé la notion d'individu biochimique. Il appelle métabolon l'ensemble des molécules constituant une unité soumise aux régulations d'un même génôme et dont les chaînes réactionnelles interagissent sans discontinuité spatiale. Un métabolon peut se diviser en plusieurs, ou fusionner avec un autre. Le métabolon est donc un concept fonctionnel qui diffère parfois sensiblement de l'individu morphologique. Pour nous, en pratique, le ver de terre vidé de son contenu digestif sera considéré comme le métabolon.

Les processus conduisant à des échanges entre le métabolon et le milieu extérieur comporte l' ingestion, l'assimilation et l'émanation (Bouché, 1978) (Figure 1.4; p.19).

1.4.1.2. L' ingestion

L'ingestion correspond à la sélection des matières du milieu, au niveau d'organes spécialisés responsables. La quantité de plante ou de matière ingérée est en général difficile à estimer. Pour les vers de terre, les éléments ingérés (sol, matière organique et minérale) n'appartiennent pas encore au métabolon , mais ces éléments sont isolés du milieu extérieur dans le tube digestif. Ce contenu intestinal, appelé **endentère**, subit, de la part des lombriciens et de la microflore intestinale, les actions physiques et enzymatiques de la digestion.

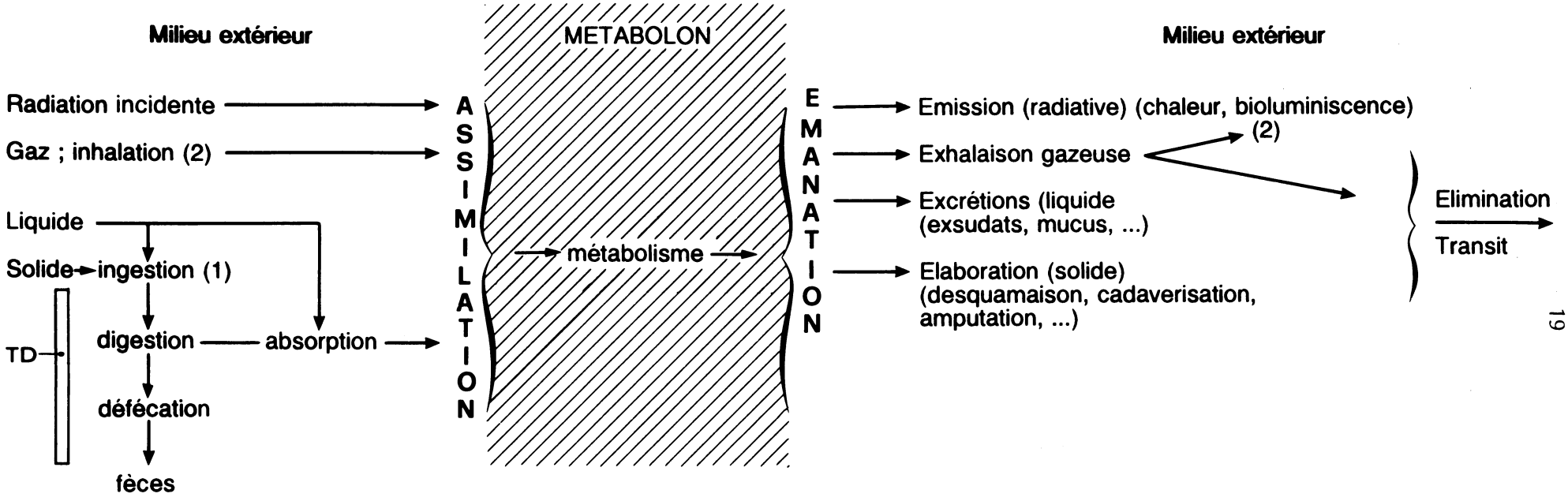

Figure 1.4: Position fonctionnelle du métabolon. Les entrées sont les assimilations. Les sorties sont les émanations. (1) = animaux à tube digestif; (2) = inhalation + exhalaison = photosynthèse (si CO_2 est inhalé et O_2 exhalé) et respiration (si c'est l'inverse).

1.4.1.3. L' assimilation

Les produits ingérés sont, après digestion, soit déféqués, c'est à dire relâchés à l'extérieur (fèces), soit assimilés par pénétration à l'intérieur du métabolon (assimilats). L'assimilation est fortement soumise au contrôle biochimique du métabolon.

Les composés assimilés ont des devenirs différents à savoir:

- servir de matériaux énergétiques pour assurer la maintenance du métabolisme et de l'activité; Ceci est lié au catabolisme.
- servir de matériaux pour l'élaboration de tissus vivants, assurer la croissance de l'être vivant et sa reproduction; Ceci est lié à l'anabolisme.

Anabolisme et catabolisme constituent deux processus interdépendants du métabolisme.

1.4.1.4. L'émanation

L'émanation est liée à toute sortie de matière du métabolon rejetée dans le milieu extérieur. Elle peut se faire sous différentes formes (gazeuse, liquide, solide).

Les transferts d'éléments à l'intérieur du métabolon débutent donc par l'assimilation et s'achèvent par l'émanation dans le milieu extérieur. Ces éléments chimiques sont associés en molécules plus ou moins complexes. **Il ne faut donc pas faire la confusion entre ce qui transite dans le tube digestif (ingestat) et ce qui est émané par l'intermédiaire de la voie métabolique.**

L'émanation se rencontre sous différentes formes chez les lombriciens:

- forme radiative, essentiellement perte de chaleur due à la dégradation métabolique
- forme moléculaire d'excrétats liquides (urée, mucus intestinal et cutané, enzymes, ammoniaque, eau...) et gazeux (CO_2)
- forme tissulaire (cadavres, amputats, cocons morts..).

Notons que la croissance n'est pas considérée comme une partie de l'émanation car elle ne correspond pas à une sortie de produits à l'extérieur du métabolon.

1.4.1.5. Notion de débit

On sait que les vers de terre accélèrent la minéralisation de la matière organique, notamment du fait de l'effet positif du réensemencement microbien au cours de son transfert dans l'intestin. Ainsi, O'Brien et Stout (1978) mesurent un débit annuel de carbone qui passe de 300 à 1000 $kg.ha^{-1}.an^{-1}$ en présence de lombriciens.

On définit le débit comme la quantité de matière échangée par unité de temps (dq/dt).

Il faut éviter de confondre débit et flux, ce dernier est une vitesse par unité de surface ($v.cm^{-2}$).

Le débit est à déterminer préférentiellement en milieu naturel sinon, les mesures en conditions artificielles doivent être validées *in situ*.

1.4.2. Choix alimentaire

Pour la faune en général, la nourriture est un facteur écologique important. Sa qualité, sa quantité et son accessibilité jouent un grand rôle car elles influencent fortement les populations par une modification notable de certains de leurs caractères comme la reproduction, la longévité, la vitesse de développement. Il est connu que la diversification des régimes alimentaires est à l'origine de nombreuses adaptations physiologiques, morphologiques et écologiques qui sont les témoins, par exemple, d'une longue coévolution entre les herbivores et les végétaux.

On sait que les lombriciens jouent un rôle important au niveau de la structure et de la fertilité des sols, de la croissance des plantes et du rendement des cultures (Edwards et Lofty, 1978). Leur impact sur le sol apparaît donc très lié à leur activité et, par conséquent, à leur faculté d'obtenir et d'assimiler la nourriture. De nombreux auteurs (Satchell et Lowe, 1967; Crossley et al., 1971; Dommergues et Mangenot, 1972; Maldague et Couture, 1972; Cortez et Hameed, 1988; Cortez et al., 1989) ont essayé de déterminer la nature des ingestats chez les vers de terre et, plus précisément, l'origine, le type et les conditions de consommation de la matière organique. Ainsi, Wright (1972) a démontré l'effet des microorganismes sur la sélection de la nourriture par les vers de terre. Cooke et Luxton (1980) ont indiqué une attirance préférentielle de *Lumbricus terrestris* L. pour des disques de cellulose ensemencés par des champignons. Cooke (1983) a montré que ces préférences sont corrélées à la quantité de champignons présents, à leur concentration en Ca^{++} et à leur teneur en eau. Il pense que les lombriciens sont attirés par une nourriture envahie par des champignons parce qu'ils y trouvent une plus grande ressource nutritionnelle, mais aussi, parce que la croissance fongique entraîne une rétention supérieure d'eau de la nourriture. Nous avons montré (Hameed et al., 1987; Cortez et al., 1989) que *Nicodrilus giardi giardi* n'ingèrait la litière qui lui était fournie (paille de blé) qu'après un temps d'incubation préalable dans le sol qui correspondait probablement à une période de colonisation de la litière par la microflore tellurique. Nous avons donc émis l'hypothèse que la maturation de certaines litières pouvait entraîner une augmentation de leur consommation par les lombriciens. Les quantités de litière consommées, bien que difficilement estimables *in situ*, ont pu être mesurées *in vitro* sur des

périodes de temps variables. Ainsi Needham (1957) estime que la consommation de litière par *Lumbricus terrestris* L. est de l'ordre de 27 mg.jour^{-1}.g^{-1} de poids frais de ver (mph), mais que cette valeur peut dépasser 80 mg.

1.4.3. Digestion et assimilation

Les lombriciens agissent fortement sur les fractions du milieu qu'ils isolent temporairement dans leur tube digestif. Ces ingestats vont subir au cours de leur transit dans l'intestin des modifications chimiques et biologiques sous l'action d'enzymes intestinales et microbiennes (Lavelle et al., 1983). Parle (1963a) et Nekrasova et al.(1976) ont indiqué des changements quantitatifs et qualitatifs de la microflore au cours du transit intestinal. Ils y ont même observé des lyses importantes de bactéries, d'algues et de protozoaires. Pourtant malgré les nombreuses recherches sur le comportement physiologique et écologique des vers de terre, il est encore difficile de définir la nature des assimilats et de les estimer. Cependant, les travaux que nous avons effectués sur la consommation et l'assimilation de différentes litières chez *Lumbricus terrestris* (Cortez et al., 1989) montrent que l'augmentation de la biomasse des vers de terre est corrélée significativement à la teneur en azote des litières et dépend de la disponibilité de cet élément. Ainsi, malgré un C/N plus élevé (12,6) et une teneur en azote plus faible (34 mg.g^{-1}), la luzerne est mieux utilisée que le ray-gras (*Lolium perenne* L.) qui a un C/N plus bas (7,5) et un taux d'azote supérieur (49,5 mg.g^{-1}) certainement moins assimilable par les lombriciens. Cette notion d'assimilation d'azote a été mise en évidence par Abbott et Parker (1981). Ils indiquent en effet qu'un régime pauvre en azote entraîne une perte de biomasse des lombriciens qui ne peut pas être comblée par un apport d'azote minéral au sol, peu assimilable, mais plutôt par une nourriture riche en protéines mieux utilisables par les vers de terre (Lee, 1985).

1.4.4. Emanation

1.4.4.1. Excrétion

Différents types de substances plus ou moins complexes sont excrétées par les lombriciens, soit directement dans le sol par voie cutanée, soit dans la lumière intestinale.

A. Excrétats cutanés

De nombreux travaux attribuent une grande importance au mucus des lombriciens excrété par voie cutanée. Lee (1985) indique qu'il agit comme un lubrifiant durant le fouissage, tout en maintenant une humidité suffisante de la cuticule afin de favoriser les échanges gazeux nécessaires à la respiration. Laverack (1963) montre aussi que ce mucus cutané est un mode de défense de

l'animal vis-à-vis de stimuli nocifs du milieu environnant. Ainsi, en 1982, Krivolutsky et al. ont montré, par exemple, que le nombre de cellules excrétrices intestinales et cutanées productrices de mucus augmentait en même temps que la radioactivité du milieu. En outre, Richards (1978) suggère que cette substance agit aussi comme une barrière pour tamponner les éventuels changements ioniques du milieu environnant.

Le mucus de lombricien, primordial pour la vie de l'animal, est aussi d'une grande importance pour le milieu dans lequel les vers de terre évoluent. En effet, Needham (1957) indique que 50% de l'excrétion de l'azote des lombriciens se fait par l'intermédiaire du mucus cutané, ce qui serait par ailleurs un indicateur de la nature mucoprotéique de cette substance. Les observations de El Duweini et Ghabbour (1971) vont dans le même sens puisqu'ils montrent que les lombriciens excrètent dans le sol, à la fois des formes azotées directement assimilables par les plantes (urée, ammoniaque, acide urique, allantoïne), mais aussi une fraction azotée plus importante sous forme de macromolécule complexe (mucopolysaccharide et protéine) qui serait biodégradée avant de devenir assimilable.

Or Bouché et Ferrière (1986) ont constaté que, durant leur expérience dans une prairie permanente, 26% de l'azote assimilé par les plantes ont transité dans les adultes de *Nicodrilus longus longus*. En extrapolant ce résultat à l'ensemble des lombriciens de la prairie, ils en concluent que 82% des assimilats azotés des végétaux ont transité par les vers de terre.

Cortez et Bouché (1987) ont étudié la composition chimique du mucus cutané de *Allolobophora chaetophora chaetophora*. Cette mucoprotéine obtenue par précipitation sélective, est composée de 69% de protéines et peptides et de 31% d'osides et oses. Elle est formée de deux grands types de molécules; l'une, relativement homogène, de masse moléculaire voisine de 25000 daltons, semble être de nature glycoprotéique. Les autres, plus hétérogènes, de masse moléculaire 22000 sont composées essentiellement de peptides et polypeptides. La richesse en azote de ces molécules (C/N = 6,3 et 3,3) d'une part, et leur masse moléculaire relativement faible d'autre part, présagent de leur biodégradation rapide dans le sol.

B. Excrétats intestinaux

Martin et al. (1987) ont montré, sur cinq espèces de catégories écologiques différentes, que le mucus intestinal, composé de molécules aisément biodégradables, est excrété dans la partie antérieure de l'intestin. Sa valeur énergétique importante permet un développement bactérien remarquable qui accélère la décomposition de la matière organique ingérée par ces vers de terre géophages tropicaux. Ces auteurs montrent aussi l'existence d'un mutualisme ver de terre-microflore pour l'exploitation de la matière organique du sol.

Le niveau de production des excrétats semble cependant dépendre du type de sol et de la qualité de sa matière organique (Krishamoorthy, 1985).

1.4.4.2. Elaboration

L'élaboration est l'émanation de tissus soit par amputation ou mort, soit par production de cocons non viables ou abandon d'enveloppes de cocons après éclosion. Comme nous l'avons vu en introduction, Satchell (1963) supposait que l'élaboration était la principale voie d'émanation. Cela résultait, d'une forte sous estimation des excrétats; en fait, l'élaboration ne représenterait que 1/30ème de l'émanation (Bouché, 1987).

L'estimation de l'émanation, fondée sur des études démographiques (amputation, mortalité, production de cocons, etc..) ne sera pas étudiée ici.

1.4.5. Défécation

Après transit intestinal, la matière organique issue de la litière est déposée sous forme de fèces dans le sol ou sur le sol (turricules).

La quantité de turricules produits par g de poids frais de ver, montre l'existence d'une relation étroite entre la quantité produite et la nature de la litière (Cortez et Hameed, 1988). Ainsi lorsque *Lumbricus terrestris* consomme une litière pauvre en azote comme celle de chêne vert, il défèque une quantité de turricules plus importante que lorsqu'il se nourrit de ray-gras frais, de luzerne et même de sol seul. De plus, le C/N des turricules augmente avec la baisse de taux d'azote des litières. Ces résultats, en accord avec ceux de Abbott et Parker (1981), montrent que le travail des lombriciens est inversement proportionnel à l'appétence de la litière. Le ver de terre a en effet tendance à exploiter et à ingérer une quantité de sol supérieure s'il ne trouve pas les éléments nécessaires à son métabolisme et à produire, de ce fait, des masses de turricules plus élevées (Darwin, 1881).

En extrapolant au terrain les mesures de production de turricules obtenues en microcosme à la biomasse fraîche de lombricien rencontrée *in situ* (128 g de ver de terre.m^{-2}), on a montré que la production de turricules varie de 6,32 à 9,74 kg.m^{-2}.an^{-1} selon le type de litière, valeur confirmée par d'autres auteurs pour les lombricidae (Graff, 1971; Bouché, 1982).

Remarques: Les analyses qualitatives et quantitatives de déjection, turricules, mucus et tissus de différentes populations de vers de terre ont montré qu'environ 452 kg N.ha^{-1}.an^{-1} sont rejetés dans le sol dans un système prairial (Krishnamoorthy, 1985). La moitié de l'azote rejeté par les animaux se ferait par les néphridies (Laverack, 1963) et les tissus nécrosés tandis que l'autre moitié serait excrétée sous forme de mucus par voie cutanée. L'excrétion d'azote par les fèces est par contre très faible (0,4% en moyenne), hormis le cas

où l'urine excrétée dans le tube digestif par les néphridies septales est évacuée avec les turricules (Lee, 1985).

1.4.6. Influence du métabolisme lombricien sur l'activité microbienne

1.4.6.1. Activité microbienne des turricules

Les turricules contiennent, d'une part, des débris organiques peu digérés mélangés aux fractions minérales du sol ainsi que des éléments essentiels à la croissance des plantes tels que N (principalement sous forme organique et NH_4^+), P, K, Ca^{++} et Mg^{++} (Parle, 1963; Graff, 1971) et d'autre part, une quantité de microorganismes beaucoup plus élevée que dans le sol environnant (Stöckli, 1928; Loquet et al., 1977). Ainsi Loquet et al. (1977) ont montré que la concentration de la microflore dans les turricules était fonction des groupes physiologiques microbiens. L'*horizon à turricules* (couche superficielle de 5 à 7 cm des sols en prairie) présente une flore riche en formes aérobies (cellulolytiques, hémicellulolytiques et plus modérément amylolytiques) et une flore pauvre en germes dénitrifiants, ce qui est en relation avec la position des turricules à la surface du sol et avec leur richesse en débris végétaux non assimilés pendant le transit intestinal.

De son coté, Parle (1963 b) indique que, pendant les 45 jours de son expérience, l'activité microbienne des turricules rejetés par *Nicodrilus longus longus* est restée deux à trois fois plus élevée que celle du sol. Il montre, de plus, que l'enrichissement en N minéral des turricules est en relation directe avec la teneur azotée de la matière organique ingérée.

Loquet (1974) a calculé le taux de décomposition de la matière organique des turricules et l'a comparé à celui d'un sol non ingéré en utilisant le coefficient de minéralisation défini par Dommergues (1968):

$$\text{Taux de minéralisation du C} = (C\text{-}CO_2/C^{total})x100$$

Les coefficients de minéralisation du C, dans des turricules prélevés en fonction des saisons, varient de 1,5 à 3,5 avec un maximum en automne, alors que les coefficients de minéralisation du C du sol prélevé entre 0 et 6 cm sont toujours plus faibles (de 0,6 à 2,5 selon la saison).

1.4.6.2. Activité microbienne de la drilosphère

La drilosphère, définie par Bouché (1975,a) comme la zone de 2mm d'épaisseur autour des galeries lombriciennes, est aussi le siège d'une activité microbienne intense qui dépend étroitement de l'activité lombricienne (Bouché, 1982). De plus les galeries de ver de terre sont, du fait de leur vie microbienne,

des zones d'échange privilégiées entre plantes et microorganismes (Monnier, 1965) in Bouché (1972).

Bhatnagar (1975), en comparant les peuplements de germes fixateurs dans la drilosphère et le reste du sol, trouve 40% de fixateurs d'azote aérobies, 13% d'anaérobies et 16% de germes dénitrifiants, chiffres confirmés par Loquet et al.(1977) qui observent un taux de 42% de fixateurs d'azote aérobies dans la drilosphère.

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

2.1. Dosage du carbone total (C^t) et du carbone radioactif (^{14}C)

Ces dosages sont effectués simultanément sur un CARMOGRAPH selon la méthode décrite par Bottner et Warembourg (1976). Le dosage du C^t est réalisé par combustion sèche. Le carbone organique présent dans les échantillons est transformé en CO_2 par combustion complète à 1000°C sous courant d'O_2. 5% du CO_2 ainsi dégagé est absorbé par une solution de NaOH 0,02N et la teneur en carbone est déterminée par conductimétrie. Les 95% restants du CO_2 dégagé sont absorbés dans 15 ml d'un mélange de monoéthanolamine et de 2-méthoxyéthanol (1/3 : v/v). 2 ml de cette solution sont prélevés, additionnés de 10 ml de liquide scintillant (Toluène scintillator Packard + 200 ml éthanol absolu par litre) et la radioactivité de l'échantillon (exprimée en désintégrations par minute (dpm)) est déterminée par comptage en scintillation liquide.

2.2. Dosage de l'azote minéral

2.2.1. Extraction de l'azote minéral

A l'équivalent de 50 g de terre sèche sont ajoutés 150 ml de K_2SO_4 1,0 N. Après 1 heure d'agitation à l'agitateur rotatif et à la température du laboratoire, la suspension est centrifugée à 3500 g pendant 15 minutes et le surnageant est filtré. Les ions NH_4^+ liés au complexe absorbant du sol sont déplacés par les ions K^+ de l'extractant et se retrouvent dans l'extrait avec les ions NO_3^- très solubles.

2.2.2. Dosage des ions NH_4^+

Dans un ballon de distillation, à 5O ml d'extrait K_2SO_4 1,0 N, on ajoute 200 ml H_2O distillée et quelques grammes de MgO. Les ballons sont fixés sur une rampe à distillation et portés à ébullition. En milieu basique, les ions NH_4^+ dissous dans l'extrait sont transformés en NH_3 volatil qui est entraîné à la vapeur d'eau et recueilli, après condensation, dans 20 ml H_2SO_4 0,05 N. L'azote ammoniacal est ensuite dosé par colorimétrie selon la méthode de Berthelot.

2.2.3. Dosage des ions NO_3^-

Dans le même ballon de distillation, il reste les ions NO_3^- qui, pour être distillés, doivent être réduit préalablement en ions NH_4^+ et transformés en NH_3. Pour ce faire on ajoute au même ballon de distillation 200 ml H_2O distillée et quelques grammes d'alliage Dewarda. NH_3 formé est piégé dans 20 ml H_2SO_4 0,05 N et dosé comme précédemment.

2.3. Dosage de l'azote total

Les dosages sont réalisées après minéralisation à chaud des échantillons selon la méthode de Kjeldahl qui permet la réduction de l'azote organique en ions NH_4^+.

A 100 mg de matériel végétal (ou 500 mg de sol) on ajoute, dans des tubes à minéralisation, 10 ml H_2SO_4 36 N et 5 g du réactif de Wieninger qui sert de catalyseur. Les tubes sont disposés dans un appareil de type Técator qui programme automatiquement la montée en température des échantillons. La minéralisation est considérée comme terminée après totale décoloration de l'hydrolysat.

Les ions NH_4^+ sont dosés par colorimétrie sur une aliquote selon la méthode de Berthelot. L'hydrolysat restant est distillé à l'aide de l'appareil de Bouat et NH_4^+ est recueilli dans H_2SO_4 0,05N pour la détermination de l'enrichissement isotopique en ^{15}N des échantillons.

2.4. Dosage de l'azote 15

Nous avons utilisé la méthode de détermination isotopique de l'azote par spectrométrie optique (Guiraud et Fardeau, 1980).

2.4.1. Principe de la spectrométrie optique

La présence d'atomes de masse 15 dans une molécule d'azote gazeux excitée par un champ électrique à haute fréquence, provoque un déplacement des bandes du spectre d'émission : ainsi, la longueur d'onde de la bande principale émise dans l'ultra-violet se situe à 297,7 nm pour les molécules ^{14}N ^{14}N (de masse 28), à 298,3 nm pour les molécules ^{14}N ^{15}N (de masse 29) et à 298,9 nm pour les molécules ^{15}N ^{15}N (de masse 30). L'utilisation d'un détecteur de pics relié à un ordinateur permet de mesurer l'intensité de ces différentes bandes et de calculer la teneur en ^{15}N.

2.4.2. Préparation des échantillons

L'ammonium recueilli après distillation en milieu acide, sous forme de $(NH_4)_2SO_4$, est concentré dans des godets sur un bain de sable maintenu 70°C. Ces godets sont adaptés sur une rampe à vide jusqu'à l'obtention d'un vide de 10^{-6} torr. Lorsque la dépression est suffisante, quelques gouttes d'hypobromite de lithium sont versées dans le godet pour réduire $(NH_4)_2SO_4$ en N_2 moléculaire selon la réaction:

$$2\ NH_3 + 3\ BrOLi \longrightarrow 3\ BrLi + 3\ H_2O + N_2$$

H_2O et BrLi en excès sont piégés dans l'azote liquide. N_2 est introduit dans deux ampoules à sceller préalablement soumises à un vide de 10^{-6} torr, jusqu'à atteindre une pression de 1 torr. Les ampoules sont alors scellées sous vide au chalumeau et leur abondance isotopique est mesurée par spectromètrie optique.

2.5. Biomasse microbienne

2.5.1. Carbone de la biomasse microbienne

La biomasse microbienne est évaluée selon la technique de Jenkinson et Powlson (1976). Un échantillon de sol, dont on veut mesurer la biomasse microbienne, est exposé à des vapeurs de $CHCl_3$ puis réensemencé par quelques grains de sol frais. Les microorganismes amenés et ceux ayant survécu au traitement consomment le nouvel apport de substrat que constituent les cadavres microbiens tués par le traitement au $CHCl_3$; ceci se traduit par un dégagement de CO_2 que l'on mesure.

La différence de respiration entre les échantillons fumigés et les témoins non fumigés permet de calculer le carbone de la biomasse microbienne selon la relation suivante:

$$C_{BM} = F/K_c$$

- C_{BM} est le poids de carbone de la biomasse microbienne.

- F est la différence de poids de carbone dégagé sous forme de CO_2 pendant 10 jours entre les échantillons fumigés et non fumigés.

- K_c est le taux de minéralisation du carbone microbien. Il représente la proportion de cadavres microbiens minéralisés en 10 jours après la fumigation.

La valeur de K_c, proposée initialement par Jenkinson (1966), était de 0,3 puis de 0,5 (Jenkinson, 1976). De leur coté, Anderson et Domsch (1978), après avoir étudié la décomposition de 12 espèces de bactéries et de 15 espèces de champignons, à 22°C, dans différents sols, ont proposé une valeur du K_c de 0,41. D'autres auteurs (Nicolardot et al., 1986) ont montré que ce coefficient était fonction du type de sol et du type de microorganismes. Pour notre part, nous avons utilisé la valeur de 0,45 préconisée désormais par Jenkinson et Ladd (1981) et considérée actuellement comme la valeur moyenne la plus proche de la réalité.

2.5.1.1. Fumigation du sol

Les échantillons de sol à fumiger (3 fois l'équivalent de 25 g de sol sec) sont disposés en couches fines dans des boites de Pétri et placés dans un dessiccateur dont le fond est recouvert d'eau distillée pour éviter le dessèchement du sol. La fumigation consiste à remplacer le volume d'air du dessiccateur par des vapeurs de $CHCl_3$. Ainsi, on crée un vide poussé à l'intérieur du dessiccateur à l'aide d'une pompe à vide et l'on rétablit la pression atmosphérique par introduction de 100 ml de $CHCl_3$ sous forme de vapeur. L'ensemble est ensuite mis à l'obscurité à 28°C pendant 24 heures. Après cette période, les échantillons de sol sont sortis, disposés dans un dessiccateur propre sur lequel on applique huit vides successifs pour éliminer la totalité du $CHCl_3$ restant dans le sol. Les échantillons sont ensuite réensemencés par quelques grains de sol frais.

Le même traitement, sans apport de $CHCl_3$, est appliqué aux sols témoins.

2.5.1.2. Respirométrie

Dans un bocal étanche de 1 litre, au fond duquel ont été versé 20 ml d'eau distillée pour maintenir l'humidité des échantillons, on dispose deux béchers. L'un contient l'échantillon de sol et l'autre 20 ml de NaOH 0,3N qui absorbe le CO_2 dégagé par le sol. Les bocaux sont placés pendant 10 jours à 28°C à l'obscurité. Le CO_2 dégagé par les échantillons témoins et fumigés est dosé par colorimétrie selon la méthode Technicon (Chaussod et al., 1986).

2.5.2. Azote de la biomasse microbienne

L'azote de la biomasse microbienne est déterminé par la méthode de Brookes et al.,(1985), basé sur le même principe que celui de la détermination du carbone par la méthode de fumigation du sol. Cet auteur considère que le reflet le plus exact de l'azote contenu dans la biomasse microbienne est donné par la différence entre l'azote total d'un échantillon de sol fumigé, extrait immédiatement après la fumigation, et celui du sol témoin non fumigé.

2.5.2.1. Fumigation du sol

La technique est identique à celle utilisée pour la détermination du carbone de la biomasse microbienne hormis le fait que les échantillons de sol sont de 50 g de sol sec au lieu de 25 g précédemment.

2.5.2.2. Extraction et dosage de l'azote total

Immédiatement après fumigation et sans élimination du $CHCl_3$ restant encore dans le sol, les échantillons sont mis en présence de 150 ml de K_2SO_4 1N et agités pendant 1 h. La suspension est ensuite centrifugée pendant 15 mn à 3500 g. 50 ml des filtrats recueillis sont évaporés sous courant d'air dans des tubes de minéralisation préalablement acidifiés par 1 ml H_2SO_4 36 N. Après réduction des filtrats, l'azote total extrait est minéralisé dans les mêmes tubes sur un Técator selon la méthode de Kjeldahl et dosé par colorimétrie (Voir cf. 2.3).

La même expérience est réalisée sur les échantillons de sol témoins.

L'azote de la biomasse microbienne est calculé selon la formule suivante:

$$N_{BM} = (N_f - N_{nf})/0,54$$

où N_f et N_{nf} représentent l'azote total des échantillons fumigés et non fumigés.

2.5.2.3 Détermination de ^{15}N de la biomasse microbienne

Les extraits K_2SO_4 restants sont évaporés à sec sur une plaque chauffante et dosés selon la technique décrite au paragraphe 2.4.

2.6. Marquage au ^{15}N des plantes servant de nourriture aux lombriciens

Pour obtenir des valeurs significatives d'enrichissement en ^{15}N dans les différents compartiments des modèles que l'on étudie (transfert litière-->lombricien-->plante au laboratoire ou transfert lombricien -->plante sur le terrain), mais aussi pour des raisons d'ordre budgétaire, l'enrichissement en ^{15}N des plantes servant de nourriture aux vers de terre a été différent. En effet, l'étude du transfert de l'azote au laboratoire a été réalisée dans des microcosmes de faible volume ne nécessitant pas des enrichissements très élevés de la litière. Par contre, il est certain que l'étude de ces transferts en milieu naturel fait intervenir des quantités de sol beaucoup plus importantes et demande donc des enrichissements plus conséquents.

2.6.1. Choix des plantes

De nombreux auteurs ont fait des essais préalables sur la qualité de la litière à apporter aux lombriciens pour leur élevage en laboratoire. Quelques uns ont nourris les animaux à l'aide de feuilles d'arbre (Avel, 1929; Michon,

1954, Edwards et Lofty, 1972) mais la plupart d'entre eux considèrent que les apports de nourriture devraient être constitués de préférence de plantes et de substrat du milieu d'origine: graminées pour les animaux de prairie, litière d'arbres pour ceux de forêt (Bouché, 1972).

Pour notre part notre choix s'est effectué selon deux critères principaux:

1) L'environnement herbacé duquel nos lombriciens sont originaires

2) Les essais préalables en laboratoire (Cortez et Hameed, 1988) qui nous ont montré que le ray-gras (*Lolium perenne* L.) s'avère être une litière tout à fait appétente pour *Lumbricus terrestris* L.

2.6.2. Culture des plantes

2.6.2.1. Cas des expériences réalisées au laboratoire

Les cultures sont réalisées en serre climatisée à une température diurne de 22°C et nocturne de 18°C.

200 pots de culture en polyéthylène (dimensions 11x11x12 cm) sont remplis de sable siliceux grossier préalablement lavé et séché. La porosité du sable est suffisante pour assurer un bon drainage des pots. 40 g de *Lolium perenne* L. soit 20 $g.m^{-2}$ sont répartis dans les pots et recouverts d'une couche de sable de 1 cm environ. Les pots sont placés dans deux bacs étanches recevant la solution nutritive deux fois par jour, pendant 1 heure, par l'intermédiaire d'un système de pompage automatique. Après quelques jours de culture, les plantules apparaissent et, pour mettre à leur disposition un éventail suffisant de longueurs d'ondes nécessaires à leur croissance, on effectue un éclairage additionnel pendant 4 heures par jour.

La composition de la solution nutritive est la suivante:

Toutes les concentrations sont données par litre

$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	3 mM
KH_2PO_4	2,25 mM
$MgSO_4.7H_2O$	2,25 mM

Oligoéléments:

H_3BO_3	46 mM
$MnCl_2.4H_2O$	9 mM
$ZnSO_4.7H_2O$	0,8 mM
$CuSO_4.5H_2O$	0,3 mM
$H_2MoO_4.H_2O$	0,1 mM

1 ml de la solution d'oligoéléments et 50 mg de séquestrène sont ajoutés à 1 litre de solution nutritive.

La solution nutritive est enrichie en ^{15}N amené sous forme de KNO_3 (enrichissement isotopique E%= 10,3%) comme unique source d'azote.

Le pH de la solution nutritive est contrôlé régulièrement et réajusté si nécessaire à pH 6,7 par H_2SO_4 dilué.

Pour obtenir des plantes à C/N différents (caractéristiques des plantes; Tableau 2.1; p.35), les feuilles sont récoltées respectivement après 30 et 80 jours. La dernière récolte, effectuée après 80 jours de culture, permet de recueillir à la fois les parties aériennes et racinaires marquées au ^{15}N. Après chaque récolte, les plantes sont séchées à l'étuve à 70°C pendant 36 heures et les parties aériennes sont hachées entre 2 et 5mm pour alimenter les lombriciens.

2.6.2.2. Cas des expériences réalisées dans la nature

La différence entre les deux cultures résident dans l'enrichissement en ^{15}N de la solution nutritive et dans la durée de la culture. Pour les expériences au champ, les plantes devant servir de nourriture pour le marquage isotopique de *Lumbricus terrestris*, se sont développées dans les mêmes conditions que précédemment, mais en présence d'une solution nutritive contenant KNO_3 enrichi à 40% en ^{15}N et ont été récoltées deux mois après la mise en terre des graines.

Nous nous sommes basé sur une consommation de litière sèche de 100 $mg.g^{-1}$ mph par semaine pour produire la quantité de plantes marquées au ^{15}N nécessaire à l'ensemble de nos expériences.

2.7. Choix des lombriciens

2.7.1. Description des catégories écologiques des lombriciens

Bouché (1971, 1972) a classé, sur des bases surtout morphologiques, les espèces françaises de lombriciens selon trois catégories écologiques principales: les épigés, les endogés et les anéciques, mais certaines espèces sont intermédiaires. Par une interprétation morphofonctionnelle, il est possible de supposer une certaine identité fonctionnelle à l'intérieur d'une catégorie. La validation de cette hypothèse permet d'interpoler les résultats entre espèces morphofonctionnelles semblables.

	N^t $mg.g^{-1}$ ms	$N\text{-}NH_4^+$ $mg.g^{-1}$ ms	$N\text{-}NO_3^-$ $mg.g^{-1}$ ms	C^t $mg.g^{-1}$ ms	C/N	$^{15}N/N^t$ (E%)
Plante C/*N 9,5	41,0	-	13,1	390	9,5	10,3
Plante C/*N 42,6	9,5	-	-	405	42,6	10,3

Tableau 2.1: Caractéristiques des plantes ayant servi de litière à l'alimentation des lombriciens.

1) Les épigés

Ce sont des animaux de petite taille qui vivent hors du substrat minéral du sol, généralement dans les accumulations organiques mais aussi dans la litière.

Ces espèces sont éliminées par le déboisement. L'exemple type des épigés est *Lumbricus castaneus*, présent en litière forestière. Il a dû s'adapter à la prairie où il prospère dans les bouses de vache en coprophage à tel point qu'il est actuellement plus rare d'en trouver en forêt qu'en prairie. Leur taux de reproduction est très élevé.

2) Les endogés

Ce sont des animaux de taille moyenne à petite qui se développent dans les substrats minéralo-organiques du sol et se nourrissent de matières organiques mélangées à la terre. L'exemple type est *Allolobophora rosea*. Leur mouvement dans le sol est généralement horizontal et leur taux de reproduction est généralement faible.

3) Les anéciques

Ils représentent environ 80% de la biomasse lombricienne dans les écosystèmes des climats tempérés (Bouché, 1980). Ces animaux de taille moyenne creusent des galeries profondes et rejettent dans le sol de nombreux turricules. Cette action verticale est d'une importance écologique essentielle puisqu'elle permet, d'une part, un transfert et un stockage important des fluides (gaz, eau...) par les galeries, et qu'elle assure, d'autre part, une pénétration des substrats organiques dans le sol et une remontée des turricules en surface.

Les anéciques ont donc un impact primordial sur le sol. Nous avons donc choisi pour l'étude des transferts d'azote une espèce de cette catégorie à savoir *Lumbricus terrestris* L., espèce dominante dans la prairie étudiée.

Le poids moyen d'un individu adulte de ce taxon est d'environ 3 g poids frais et tube digestif plein (mph).

2.7.2. Prélèvement des lombriciens *in situ*

Bouché (1969) indique que les techniques de prélèvement des lombriciens *in situ* sont généralement de deux types:

- méthodes physiques:

- tri manuel peu efficace et incomplet

- lavage, tamisage du sol et recueil des animaux par flottaison mais ces techniques, si elle permettent un inventaire relativement complet des lombriciens, entraînent une mort ou tout au moins une baisse d'activité des animaux.

- méthodes éthologiques:

- méthode électrique par passage de courant électrique dans le sol mais cette méthode est peu efficace et demande une mise au point complémentaire.

- méthode chimique basée sur la saturation du sol par une solution de formaldéhyde.

C'est cette dernière méthode que nous avons utilisée dans nos expériences.

La technique préconisée par Raw (1959) nécessite un arrosage du sol par une solution de formol. D'après cet auteur, une concentration de formol à 0,55% dans l'eau permet de traiter une surface de 0,36 m^2. 20 minutes après l'arrosage, une seconde aspersion du sol avec la même solution est nécessaire pour faire remonter en surface la majeure partie des lombriciens encore accessibles. Bouché (1969) et Satchell (1969) ont modifié légèrement la méthode initiale en augmentant la concentration en formol. Satchell (1969) préconise plusieurs applications successives de la même solution de formaldéhyde (formol/eau = 5% v/v) sur 0,5 m^2 de sol et à 10 minutes d'intervalle. Il estime qu'il récupère 95% des lombriciens au cours des trois premiers arrosages.

La méthode que nous avons utilisée dans notre expérience est celle de Bouché (1969) qui recommande plutôt d'effectuer 4 arrosages successifs sur 0,5 m^2 mais avec des concentrations croissantes de formaldéhyde à savoir deux premiers arrosages à une concentration en formaldéhyde dans l'eau de 2,5% (v/v) suivis de deux autres à une concentration de 5%. Tous ces arrosages sont effectués à 10 minutes d'intervalle et les lombriciens sont capturés au fur et à mesure de leur apparition en surface. Ils sont ensuite immédiatement rincés à l'eau, mis dans un bac de sol et transportés au laboratoire. Après détermination taxonomique, les lombriciens adultes de l'espèce *Lumbricus terrestris* L. sont regroupés par lots de 20, mis dans des boites d'élevage (25 kg par boite d'élevage dans lesquelles on maintient l'humidité du sol à pF 3) qui sont placées à l'obscurité en chambre climatisée à 14°C.

L'avantage de la méthode chimique au formol par rapport à la technique mécanique de récupération des lombriciens à la bèche est évidente dans la mesure où elle évite de blesser les individus. Satchell (1969) indique cependant que l'efficacité de la méthode au formol est fonction de l'humidité et de la température du sol mais qu'elle est particulièrement efficace pour capturer des lombriciens en pleine activité qui vivent à faible profondeur ou, comme dans le cas des anéciques, dans des terriers reliés à la surface. Mais il faut reconnaître que la méthode au formol peut être traumatisante pour certains individus affaiblis et qu'elle nécessite, préalablement à toute expérience, une remise en conditions (lavage, nourriture et repos de 2 à 3 semaines) pour permettre aux lombriciens de retrouver leur potentiel optimum d'activité .

2.7.3. Conditions d'élevage au laboratoire

2.7.3.1. Température du sol

La température du sol doit être maintenue constante mais peut varier d'une espèce à l'autre. Ainsi, Michon (1954) estime que la meilleure vitesse de croissance se situe aux alentours de 18°C pour certaines espèces mais doit atteindre 28°C pour *Eisenia fetida*. Par contre, Edwards et Lofty (1972) considèrent que la température d'élevage doit se situer entre 10°C et 15°C. Pour notre part, nous avons utilisé une température de 14°C qui semble être considérée comme la température idéale d'élevage de *Lumbricus terrestris*.

2.7.3.2. Humidité du sol

Elle doit toujours être maintenue aux alentours de pF 3 (0,098 MPa). Pour ce faire, les boites d'élevage ont été arrosées tous les 3 à 4 jours et l'humidité du sol contrôlée régulièrement.

2.7.3.3. Aération du sol

Avel (1929) insiste sur le fait qu'il faut assurer un milieu aéré convenable pour l'élevage des lombriciens. Bouché (1972) observe en effet que, dans un bac d'élevage, la mort d'un individu en milieu non aéré entraîne souvent la mort d'autres animaux par suite de la décomposition du cadavre et du dégagement gazeux qui en résultent. La chambre climatisée que nous avons utilisée était donc aérée en permanence par un système de ventilation forcée durant toute la durée de nos élevages.

2.7.3.4. Alimentation des lombriciens

Lumbricus terrestris a été nourri par de la luzerne séchée et hachée (C/N = 12) pendant les semaines qui précèdent son marquage au ^{15}N. Pour

éviter l'apparition de champignons sur la litière, la luzerne a été apportée au fur et à mesure du besoin des lombriciens.

Le marquage isotopique des lombriciens est décrit au paragraphe 3.2.

CHAPITRE III

INFLUENCE DU SYSTEME LOMBRICO-MICROBIEN SUR LES TRANSFERTS D'AZOTE
- ETUDE EN MICROCOSMES -

3.1. Introduction

Les méthodes de fertilisation et d'amélioration des sols nécessitent une connaissance approfondie des cinétiques de transfert et de renouvellement des éléments biogènes, notamment de l'azote, au niveau des différents compartiments concernés.

L'un des compartiments essentiels est la biomasse microbienne. Les récentes tentatives de modélisation des flux d'énergie et de débit des éléments dans le sol considèrent ce compartiment comme primordial puisque son taux de renouvellement est relativement rapide, comparé aux autres compartiments de la matière organique du sol. De plus, il intervient de manière importante dans la régulation des éléments (en particulier C et N) car la biomasse microbienne fonctionne soit en tant que pourvoyeur d'éléments minéraux nutritifs pour les plantes, soit en tant qu'utilisateur de ces éléments pour ses propres biosynthèses.

Ce compartiment biomasse microbienne va être alimenté (1) par les exsudats racinaires des plantes (2) par la matière organique arrivant au sol sous forme de litière et (3) par la nécromasse endogée. Il va contribuer à la redistribution de l'azote dans tout le système-sol.

La mise à disposition de l'azote de la litière débute par son incorporation dans le sol. En effet, la décomposition des litières encore sur pied (feuilles jaunissantes...) peut s'effectuer hors sol, mais elle est relativement lente et dépend de nombreux facteurs extérieurs tels que la composition chimique du matériel végétal, l'humidité et la température du milieu ambiant. Par contre, cette décomposition s'accentue lorsque la litière est au contact du sol et s'intensifie notablement lorsqu'elle pénètre dans le sol. C'est en partie à ce niveau que la faune du sol joue un rôle prépondérant en provoquant un fractionnement et un mélange intime des particules végétales et du sol.

Plusieurs auteurs dont Macfadyen (1963) et Satchell (1974) ont montré l'importance de la faune du sol dans la dégradation des litières. Citons, par exemple, les travaux de Kurcheva (1960) qui a observé, en 140 jours dans une chênaie, une diminution de 55% des litières en présence de faune endogée et de seulement 9% sous la seule action des microorganismes. Parmi la faune du sol, les lombriciens occupent une place privilégiée. Essentiellement saprophages, ils enfouissent dans le sol le matériel végétal et/ou la matière organique (revues bibliographiques in Satchell, 1967 et in Lee, 1985) par ingestion durant laquelle les matériaux sont finement broyés, ensemencés en germes microbiens puis déposés en surface et dans le sol par défécation. De plus, durant leur activité, les lombriciens relâchent dans le sol diverses substances qui favorisent la croissance végétale. Ainsi, Graff et Makeschin (1980) font une démonstration concluante de l'effet positif sur la croissance végétale de molécules produites par l'activité de trois espèces de lombriciens à savoir *Lumbricus terrestris*,

Aporrectodea caliginosa et *Eisenia fetida*. Après recueil des percolats de sol, dans lesquels ces animaux avaient séjourné pendant 11 jours, ils ont rajouté ces lessivats à des sols sur lesquels du ray-gras (*Lolium perenne* L.) avait été planté. La production de matière sèche des plantes était majorée de 10% par rapport à des pots témoins n'ayant reçu aucun amendement. De plus, les lombriciens excrètent dans le sol du mucus cutané, composé de molécules à C/N relativement bas, très énergétiques et facilement minéralisables (Cortez et Bouché, 1987). L'énergie liée à ces phénomènes entraîne une augmentation des potentialités microbiennes, d'une part, par aération du sol, et d'autre part, par une dispersion et une disponibilité des substrats énergétiques. Lorsque l'on sait que la biomasse lombricienne représente entre 60% et 80% de la zoomasse du sol des régions intertropicales et des régions tempérées, leur rôle dans le sol apparaît comme tout à fait évident.

Les vers de terre utilisent la matière organique déjà stabilisée dans le sol et la matière organique fraîche arrivant au sol (litière aérienne et racinaire). De ce fait, l'azote transformé et transloqué par les lombriciens peut suivre un cycle court du type plante --> litière --> lombricien --> azote minéral --> plante ou un cycle plus long matière organique --> lombricien --> azote minéral --> plante --> matière organique stabilisée. Il est donc souhaitable de connaître les modalités et les conditions de l'utilisation de l'un ou l'autre substrat pour une estimation convenable du renouvellement de l'azote dans le système-sol. Dans la première partie des expériences en microcosmes que nous présentons dans ce chapitre, nous relatons des résultats obtenus par l'étude, en serre, de la translocation et des cinétiques de transfert de l'azote de la litière (*N) vers la plante. Dans le prochain chapitre, nous comparerons ces résultats avec ceux que nous avons obtenus *in situ* sur le transfert de l'azote du lombricien vers la plante.

L'apport d'azote aux lombriciens a été effectué avec deux types de litière à C/N très différents. La raison en est simple. On sait que, dans la nature, les lombriciens, en perpétuelle recherche de nourriture, consomment dans la mesure du possible des litières à bas C/N. Van Rhee (1963), en nourrissant six espèces de vers de terre avec plusieurs litières, observe une variation de leur consommation avec le type de nourriture apportée. De façon plus spécifique, Satchell et Lowe (1967) montrent qu'il existe une association certaine entre une préférence nutritionnelle et la qualité chimique de celle-ci comme, par exemple, les teneurs en oses, composés phénoliques, azote,..etc... Les résultats que nous avons obtenus (Cortez et Hameed, 1988) vont tout à fait dans ce sens puisque nous avons pu établir des corrélations hautement significatives entre la quantité d'azote apportée par les litières, l'azote consommé par les lombriciens et leur variation de biomasse.

Ce chapitre sera présenté en trois parties distinctes et complémentaires:

1) Etude des transferts de l'azote de la litière vers la plante en présence ou non d'un lombricien. Répartition de l'azote de la litière dans chacun des compartiments du modèle (biomasse microbienne, lombricien, sol, plante). Ces expériences effectuées en serre avec deux types de litières (C/N=9,5 et C/N= 42,6) marquées au ^{15}N permettent d'estimer l'impact global du lombricien sur la nutrition azotée des plantes.

2) Biostimulation des plantes par les lombriciens.

3) Etude du renouvellement de l'azote par les lombriciens.

3.2. Etude, en microcosmes, des transferts d'azote des litières vers les plantes sous influence lombrico-microbienne

3.2.1. Matériel et méthodes

Pour étudier les cinétiques de transfert et la redistribution de l'azote apporté sous forme de litière en présence ou non de ver de terre, nous avons défini un modèle de fonctionnement comprenant les cinq compartiments suivants dans lesquels devraient se retrouver l'azote issu des litières.

1) **Le compartiment litière apportée** qui est la seule source de ^{15}N du milieu et qui sera enfouie dans le sol lorsque les animaux seront présents. L'azote d'origine litière est désigné par *N et représente la proportion de $^{15}N/^{14}N+^{15}N$ dans la litière. C'est la redistribution de cette proportion (donc de l'azote litière) que nous suivons dans les différents compartiments du modèle.

2) **Le compartiment biomasse microbienne** qui théoriquement devrait prélever plus ou moins de *N en présence ou en absence de lombricien et ceci, selon le C/*N des litières amenées.

3) **Le compartiment lombricien** dont le comportement devrait varier selon le C/*N des litières.

4) **Le compartiment plante** dont la concentration en *N va dépendre de l'activité lombrico-microbienne et de la compétition plante-microorganismes.

5) **Le compartiment sol** dans lequel on pourra estimer tout au long de l'expérience la teneur et l'évolution de *N sous forme minérale.

Pour ce faire, quatre types de dispositifs expérimentaux ont été mis en place en serre en conditions controlées.

- Sol + litière (C/*N=9,5) + lombricien + plante
- Sol + litière (C/*N=9,5) + plante
- Sol + litière (C/*N=42,6) + lombricien + plante
- Sol + litière (C/*N=42,6) + plante

Les pots ont été sacrifiés au fur et à mesure de la croissance végétale et les quantités de *N mesurées chaque fois dans tous les compartiments.

L'étude a été suivie pendant une durée de 113 jours pour les expériences faisant intervenir les litières à bas C/*N et pendant seulement 89 jours pour les litières à haut C/*N. La raison, d'ordre purement technique, est la suivante:

La litière à C/*N 42,6 a été répartie dans deux sacs plastique, juste après la récolte et avant passage à l'étuve. Il s'est avéré que l'un des deux sacs était mal aéré. Il s'en est suivi un développement important de champignons dans ce sac et nous avons dû, de ce fait, nous séparer de cette récolte contaminée. Pour une question de temps, il était difficile de refaire une nouvelle culture de 80 jours. Nous n'avons donc pu récolter suffisamment de litière que pour 8 microcosmes seulement (4 avec et 4 sans lombricien). En conséquence, pour les microcosmes à litière C/*N 42,6, nous avons choisi arbitrairement d'effectuer les analyses aux jours 21, 35, 69 et 89 et de supprimer les microcosmes des jours 49 et 113.

3.2.1.1. Caractéristiques du sol

Le sol utilisé est un sol brun acide (CPCS, 1967) prélevé sous prairie permanente. Sa texture est limono-argilo-sableuse sur la totalité du profil. Ses caractéristiques physico-chimiques sont les suivantes: argile 18,0%; limon fin 21,9%; limon grossier 17,9%; sable fin 12,1%; sable grossier 30,1%; C 4,15%; N 0,44%; C/N 9,43; pH H_2O 6,7.

3.2.1.2. Caractéristiques des lombriciens

L'espèce retenue pour cette expérience est un épianécique *Lumbricus terrestris L.* qui est l'espèce dominante de la station. Au moment du prélèvement (6/03/86) les quatre espèces représentées et leurs biomasses respectives se repartissaient comme suit: *Lumbricus terrestris* (Linné) 71,8%, *Lumbricus species* (11,1%), *Lumbricus castaneus* (Savigny) (6,9%), *Nicodrilus caliginosus* (Savigny) (5,7%) et *Octolasion lacteum* (Oerley) (4,5%). Sur le terrain la biomasse de *Lumbricus terrestris* L. est de 128 $g.m^{-2}$.

Les vers de terre ont été capturés par la méthode au formol (Voir chapitre II). Après un premier tri sur le terrain, les lombriciens de l'espèce *Lumbricus terrestris* sont rincés plusieurs fois à l'eau, placés dans un bac de sol à 14°C et pF 3 (=0,098 MPa) et nourris pendant 3 à 4 semaines pour leur permettre de retrouver des conditions d'activité optimale. Après avoir éliminé les juvéniles, les lombriciens adultes sont nettoyés à l'eau, essuyés à l'aide de papier filtre et pesés au moment de leur introduction dans les microcosmes.

A noter que si les juvéniles ont un comportement épigé (vie superficielle en litière), les adultes se comportent en anéciques (action verticale dans le sol car ils creusent des galeries jusqu'à des horizons profonds).

Les teneurs en matière sèche des animaux tube digestif plein (mps) sont respectivement de 25,15 $\pm$ 0,78% et de 14,41 $\pm$ 0,42% tube digestif vide (mvs) (moyenne de 20 échantillons). Leurs teneurs en azote sont de 54,81 $\pm$ 1,16 $mg.g^{-1}$ matière sèche (mps) et de 115,15 $\pm$ 1,58 $mg.g^{-1}$ matière sèche (mvs) (moyenne de 20 individus). Toutes les analyses relatives aux lombriciens ont été effectuées tube digestif plein (mps) dans la mesure où les quantités d'azote de l'endentère sont de l'ordre de 0,5% (Bouché et Ferrière, 1986) donc négligeables. En conséquence, le terme de **compartiment lombricien** correspond en fait ici à l'ensemble **lombricien + endentère**.

3.2.1.3. Caractéristiques des litières

Deux types de litières à C/N différents (9,5 et 42,6) et marquées au ^{15}N ont été utilisées dans cette expérience. Ces litières sont constituées par des parties aériennes de ray-gras (*Lolium perenne* L.) cultivé en solution nutritive enrichie en ^{15}N depuis la germination . Ces parties aériennes ont été récoltées respectivement après 30 et 80 jours de culture (cf. 2.6.2.1).

Après séchage des plantes à l'étuve, les parties aériennes sont hachées entre 2 et 5 mm et ajoutées aux micocosmes au fur et à mesure du besoin des lombriciens.

L'enrichissement isotopique ($E\% = {}^{15}N/N^{total}$) des litières est de 10,3%.

3.2.1.4. Dispositifs expérimentaux

Après élimination des racines et des cailloux, le sol est séché à l'air, tamisé à 2 mm, réhumidifié à pF 3 soit 0,098 MPa et réparti dans 50 bocaux d'une capacité de 1,5 l à raison de 1 kg de terre humide par bocal. Chaque pot a reçu 15 graines de *Lolium Perenne*. La diversification des microcosmes s'est effectuée après apparition des plantules.

Pour évaluer l'activité lombrico-microbienne, 12 bocaux ont reçu un ver de terre et une quantité de litière de C/*N 9,5 déposée à la surface de chaque microscosme. A titre de comparaison, quatre autres pots avec ver de terre ont reçu la même quantité de litière de C/*N 42,6. La quantité de litière ajoutée à chaque microcosme représentait au départ, par semaine, 10% du poids frais de l'animal (Needham, 1957); elle a été ensuite apportée au fur et à mesure du besoin des lombriciens. Ces microcosmes ont été désignés par (S+V+P+*L).

Pour évaluer l'activité due aux seuls microorganismes du sol, 16 pots ont reçu la même quantité de litière sans ver de terre (12 pots avec litière C/*N 9,5 et 4 pots avec litière C/*N 42,6). Ces microcosmes ont été désignés par (S+P+*L).

Les bocaux, enveloppés dans du papier aluminium pour maintenir la partie sol à l'obscurité, ont été placés en serre dans un bac dans lequel circule en permanence de l'eau maintenue à 14°C. Cette température du sol est en effet considérée comme la température d'activité convenant à *Lumbricus terrestris*. La température de l'atmosphère de la serre évolue entre 18°C la nuit et 24°C le jour. L'humidité du sol est contrôlée périodiquement et réajustée si nécessaire.

Les masses de litière, les quantités de N^{total} (N^t), ^{15}N et *N apportées aux différents microcosmes sont indiquées dans le tableau 3.1 (p.48) en fonction du C/*N des litières.

La masse de ver de terre ajouté à chaque microcosme est indiquée dans le tableau 3.7 (p.61).

Les microcosmes contenant de la litière à C/*N=9,5 ont été sacrifiés après 21, 35, 49, 69, 89 et 113 jours à fin d'analyses. Par contre, ceux contenant de la litière à C/*N=42,6 ont été sacrifiés après 21, 35, 69 et 89 jours pour les raisons exposées précédemment (cf. 3.2.1/5).

Dans chacun des compartiments, on a effectué les mesures et les dosages suivants:

1) **Compartiment biomasse microbienne** - Estimation du C (Jenkinson et Powlson, 1976), de N (Brookes et al., 1985) et de ^{15}N.

2) **Compartiment lombricien** - Mesure de la biomasse, du C^{total} (C^t), N^{total} (N^t), ^{15}N.

3) **Compartiment plante** - Mesure de la biomasse, C^t, N^t, ^{15}N dans les parties aériennes et racinaires.

4) **Compartiment sol** - Détermination de $N\text{-}NH_4^+$, $^{15}N\text{-}NH_4^+$, $N\text{-}NO_3^-$ et $^{15}N\text{-}NO_3^-$.

Les techniques de dosage sont décrites en détail dans le chapitre II.

A partir des résultats obtenus dans chacun des compartiments et connaissant l'enrichissement de la litière apportée (E%=10,3%), on a pu déterminer par calcul l'azote provenant de la litière (*N) et l'azote provenant du sol (°N) sachant que:

$$*N(mg) = {}^{15}N(mg) \times 100/10,3 \quad (E\% \text{ litière} = 10,3\%)$$

$$°N(mg) = N^t(mg) - *N(mg)$$

	C/*N = 9,5					C/*N = 42,6				
Temps (jours)	Masse totale apportée (1)	N total (2)	E (%) (3)	Masse ^{15}N apportée (4)	Masse *N apportée (5)	Masse totale apportée (6)	N total (7)	E (%) (8)	Masse ^{15}N apportée (9)	Masse *N apportée (10)
0	0									
21	1 500	41,0	10,3	6,33	61,28	1 500	9,5	10,3	1,27	12,29
35	2 100	41,0	10,3	8,67	83,93	2 100	9,5	10,3	2,15	20,81
49	2 400	41,0	10,3	10,14	98,16					
69	3 800	41,0	10,3	16,05	155,37	3 800	9,5	10,3	3,57	34,50
89	4 300	41,0	10,3	18,16	175,80	4 300	9,5	10,3	4,06	39,30
113	4 750	41,0	10,3	20,06	194,19					

Tableau 3.1: Quantités d'azote (N^t, ^{15}N, *N) apportées aux microcosmes au cours du temps avec les deux types de litière.

Les colonnes 1, 4, 5, 6, 9 et 10 sont exprimées en mg/pot. Les colonnes 2 et 7 sont exprimées en $mg.g^{-1}$ms.

	Temps jours	$N.NH_4^+$ (1)	E% $N.NH_4^+$ (2)	$^{15}N.NH_4^+$ (3)	$^*N.NH_4^+$ (4)	$N.NO_3^-$ (5)	E% $N.NO_3^-$ (6)	$^{15}N.NO_3^-$ (7)	$^*N.NO_3^-$ (8)	Nmin.total (1+5) (9)	^{15}Nmin.total (3+7) (10)	*Nmin.total (4+8) (11)
S + V + P + *L	21	5,00	0,00	0,00	0,00	164,88	0,89	1,30	12,67	169,88	1,30	12,67
	35	14,83	0,00	0,00	0,00	255,74	1,20	3,05	29,52	270,58	3,05	29,52
	49	29,99	1,20	0,36	3,50	418,19	1,22	5,12	49,74	448,18	5,48	53,24
	69	7,92	0,00	0,00	0,00	146,59	2,51	3,82	35,14	154,51	3,82	35,14
	89	7,20	0,59	0,42	4,1	97,56	3,33	3,26	31,68	104,76	3,68	35,78
	113	10,37	2,99	0,32	3,49	1,1	2,42	0,03	0,29	11,45	0,35	3,78
S + P + *L	21	1,37	0,00	0,00	0,00	152,14	0,86	1,09	10,58	153,50	1,09	10,58
	35	14,62	0,87	0,14	1,30	61,05	1,69	1,02	10,00	75,67	1,15	11,30
	49	4,97	1,48	0,09	0,86	29,90	0,84	0,28	2,74	34,85	0,37	3,60
	69	0,00	0,00	0,00	0,00	4,25	0,30	0,01	0,14	4,25	0,01	0,14
	89	0,00	0,00	0,00	0,00	1,22	1,48	0,01	0,18	1,22	0,01	0,18
	113	4,61	1,09	0,05	0,50	0,00	0,00	0,00	0,00	4,61	0,05	0,50

Tableau 3.2: Répartition de l'azote minéral du sol en présence et en absence de lombricien (C/*N = 9,5).

Les colonnes 1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10 et 11 sont exprimées en mg/pot.

3.2.1.5. Analyses statistiques

Les nombreux compartiments étudiés (Biomasse microbienne, Lombricien, Sol, Plante) et les nombreuses analyses effectuées sur chacun d'entre eux, en présence et en absence de lombricien, obligent à de multiples mesures. En conséquence, il n'a pas été possible d'augmenter le nombre de microcosmes par date de prélèvement. Ainsi, les résultats de chaque prélèvement représentent souvent la moyenne de deux microcosmes (litières à C/*N 9,5) et n'ont parfois été obtenus que sur un seul microcosme (litière à C/*N 42,6). En conséquence, les calculs des paramètres de dispersion sur la variabilité entre microcosmes étaient sans portée.

3.2.2. Résultats

3.2.2.1. Compartiment sol

A. Litière à C/*N 9,5

A.1. En présence de lombriciens

Les résultats (Tableau 3.2, p.49 et Figure 3.1.I, p.51) montrent, jusqu'au jour 49, une accumulation importante d'azote minéral dans le sol principalement sous forme de NO_3^- (environ 94% de N minéral total). A partir du 49ème jour, cette concentration en NO_3^- diminue rapidement jusqu'au 69ème jour, puis plus lentement et atteint une valeur pratiquement nulle en fin d'expérience. Il semble donc qu'en présence de lombriciens, on assiste à une intense minéralisation de l'azote pendant la première partie de l'expérience mais, après 113 jours, la totalité de l'azote minéral présent a disparu. Cette stimulation de la minéralisation de l'azote, observée à plusieurs reprises par les chercheurs, a souvent été attribuée aux excrétats et aux déjections lombriciennes. Ainsi, Blanke et Giesecke (1924), Day (1950) et Joshi et Kelbar (1952) ont montré une augmentation de la nitrification dans les turricules désignant ainsi les vers de terre comme des intervenants d'une importance exceptionnelle dans le cycle de l'azote. Parle (1963b) a d'ailleurs indiqué que 96% de l'azote minéral des turricules frais se trouvait sous forme de NH_4^+ et était immédiatement nitrifié après les dépots des excrétats.

Le tableau 3.2 (p.49) et la figure 3.1.II (p.51) montrent que ^{15}N minéral du sol (essentiellement sous forme de $*NO_3^-$) suit la même dynamique que l'azote total puisqu'il passe par un maximum au jour 49 pour décroître et s'annuler en fin d'expérience. Il faut cependant noter que le rapport $*N/N^t$ des $*NO_3^-$ (E%-$*NO_3^-$) augmente régulièrement tout au long de l'expérience sauf au jour 113.

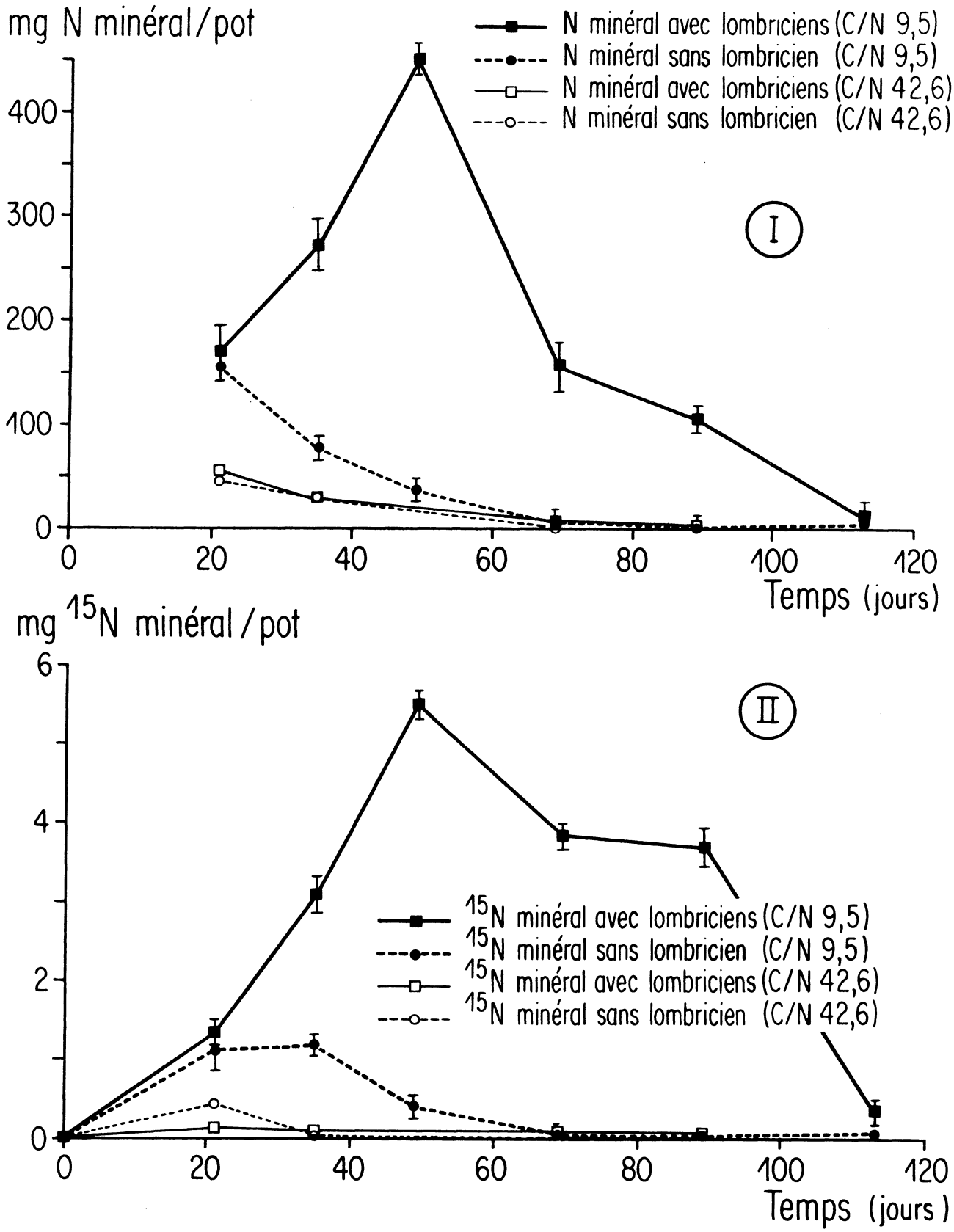

Figure 3.1: Dynamique de l'azote minéral total (I) et de l'azote 15 minéral (II) dans le sol, en présence et en absence de lombricien. Les courbes représentent la moyenne des deux valeurs indiquées par les traits verticaux.

Si l'on compare l'enrichissement en *N de la faible proportion de $*NH_4^+$ ($E\%-*NH_4^+$) présents à celui des $*NO_3^-$, on constate qu'ils sont pratiquement les mêmes au jour 49, ce qui montre bien que les $*NO_3^-$ du sol proviennent de la nitrification de $*NH_4^+$ déjà présent dans le sol. Par contre, au 89ème jour d'expérience, on voit que $E\%-*NH_4^+$ est 5 à 6 fois plus faible que $E\%-*NO_3^-$. Ceci indique que les $*NO_3^-$ proviennent d'une autre source que celle de la minéralisation directe de NH_4^+ par les microorganismes du sol. Or nous avons vu que la litière à C/*N 9,5 contenait une quantité de $*NO_3^-$ importante (environ 13 mg $*NO_3^-.g^{-1}$ matière sèche de plante; E%=10,3%), certainement concentrés dans les vacuoles des cellules. Nous pouvons donc supposer qu'à cette période, les $*NO_3^-$ retrouvés dans le sol proviennent en grande partie de l' apport direct des $*NO_3^-$ des cellules végétales introduites dans le sol par les vers de terre plutôt que de la minéralisation de la litière par le système lombrico-microbien.

La chute de l'azote minéral total présent dans le sol, entre les jours 49 et 113, pourrait s'expliquer par sa reprise et sa réorganisation à la fois par les plantes, les microorganismes du sol et les lombriciens. De plus, une partie de cet azote pourrait se retrouver dans l'humus de synthèse microbienne formé à partir d'élaborats et de débris microbiens néo-formés. Sachant que, entre le 49ème et le 113ème jour, la diminution d'azote minéral du sol a été de 436,7 mg/pot et que (1) le ver de terre a incorporé 16,3 mg d'azote soit 3,7% (2) la plante a assimilé 36 mg d'azote soit 8,2% et (3) l'azote réorganisé présent dans la biomasse microbienne a été négligeable, il s'en suit que la diminution totale de l'azote minéral du système, non repris par les biomasses, représente au moins 88% (il est en effet certain que la nitrification a continué durant cette période et la diminution d'azote minéral a donc été supérieure à la valeur de 436,7 mg/pot). Cette diminution d'azote minéral ne peut donc être dû qu'à deux phénomènes: soit une perte d'azote par dénitrification, soit une réorganisation de ces nitrates par la microflore tellurique suivi du relargage de cet azote dans le milieu par les microorganismes (humus de synthèse microbienne). Si, par contre, on calcule le bilan de l'azote total en faisant la différence entre les entrées et les sorties d'azote (Tableau 3.3; p.53), on s'aperçoit que ces données sont comparables et diffèrent seulement de 3 à 4%. Ces variations peuvent être facilement attribuées aux erreurs techniques de la mesure de l'azote, erreurs amplifiées par les coefficients multiplicateurs que l'on applique, lorsque l'on ramène des teneurs d'azote à des quantités de sol importantes. En conséquence, on peut donc considérer qu'il n'y a pratiquement pas de diminution d'azote total entre le début et la fin de l'expérience. L'azote minéral qui a disparu se retrouve donc dans le sol sous forme de nécromasse microbienne après réorganisation des nitrates. L'hypothèse de la dénitrification de ces nitrates est donc à exclure.

Par contre, entre ces deux mêmes dates, la diminution de *N minéral n'a été que de 37,5% puisqu' on retrouve respectivement dans la plante, le lombricien et la biomasse microbienne un surcroît en *N de 15,1%, 46,2% et 1,2%. Cette diminution d'azote minéral du sol ne peut s'expliquer comme

		S + V + P + *L						S + P + *L				
		N^t sol mg/pot	N^t lomb. mg/pot	N^t litière apportée mg/pot	N^t plante mg/pot	Masse totale mg/pot	Différence mg/pot	N^t sol mg/pot	N^t litière mg/pot	N^t plante mg/pot	Masse totale mg/pot	Différence mg/pot
Litière C/*N 9,5	N^t entrée	2887	50,33	194,75	0	3132,10	-	2887	194,75	0	3082,0	-
	N^t sortie	3088	85,29	-	105,13	3278,40	146,30	3017	-	122,96	3140,0	58,00
Litière C/*N 42,6	N^t entrée	2887	41,02	41,32	0	2969,30	-	2887	41,32	55,87	2984,0	-
	N^t sortie	2750	66,41	-	95,86	2912,30	57,03	2930	-	143,77	3073,8	89,77

Tableau 3.3: Bilan global de l'azote dans les microcosmes à litières de C/*N 9,5 et 42,6, après 113 jours d'expérience.

précédemment que par la réorganisation des $*NO_3^-$ sous forme d'humus de synthèse microbienne.

Pendant les 49 premiers jours de l'expérience, les quantités d'azote minéral total et de *N du sol augmentent constamment. L'entrée d'azote dans le système est donc supérieure aux pertes. Ainsi, le bilan global est positif mais cela n'est pas l'indication de la non formation d'humus de synthèse microbienne.

A.2. En absence de lombricien

Les quantités d'azote minéral total et de *N minéral diminuent jusqu'au 113ème jour et sont toujours beaucoup plus faibles qu'en présence de lombriciens puisque, comme nous l'avons vu, le système lombrico-microbien favorise la minéralisation. Durant la croissance des plantes, la diminution d'azote minéral total du sol est de 148,9 mg/pot entre les jours 21 et 113. Or, durant ce laps de temps, le gain d'azote des plantes est de 97,2 mg, soit 65,3%, et celui de la biomasse microbienne de 8,6 mg, soit 5,8%. Les différences observées, bien qu'encore relativement importantes, ne s'élèvent plus qu'à 28,9% de l'azote minéral présent au 21ème jour. Le tableau 3.3 (p.53) indique une différence de 1,8% entre les entrées et les sorties d'azote total du milieu. Cette marge d'erreur, tout à fait acceptable, indique qu'il n'y a eu aucune perte évidente d'azote total durant l'expérience. L'azote minéral non retrouvé a été transformé en humus de synthèse.

Comme en présence de vers de terre, la quasi totalité de l'azote minéral est sous forme de NO_3^- et de $*NO_3^-$. Il faut remarquer que l'enrichissement des $*NO_3^-$ varie au cours des prélèvements mais est toujours plus bas en absence de lombricien (Tableau 3.2; p.49).

B. Litière à C/*N 42,6

En présence ou en absence de lombricien, nous constatons tout au long de l'expérience une accumulation très faible de N et de *N minéral dans le sol avec ce type de litière (Figures 3.1.I et 3.1.II; p.51). En calculant le bilan global de la circulation de l'azote, nous verrons que le modèle **N minéral - N réorganisé dans la biomasse microbienne - N incorporé par les vers de terre - N assimilé par les plantes** fonctionne de façon satisfaisante puisqu'il n'y a aucune perte d'azote dans le système et que tous les compartiments se sont developpés convenablement.

L'enrichissement des $*NO_3^-$ du sol augmente constamment en présence de vers de terre (de 0,18% à 1,27% en fin d'expérience) mais diminue en absence de ver de terre (de 0,95% à 0,27%). Lorsque les animaux sont présents, il y a donc une minéralisation accrue de la litière qui libère par nitrification des $*NO_3^-$ dans le sol, ce qui provoque une augmentation de son

	Temps jours	$N.NH_4^+$ (1)	E% $N.NH_4^+$ (2)	$^{15}N.NH_4^+$ (3)	$^*N.NH_4^+$ (4)	$N.NO_3^-$ (5)	E% $N.NO_3^-$ (6)	$^{15}N.NO_3^-$ (7)	$^*N.NO_3^-$ (8)	N min. total (1+5) (9)	^{15}N min. total (3+7) (10)	*N min. total (4+8) (11)
S+V+P+I*	21	2,09	0,69	0,01	0,14	51,44	0,18	0,09	0,94	53,57	0,10	1,08
	35	18,43	0,00	0,00	0,00	7,63	0,59	0,04	0,43	26,06	0,04	0,43
	69	0,00	0,00	0,00	0,00	6,12	0,72	0,04	0,43	6,12	0,04	0,43
	89	0,00	0,00	0,00	0,00	2,81	1,27	0,04	0,36	2,81	0,04	0,36
S+P+I*	21	0,43	0,00	0,00	0,00	44,06	0,95	0,42	4,03	44,50	0,42	4 ,00
	35	16,99	0,00	0,00	0,00	10,37	0,24	0,02	0,22	27,36	0,02	0,22
	69	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	89	0,00	0,00	0,00	0,00	1,73	0,27	0,01	0,07	1,73	0,01	0,07

Tableau 3.4: Répartition de l'azote minéral du sol en présence et en absence de lombricien (C/*N = 42,6).

Les colonnes 1, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10 et 11 sont exprimées en mg/pot.

enrichissement. Par contre, sans lombricien, la seule présence des microorganismes telluriques n'est pas suffisante pour décomposer aussi rapidement une quantité importante de litière à C/*N élevé, de telle sorte que la majorité des NO_3^- du sol provient plutôt de la minéralisation de la matière organique native du sol (°N). Cet apport de °N entraîne donc une diminution de l'enrichissement de l'azote minéral du sol (Tableau 3.4; p.55).

3.2.2.2. Compartiment biomasse microbienne

A. Litière à C/*N 9,5

Le tableau 3.5 (p.57) montre que le carbone et l'azote de la biomasse microbienne n'évoluent pas dans le même sens. En effet, si le carbone est toujours généralement plus élevé en présence de lombriciens, l'azote, par contre, est dans ce cas sensiblement plus faible. Ceci entraîne une valeur du C/N de la biomasse microbienne supérieur en présence de vers de terre (Figure 3.2; p.58). Ce résultat pourrait indiquer que les lombriciens developperaient dans le sol où ils évoluent une biomasse microbienne plus fongique que bactérienne. D'ailleurs, Parle (1963b) montre que la proportion de champignons augmente notablement lorsque les turricules vieillissent. Or, dans nos microcosmes, il y a une accumulation de turricules et de fèces endogés puisque le sol n'est pas renouvellé pendant 113 jours et l'on peut penser que cette accumulation entraîne une évolution de la biomasse microbienne vers les champignons. De plus, la richesse en $*NO_3^-$ de la litière apportée peut favoriser le développement fongique sur les débris végétaux ingérés par les lombriciens et déféqués dans le sol (Tableau 3.5; p.57).

L'enrichissement en *N de la biomasse microbienne est toujours plus élevé en présence de lombriciens et, hormis le 113ème jour, augmente régulièrement en fonction du temps. Ce résultat s'explique par le fait que le système lombrico-microbien, en enfouissant dans le sol cette litière à bas C/*N, en augmente la minéralisation et permet un enrichissement progressif de la biomasse microbienne. Mais, sans ver de terre, la microflore puise son azote dans la litière mais surtout dans la matière organique native du sol. Il faut d'ailleurs noter que l'enrichissement en *N de la biomasse microbienne demeure toujours inférieur à celui des lombriciens et des plantes.

B. Litière à C/*N 42,6

Comme dans le cas précédent, le carbone de la biomasse microbienne est souvent plus élevé en présence de lombriciens (Tableau 3.6; p.59). Les quantités d'azote sont relativement proches avec ou sans ver de terre de telle sorte que, dans le cas de cette litière aussi, le C/N de la biomasse microbienne est généralement plus haut en présence d'animaux. Remarquons que le C/N de

Temps jours	S + V + P + *L							S + P + *L						
	C.BM (1)	N.BM (2)	E% BM (3)	^{15}N.BM (4)	*N.BM (5)	*N/N t % (6)	C/N BM (7)	C.BM (8)	N. BM (9)	E% BM (10)	^{15}N.BM (11)	*N.BM (12)	*N/N t % (13)	C/N BM (14)
21	826.92	60.30	0,69	0,42	4,07	6,7	13,7	815,04	68,11	1,22	0,83	8,05	11,8	12,0
35	662,80	77,62	1,23	0,95	9,20	11,8	8,5	788,90	96,91	0,87	0,84	8,15	8,4	8,0
49	804,53	83,8	1,17	0,98	9,50	11,3	9,6	628,20	82,0	0,55	0,45	4,37	5,3	7,7
69	493,99	52,13	1,50	0,78	7,57	14,5	9,5	329,90	80,78	0,83	0,67	6,50	8,0	4,1
89	679,10	80,82	1,87	1,51	14,65	18,1	8,4	575,21	75,17	1,06	0,79	7,66	10,2	7,7
113	557,40	71,86	1,45	1,04	10,10	14,0	7,8	623,16	76,82	0,59	0,45	4,37	5,7	8,1

Tableau 3.5: Carbone et azote de la biomasse microbienne des deux dispositifs avec et sans lombricien (C/*N = 9,5).

Les colonnes 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11 et 12 sont exprimées en mg/pot.

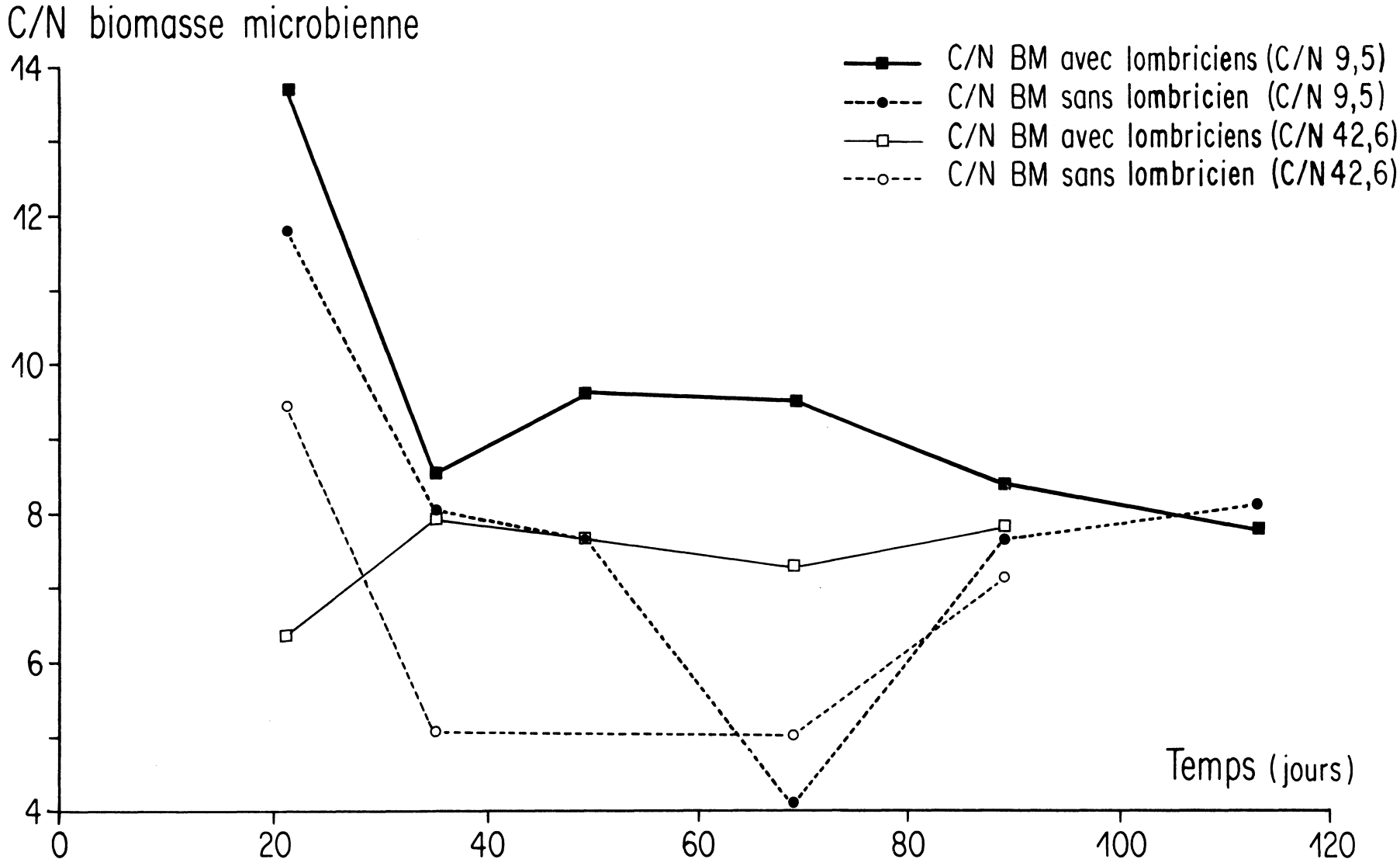

Figure 3.2: Variation du C/N de la biomasse microbienne du sol avec les deux types de litière, en présence et en absence de lombricien.

Temps (Jours)	S + V + P + *L							S + P + *L						
	C^t.BM (1)	N^t.BM (2)	E%-BM (3)	^{15}N.BM (4)	*N.BM (5)	$\%\frac{*N}{N}$ (6)	C/N BM (7)	C^t.BM (8)	N^t.BM (9)	E%-BM (10)	^{15}N.BM (11)	*N.BM (12)	$\%\frac{*N}{N}$ (13)	C/N BM (14)
21	530,70	85,25	0,35	0,30	2,87	3,37	6,22	753,10	79,85	0,30	0,24	2,30	2,89	9,40
35	741,30	93,60	0,19	0,17	1,68	1,79	7,92	502,60	99,72	0,39	0,39	3,77	3,78	5,00
69	582,80	80,14	0,27	0,22	2,10	2,61	7,27	342,70	68,54	0,64	0,43	4,26	6,22	5,00
89	659,40	84,02	0,51	0,43	4,12	4,90	7,85	574,70	80,57	0,25	0,20	1,96	2,43	7,10

Tableau 3.6: Carbone et azote de la biomasse microbienne des deux dispositifs avec et sans lombricien (C/*N = 42,6).

Les colonnes 1, 2, 4, 5, 8, 9, 11 et 12 sont exprimées en mg/pot.

la microflore est plus bas que celui obtenu avec la litière à C/*N 9,5. Ceci semblerait indiquer que les litières à C/*N élevé permettraient un developpement préférentiel de bactéries contrairement à une litière à C/*N bas qui favoriserait la croissance fongique.

L'enrichissement en *N de la biomasse microbienne (Tableau 3.6; p.59) est généralement plus faible en présence de vers de terre. Ce résultat est difficilement interprétable car il montre qu'en présence de lombriciens la microflore se developpe plutôt aux dépens de la matière organique native du sol. Cependant, nous verrons (Tableau 3.9; p.66) que la biomasse racinaire est plus importante sans ver de terre (entre 20 et 30% de plus pour les deux derniers prélèvements). On peut donc émettre l'hypothèse d'une stimulation de l'activité microbienne par l'effet rhizosphère des plantes qui a peut-être favorisé la minéralisation de la litière. Cette stimulation par l'effet rhizosphère serait dans ce cas supérieure à celle crée par l'effet lombricien.

Il est certain que la probabilité d'un artefact lors de la mesure de l'enrichissement de la biomasse microbienne (E%-BM) ne peut être totalement éliminée, mais ceci reste peu probable puisque, pour chaque pot, E%-BM est la moyenne de 3 prélèvements dosés en double.

3.2.2.3. Compartiment lombricien

La comparaison des gains de biomasse des lombriciens avec les deux litières, après 69 jours d'expérience (nous n'avons pas retrouvé les animaux nourris avec la litière à C/*N 42,6 au 89ème jour), montre qu'ils sont toujours plus importants lorsque la litière apportée a le C/*N le plus élevé. En effet leur biomasse a augmenté de 66,3% avec la litière à C/*N 42,6 et seulement de 19,4% avec celle à C/*N 9,5.

Par ailleurs, les quantités de *N incorporées par les animaux sont voisines (respectivement 17,0 mg *N et 13,9 mg *N pour les litières à C/*N 9,5 et 42,6) (Tableau 3.7; p.61) mais la concentration en *N de la litière à C/*N 42,6 est environ 4,8 fois moindre.

Les lombriciens ont donc ingéré beaucoup plus de matière organique marquée pour incorporer pratiquement la même quantité de *N; leur ingestion a donc été plus intense avec la litière à C/*N 42,6.

Pour estimer l'activité lombricienne, l'une des méthodes consiste à déterminer la production de turricules car il est connu depuis longtemps que ces deux paramètres sont généralement en relation directe. De plus, plusieurs auteurs, parmi lesquels Abbott et Parker (1981) et plus récemment Cortez et Hameed (1988) ont montré, en récoltant les turricules, que le travail des lombriciens est inversement proportionnel à l'appétence de la litière. Ces derniers indiquent que lorsque *Lumbricus terrestris* consomme une litière pauvre en

	Temps (jours)	N^t mg.g^{-1} ms (1)	E% (2)	^{15}N mg.g^{-1} ms (3)	$^*N$ mg.g^{-1} ms (4)	M.F.d (mph) g (5)	M.F.f (mph) g (6)	gain de biomasse % (7)	$^*N$ assimilé par ver mg (8)	M.S.f (mps) g (9)
S+V+P+*L C/*N (9,5)	21	54,81	0,13	0,07	0,71	3,600	3,650	1,39	0,65	0,92
	35	"	1,36	0,75	7,23	4,500	5,020	11,83	9,11	1,26
	49	"	1,28	0,70	6,82	4,400	4,950	12,36	8,45	1,24
	69	"	2,60	1,43	13,84	4,100	4,895	19,39	17,02	1,23
	89	"	3,73	2,04	19,84	4,650	4,990	7,31	24,81	1,25
	113	"	3,82	2,09	20,33	3,950	6,130	61,80	31,31	1,54
S+V+P+*L C/*N(42,6)	21	"	1,28	0,70	6,79	2,950	3,400	15,25	5,84	0,86
	35	"	1,49	0,82	7,91	3,100	5,050	62,90	10,05	1,27
	69	"	2,20	1,21	11,71	2,850	4,750	66,32	13,93	1,19
	89	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Tableau 3.7: Evolution de la biomasse lombricienne, en fonction du temps, dans les microcosmes à lombriciens nourris avec les deux types de litière.

M.F.d. = masse fraîche en début d'expérience
M.F.f. = masse fraîche en fin d'expérience
M.S.f. = masse sèche en fin d'expérience
mps = masse sèche, tube digestif plein
mph = masse fraîche, tube digestif plein
*** = lombricien non retrouvé**

azote, il excrète une quantité de turricules plus importante que lorsqu'il se nourrit de luzerne, ce qui est un indice de l' augmentation de son activité. Le lombricien a donc tendance à exploiter au maximum les possibilités du milieu dans lequel il évolue et à ingérer une quantité de sol supérieure s'il ne trouve pas les éléments nécessaires à son métabolisme. Dans notre expérience, il était impossible de recueillir les turricules en totalité car ils étaient étroitement liés aux racines et à la litière restante. Il était donc difficile d'estimer le travail des vers de terre par cette méthode, mais les quantités de *N incorporées par les animaux, avec les deux types de litière, vont bien dans le sens de cette interprétation.

L'enrichissement en *N des vers de terre augmente constamment avec les deux litières mais, jusqu'au 35ème jour avec la litière C/*N 42,6, l'enrichissement est généralement supérieur. Ce changement est beaucoup plus rapide pendant les 21 premiers jours d'expérience. Ceci pourrait s'expliquer par une inappétence passagère de la litière à C/*N 9,5, due peut-être à sa forte teneur en NO_3^-. Cette nourriture serait alors enfouie dans le sol où elle subirait une maturation préalable qui augmenterait son appétence et permettrait par la suite son ingestion par les lombriciens. Ce temps de maturation semble se reproduire aussi entre le 35ème et le 49ème jour d'une part, et après le 89ème jour d'autre part, puisque, au cours de ces périodes et en présence de litière à C/*N 9,5, on observe des paliers dans la dynamique d'enrichissement des animaux. Ce comportement des lumbricidae n'est pas exceptionnel et a d'ailleurs été rapporté par plusieurs auteurs (Wright, 1972; Cooke et Luxton, 1980; Cortez et al., 1989).

3.2.2.4. Compartiment plante

A. Production de biomasse végétale

On sait que les lombriciens peuvent, par catabolisme, augmenter la disponibilité en azote minéral pour les plantes. D'une façon générale, lorsque l'azote est abondant, les plantes investissent proportionnellement plus dans la partie aérienne que racinaire. En présence de lombriciens, le rapport P_a/P_r est effectivement plus élevé que sans lombricien (Figure 3.4; p.68); Toutefois ce processus n'a pu jouer qu'un rôle accessoire car la production végétale globale a diminué en présence de lombriciens alors que cette disponibilité en azote aurait dû induire une production plus élevée. En effet, les figures 3.3.I (p.63) et 3.3.II (p.65) et les tableaux 3.8 (p.64) et 3.9 (p.66) montrent que la biomasse végétale produite est toujours plus importante en absence de lombricien quel que soit le rapport C/*N de la litière apportée. Ce phénomène se vérifie au niveau de la biomasse totale des plantes mais également au niveau des biomasses aériennes et racinaires.

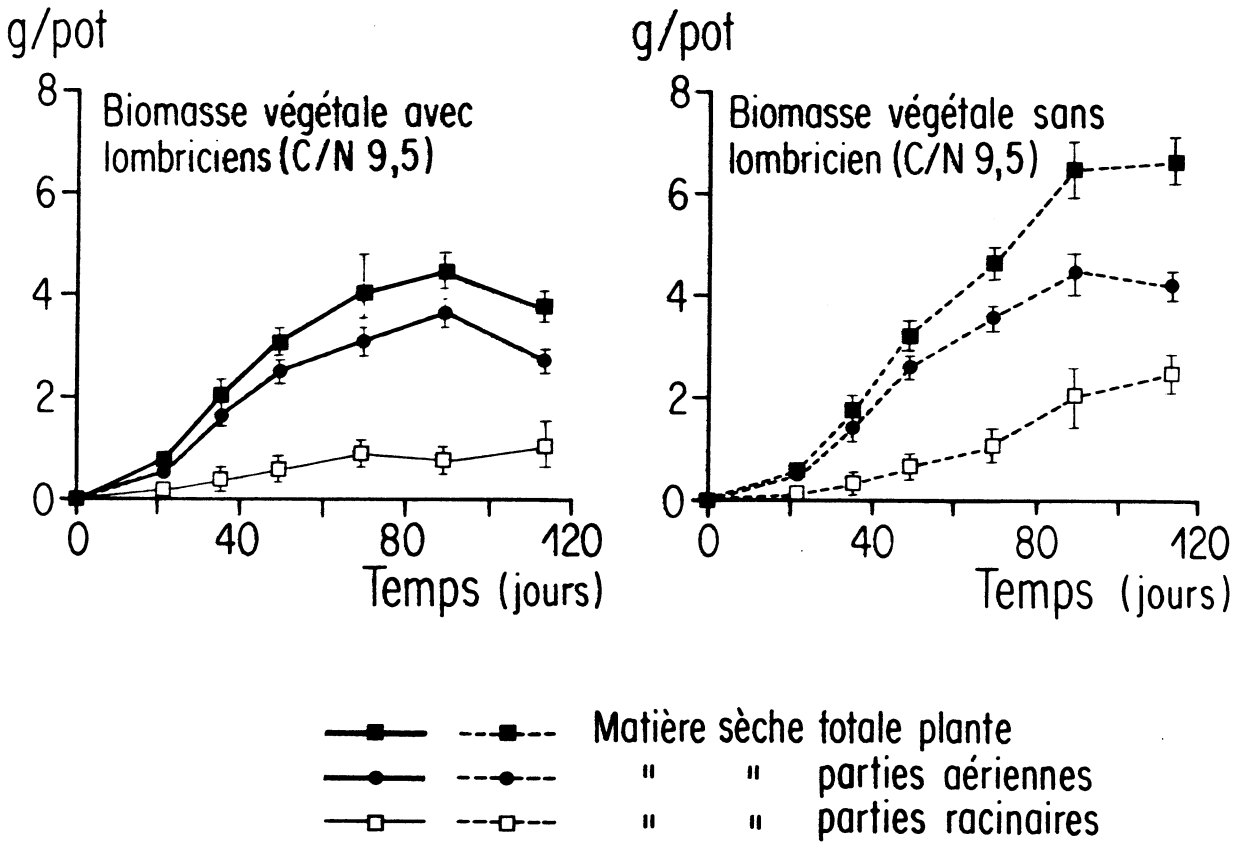

Figure 3.3: I. Production de la biomasse végétale en microcosmes, en présence et en absence de lombricien (litière à C/*N 9,5). Les courbes représentent la moyenne des deux valeurs indiquées par les traits verticaux.

	Temps Jours (1)	masse sèche totale (2)	masse Pa (3)	masse Pr (4)	Pa/Pr (5)	N^t.Pa (6)	N^t.Pr (7)	N^t (Pa+Pr) (8)	E% Plante (Pa+Pr) (9)	*N.Pa (10)	*N.Pr (11)	*N Pa+Pr (12)	*N (Pa+Pr) mg.g^{-1} ms (13)	N^t (Pa+Pr) mg.g^{-1} ms (14)	*N (N^t-*N) (15)
S + V + P + *L	21	755	577	178	3,29	31,21	6,96	38,17	2,09	6,75	1,46	8,21	10,87	50,56	29,96
	35	2005	1615	390	4,14	83,36	15,59	98,95	1,57	13,46	2,55	16,01	7,99	49,35	82,94
	49	3090	2500	590	4,40	118,76	19,12	137,88	1,95	23,92	3,73	27,65	8,95	44,62	110,23
	69	4055	3150	905	3,38	133,40	24,78	158,18	2,40	32,67	6,36	39,03	9,63	39,00	119,15
	89	4500	3698	803	4,59	149,70	23,44	173,14	2,51	38,51	6,18	44,69	9,93	38,48	128,45
	113	3755	2725	1030	3,16	86,50	18,63	105,13	3,24	29,02	6,09	35,11	9,35	27,99	70,02
S + P + *L	21	495	388	108	3,58	21,52	4,21	25,73	1,65	3,70	0,66	4,36	8,81	51,98	21,37
	35	1708	1418	290	4,87	72,67	10,36	83,03	2,09	15,75	2,12	17,87	10,46	48,61	65,16
	49	3213	2603	610	4,28	101,06	17,89	118,95	2,39	25,97	3,37	29,34	9,13	37,02	89,61
	69	4575	3540	1035	3,53	127,10	25,88	152,98	2,23	28,85	6,27	35,12	7,67	33,44	117,86
	89	6433	4417	2015	2,37	106,43	27,14	133,57	3,09	34,22	8,26	42,48	6,60	20,76	91,09
	113	6618	4163	2455	1,70	91,58	31,38	122,96	3,05	28,99	9,56	38,55	5,83	18,58	84,41

Tableau 3.8: Evolution, en fonction du temps, de la biomasse végétale, de N^t et de *N au cours de la croissance des plantes en présence et en absence de lombricien (C/*N = 9,5).

Les colonnes 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12 et 15 sont exprimées en mg/pot.

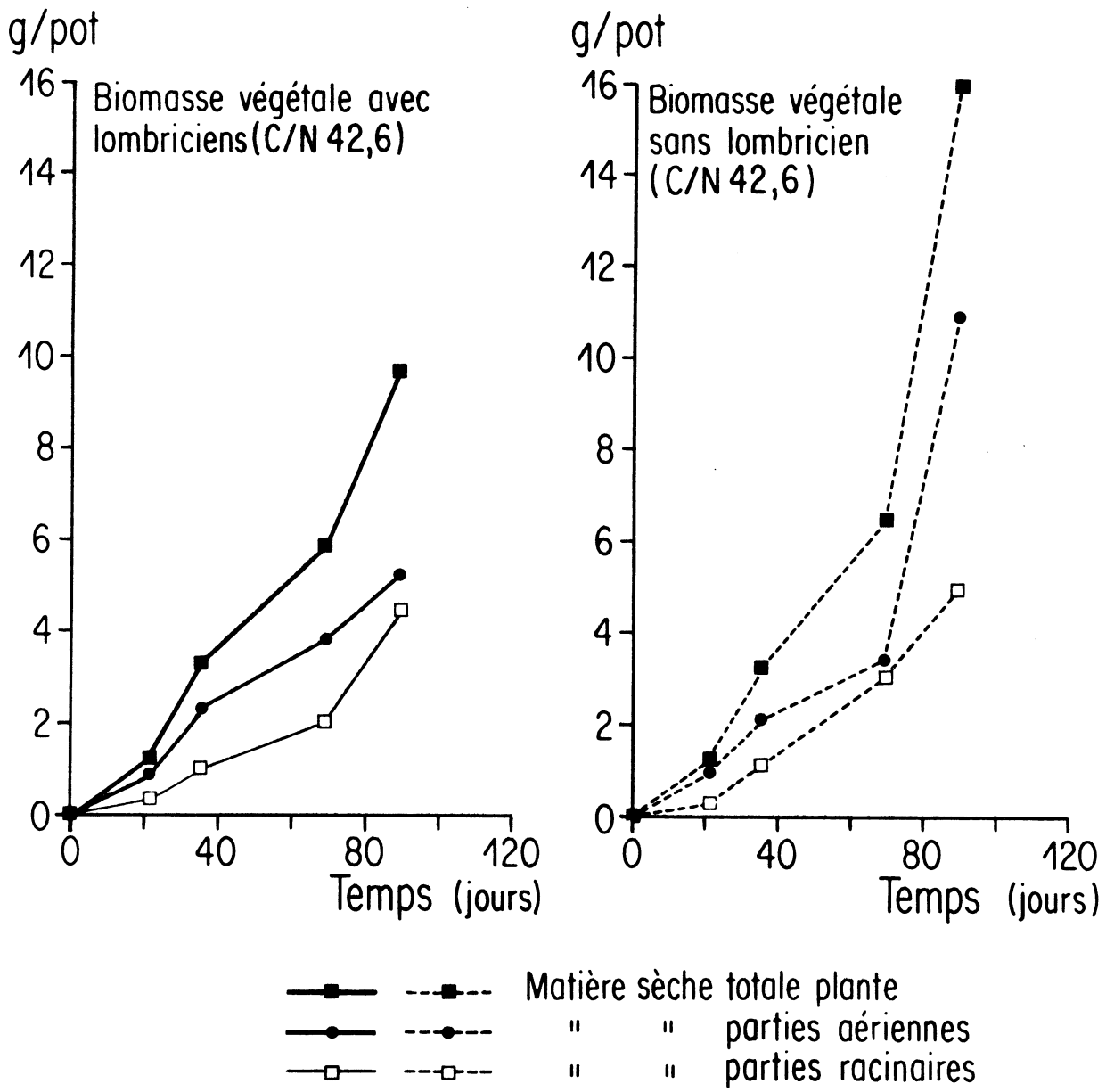

Figure 3.3: II. Production de la biomasse végétale en microcosmes, en présence et en absence de lombricien (litière à C/N 42,6).

	Temps (jours) (1)	masse sèche totale (2)	masse Pa (3)	masse Pr (4)	Pa/Pr (5)	N^t.Pa (6)	N^t.Pr (7)	N^t (Pa+Pr) (8)	E% Plante (Pa+Pr) (9)	*N-Pa (10)	*N-Pr (11)	*N Pa+Pr (12)	*N (Pa+Pr) $mg.g^{-1}$ ms (13)	N^t (Pa+Pr) $mg.g^{-1}$ ms (14)	°N (N^t-*N) (15)
S + V + P + *L	21	1200	855	345	2,48	45,44	10,92	56,36	0,22	0,95	0,34	1,29	1,08	46,97	55,07
	35	3260	2260	1000	2,26	65,72	15,75	81,47	0,29	1,76	0,68	2,44	0,75	24,99	79,07
	69	5830	3790	2040	1,86	72,20	20,56	92,76	0,65	4,42	1,78	6,20	1,06	15,91	86,56
	89	9610	5200	4410	1,18	65,21	30,65	95,86	1,17	5,56	5,99	11,55	1,20	9,98	84,30
S + P + *L	21	1190	935	255	3,67	47,31	8,56	55,87	0,16	0,72	0,20	0,92	0,77	46,95	54,95
	35	3170	2090	1080	1,94	60,69	16,25	76,94	0,32	1,83	0,73	2,56	0,81	24,77	74,38
	69	6400	3400	3000	1,13	38,28	22,05	60,33	0,80	2,97	2,04	5,01	0,78	9,43	55,32
	89	15800	10850	4950	2,19	105,46	38,31	143,77	0,65	6,32	3,36	9,68	0,61	9,10	134,09

Tableau 3.9: Evolution, en fonction du temps, de la biomasse végétale, de N^t et de *N au cours de la croissance des plantes en présence et en absence de lombricien (C/*N = 42,6).

Les colonnes 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 12 et 15 sont exprimées en mg/pot.

Pour expliquer ces observations, on peut émettre quatre hypothèses à savoir: (1) une assimilation d'ions NH_4^+ par les plantes qui réduirait la biomasse végétale, (2) une consommation des racines par les lombriciens, (3) une inhibition d'ordre physiologique sur la croissance végétale et (4) une séquestration des éléments biogènes dans la nécromasse et l'humus de synthèse microbiens. Nous examinerons chacune de ces hypothèses au paragraphe 3.2.3.

Il est certain que, dans le cadre de notre expérience, la présence du ver de terre semble avoir eu un effet plutôt négatif sur la croissance des plantes. Ces résultats peuvent peut-être s'expliquer par un excès voulu de la biomasse lombricienne par pot que nous avons à peu près quadruplé par rapport à ce qui existe dans la station d'origine. Cette "surpopulation" était souhaitée initialement pour une visualisation optimisée des mécanismes mis en jeu mais, en contrepartie, cela a apparemment masqué l'effet lombricien. Nous verrons pourtant que le lombricien, malgré cet effet globalement négatif, a permis une stimulation de l'azote assimilé par les plantes. En effet les teneurs en $N^t.g^{-1}$ ms de plante et en $*N.g^{-1}$ ms de plante sont toujours plus élevées en présence de vers de terre (Tableaux 3.10, p.70 et 3.11, p.71).

B. Origine de l'azote assimilé par les plantes

B.1. Litière à C/*N 9,5

La répartition du °N et du *N provenant respectivement du sol et de la litière est différente en présence ou en absence de lombricien (Tableaux 3.8, p.64 et 3.9, p.66). En effet la teneur globale des plantes en °N est toujours plus élevée avec ver de terre alors que les quantités de *N sont généralement voisines dans les deux cas. Après 113 jours de culture, *N assimilé par les plantes est similaire en présence ou non d'animaux (18,2% et 19,8% de *N apporté) (Tableau 3.12; p.73). Ce résultat est dû à la différence de biomasse végétale qui, comme nous l'avons vu, est toujours plus importante en absence de lombricien. Par contre, la concentration de $*N.g^{-1}$ de plante est augmentée par la présence des vers de terre.

Donc, dans le cas de litière à bas C/*N, le lombricien favorise l'assimilation de l'azote par la plante tout en limitant sa production végétale.

B.2. Litière à C/*N 42,6

*N total assimilé par les plantes (Tableau 3.12; p.73) est par contre, dans ce cas, plus important en présence de vers de terre (17,9% et 14,5% de *N apporté). Il en est de même pour les concentrations de N^t et de $*N.g^{-1}$ matière sèche de plante toujours plus élevée avec lombriciens.

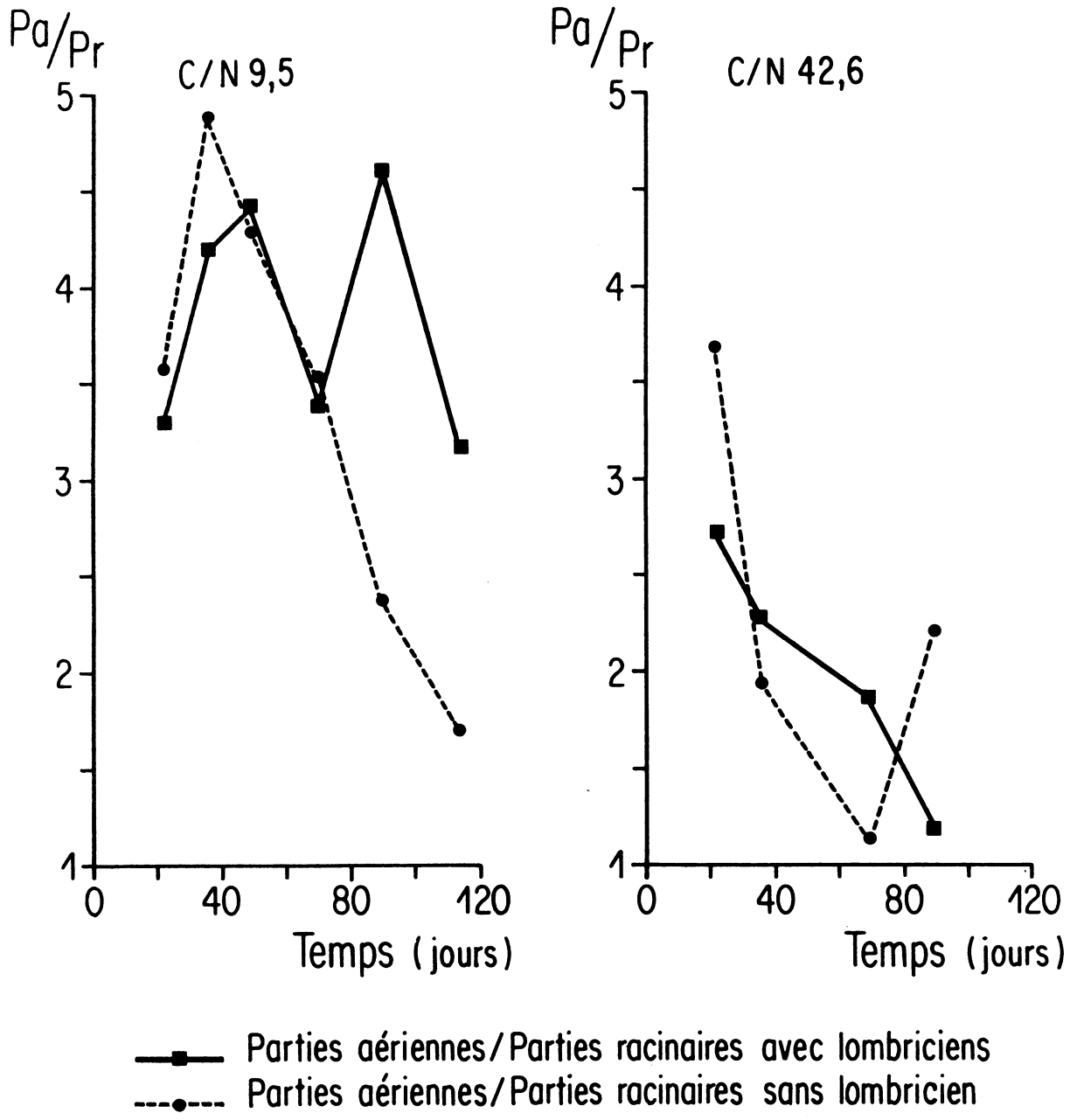

Figure 3.4: Dynamique du rapport P_a/P_r des plantes developpées en microcosmes, avec les deux types de litière, en présence et en absence de lombricien.

Quel que soit le C/*N de la litière, on note deux phénomènes classiques:

1) Une diminution de la concentration de l'azote (°N et *N) de la plante en fonction de l'âge de la végétation.

2) Les C/N des plantes sont toujours inférieurs en présence de lombriciens (Figure 3.5; p.75).

On remarque enfin que l'apport de litière de C/*N élevé permet l'obtention de plantes de C/N proches de ceux obtenus en système naturel (après 89 jours de culture en présence de litière à C/*N 42,6 on obtient un C/N des plantes de 36,6).

3.2.3. Discussion et conclusions sur les transferts en microcosmes

Rappelons que, dans cette première partie, nous avons fait une étude en laboratoire (1) des transferts de l'azote de la litière en présence ou non de lombricien et (2) de la répartition de cet élément dans chaque compartiment du modèle que nous avons défini à savoir: la biomasse microbienne, le lombricien, le sol et les plantes. Ces expériences ont été réalisées avec deux types de litière marquées au ^{15}N, l'une à C/*N 9,5 et l'autre à C/*N 42,6. Nous avons pu ainsi quantifier l'impact d'un lombricien (*Lumbricus terrestris* L.) et de la composition de la litière sur la nutrition azotée d'une plante perenne (*Lolium perenne* L.).

Nous avons jusqu'à maintenant présenté la méthode mise en oeuvre - la réalisation de microcosmes modélisant des situations tranchées - et les résultats en interprétant chaque processus de façon focalisée. Une assez grande diversité d' interprétations a dû être évoquée en raison de la complexité du modèle (cinq compartiments apparents: sol, parties aériennes et racinaires , lombricien et biomasse microbienne) et du nombre de variables suivies (parfois carbone, mais surtout formes variées de l'azote marqué et natif).

Incontestablement, les résultats globaux obtenus, notamment au cours de la croissance végétale, diffèrent sensiblement selon les modalités d'utilisation du modèle. On doit donc s'interroger sur la signification globale de ces différences et, simultanément, sur la validité des options expérimentales retenues dans ces modèles.

1) Au niveau des lombriciens

Pour accentuer les phénomènes, nous avons opté pour une biomasse de vers de terre très élevée (la surface terrière du microcosme est de 80 cm^2, donc la biomasse lombricienne utilisée dans les microcosmes est l'équivalent de 525 g mph.m^{-2} soit 5,25 fois la biomasse moyenne française admise ou encore 4,1 fois celle de la station d'origine; cf. 3.2.1.2).

	Temps (jours) (1)	N^t.Pa (2)	E% Pa (3)	^{15}N.Pa (4)	*N.Pa (5)	N^t.Pr (6)	E% Pr (7)	^{15}N.Pr (8)	*N.Pr (9)	^{15}N (Pa+Pr) (10)	*N (Pa+Pr) (11)
S+V+P+*L	21	54,28	2,21	1,20	11,70	38,37	2,11	0,81	7,86	1,10	10,87
	35	51,57	1,67	0,86	8,33	40,00	1,68	0,68	6,54	0,82	7,99
	49	47,52	2,07	0,99	9,57	32,85	1,99	0,66	6,40	0,92	8,95
	69	42,51	2,68	1,13	10,52	26,69	2,79	0,73	7,08	1,03	9,63
	89	40,38	2,65	1,07	10,41	28,95	2,71	0,79	7,62	1,02	9,93
	113	31,59	3,50	1,10	10,65	20,44	3,35	0,67	6,50	0,98	9,35
S+P+*L	21	55,25	1,83	1,02	9,53	39,41	1,58	0,62	6,02	0,93	8,81
	35	51,61	2,23	1,14	11,11	35,68	2,10	0,75	7,28	1,07	10,46
	49	38,72	2,69	1,04	9,98	29,06	2,60	0,75	7,28	0,98	9,13
	69	35,97	2,37	0,84	8,15	33,44	2,51	0,64	6,21	0,79	7,67
	89	24,40	3,41	0,83	8,05	14,67	3,00	0,43	4,17	0,70	6,61
	113	22,04	3,25	0,72	6,99	17,85	3,19	0,40	3,88	0,60	5,83

Tableau 3.10: Concentration, en fonction du temps, de N^t, ^{15}N et *N au cours de la croissance des plantes en présence et en absence de lombricien (C/*N = 9,5).

Les colonnes 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, et 11 sont exprimées en $mg.g^{-1}$ ms.

	Temps (jours) (1)	N^t.Pa (2)	E% Pa (3)	^{15}N.Pa (4)	*N.Pa (5)	N^t.Pr (6)	E% Pr (7)	^{15}N.Pr (8)	*N.Pr (9)	^{15}N Pa+Pr (10)	*N Pa+Pr (11)
S+V+P+*L	21	53,15	0,22	0,12	1,12	34,66	0,33	0,11	1,07	0,11	1,10
	35	29,08	0,28	0,08	0,78	15,75	0,43	0,07	0,68	0,08	0,75
	69	19,05	0,61	0,12	1,16	10,08	0,85	0,09	0,87	0,11	1,06
	89	12,54	0,90	0,11	1,07	6,95	2,00	0,14	1,36	0,12	1,20
S + P + *L	21	50,60	0,15	0,08	0,78	33,56	0,23	0,08	0,78	0,08	0,78
	35	29,04	0,30	0,09	0,87	15,05	0,45	0,07	0,68	0,08	0,81
	69	11,26	0,78	0,09	0,87	7,35	1,02	0,07	0,68	0,08	0,78
	89	9,72	0,66	0,06	0,58	5,72	1,17	0,07	0,68	0,06	0,61

Tableau 3.11: Concentration, en fonction du temps, de N^t, ^{15}N et *N au cours de la croissance des plantes en présence et en absence de lombricien (C/*N = 42,6).

Les colonnes 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10, et 11 sont exprimées en $mg.g^{-1}$ ms.

Au plan mécanique, on constate un enfouissement rapide de la litière dans tous les microcosmes. Ceci est tout à fait normal étant donnée la population importante de lombriciens utilisés dans ces expériences. Les quantités d'azote et de carbone enfouies par l'intermédiaire de la litière sont élevées (24,3 g $N.m^{-2}$ et 230,6 g $C.m^{-2}$ pour une durée de 113 jours d'expérience). S'il y a eu traction des litières dans le sol il n'y a pas eu nécessairement ingestion, comme en témoigne le rythme de marquage corporel des lombriciens. Celui-ci est régulier et donc normal dans le cas des litières à C/*N élevé, mais reste pratiquement nul pendant une période au moins égale à 21 jours (Tableau 3.7; p.61) dans le cas des litières à bas C/*N. Dans ce dernier cas, on observe trois paliers de marquage: un niveau quasi nul au début, un marquage modeste les 35 et 49èmes jours puis une accélération le 69ème jour pour atteindre une valeur relativement élevée du 89 au 113ème jour. Corrélativement, on observe un gain de poids chez les adultes sauf dans les microcosmes sacrifiés au 89ème jour où les animaux étaient au départ de grande taille, ce qui limitait les possibilités d'accroissement de leur biomasse.

2) Au niveau des plantes

Le résultat final des biomasses obtenues est à l'inverse de nos prévisions. Ainsi, la production végétale est réduite (1) en présence de lombriciens et (2) est d'autant plus faible que l'apport d'azote par la litière est important (Tableaux 3.8, p.64 et 3.9, p.66).

Au niveau physiologique apparent, plus la masse végétale est riche en azote plus la croissance a été modeste: Tout se passe comme si la teneur en azote des plantes était indicatrice d'une "inhibition" de la croissance.

Notons également qu'avec la concentration de N^t élevée (donc en situation de croissance végétale modeste) il y a enrichissement important en *N, donc transfert privilégié d'azote d'origine litière vers la plante.

Ce résultat est doublement paradoxal vis-à-vis (1) de la disponibilité en azote et de (2) l'effet lombricien, usuellement considérés comme stimulant la croissance végétale. En effet, quelle que soit la qualité de la litière apportée aux animaux, la biomasse végétale de *Lolium perenne* est toujours plus faible en présence de lombriciens. A l'inverse, de nombreux travaux constatent une stimulation de la croissance des plantes sous influence lombrico-microbienne (augmentation des rendements de différentes céréales telles que le blé d'hiver (Dreidax, 1931), l'orge (Edwards et Lofty, 1978), l'avoine (Aldag et Graff, 1975)) dans des types de sols très différents (Hopp et Slater, 1949; Temirov et Valiakhmedov, 1988).

Lié à ce double paradoxe, on constate d'ailleurs que si les lombriciens sont associés à une croissance faible voire nulle (Figures 3.3.I, p.63 et 3.3.II,

		avec lombriciens					sans lombricien				
		LB	BM	PL	*N sol	*N LR	BM	PL	*N sol	*N LR	
LITIERE C/*N = 9,5	% *N / *N apporté	16,1	5,2	18,2	35,2	25,3	2,3	19,8	20,4	57,5	113 jours
LITIERE C/*N=42,6		40,5	6,1	17,9	15,6	19,9	12,3	14,5	14,8	58,4	69 jours

Tableau 3.12: Répartition de *N (exprimé en % de *N apporté dans les microcosmes) en présence et en absence de lombricien.

Les calculs ont été effectués respectivement après 69 jours (litière C/*N = 42,6) et 113 jours d'expérience (litière C/*N = 9,5).
LB = Lombricien ; BM = Biomasse microbienne; Pl = Plante; LR = Litière restante; *N LR = *N obtenu par différence. Il correspond à *N de la litière encore en surface.

p.65), leur rôle favorise l'enrichissement en azote des plantes. Cet enrichissement peut provenir, d'une part, de la qualité de l'enfouissement et, d'autre part, d'une disponibilité accrue de °N ou/et de *N .

Dans les microcosmes à litière C/*N 9,5, la proportion de *N non retrouvé correspond à de la litière non enfouie et non dégradée. Elle représente 25,3% en présence de vers de terre et ce pourcentage atteint 57,5% de *N apporté en leur absence (Tableau 3.12; p.73).

La proportion de *N retrouvée dans les plantes est similaire en présence ou en absence de lombricien (18,2% et 19,8% de *N amené). Cependant, après le 49ème jour, la concentration de N^t (Tableau 3.8; p.64) et de $*N.g^{-1}$ ms de plante est très souvent supérieure avec vers de terre (Tableau 3.10; p.70), ce qui montre bien l'effet positif de *Lumbricus terrestris* sur l'assimilation de l'azote par les plantes. On observe d'ailleurs un C/*N des plantes inférieur en présence de lombriciens (Figure 3.5; p.75).

Dans les microcosmes ayant reçu une litière à haut C/*N, la proportion de *N retrouvé dans les plantes est, par contre, supérieure en présence de lombriciens. Elle atteint 17,9% de *N apporté avec vers de terre et seulement 14,5% en leur absence. Ces expériences montrent donc que, dans le cas d'une litière à haut C/*N, le bilan global de l'assimilation de l'azote d'origine litière est nettement en faveur de la présence des animaux.

Les concentrations de N^t et $*N.g^{-1}$ ms de plante, en présence ou en absence de lombricien, sont plus proches avec ce type de litière qu'avec celle à C/*N 9,5 (Tableau 3.9; p.66).

Nous constatons, par ailleurs, que *N non utilisé (encore non enfoui) représente 58,4% de *N apporté aux microcosmes sans lombricien et seulement 19,9% avec vers de terre. Cependant, en présence des animaux, la majeure partie de cet *N a été enfouie puisqu'il ne reste toujours que peu de litière en surface. Ces résultats sont en accord avec les travaux d'autres auteurs dont ceux de Abbott et Parker (1981) qui montrent que le travail des lombriciens est inversement proportionnel à la teneur en azote de leur nourriture.

Les conséquences de la fonction lombrico-microbienne sur la composition en N^t et en *N des végétaux sont compréhensibles. Mais il semble paradoxal que ,d'une part, l'association lombrico-microbienne et, d'autre part, l'abondance relative d'azote des plantes puissent apparemment freiner la croissance végétale.

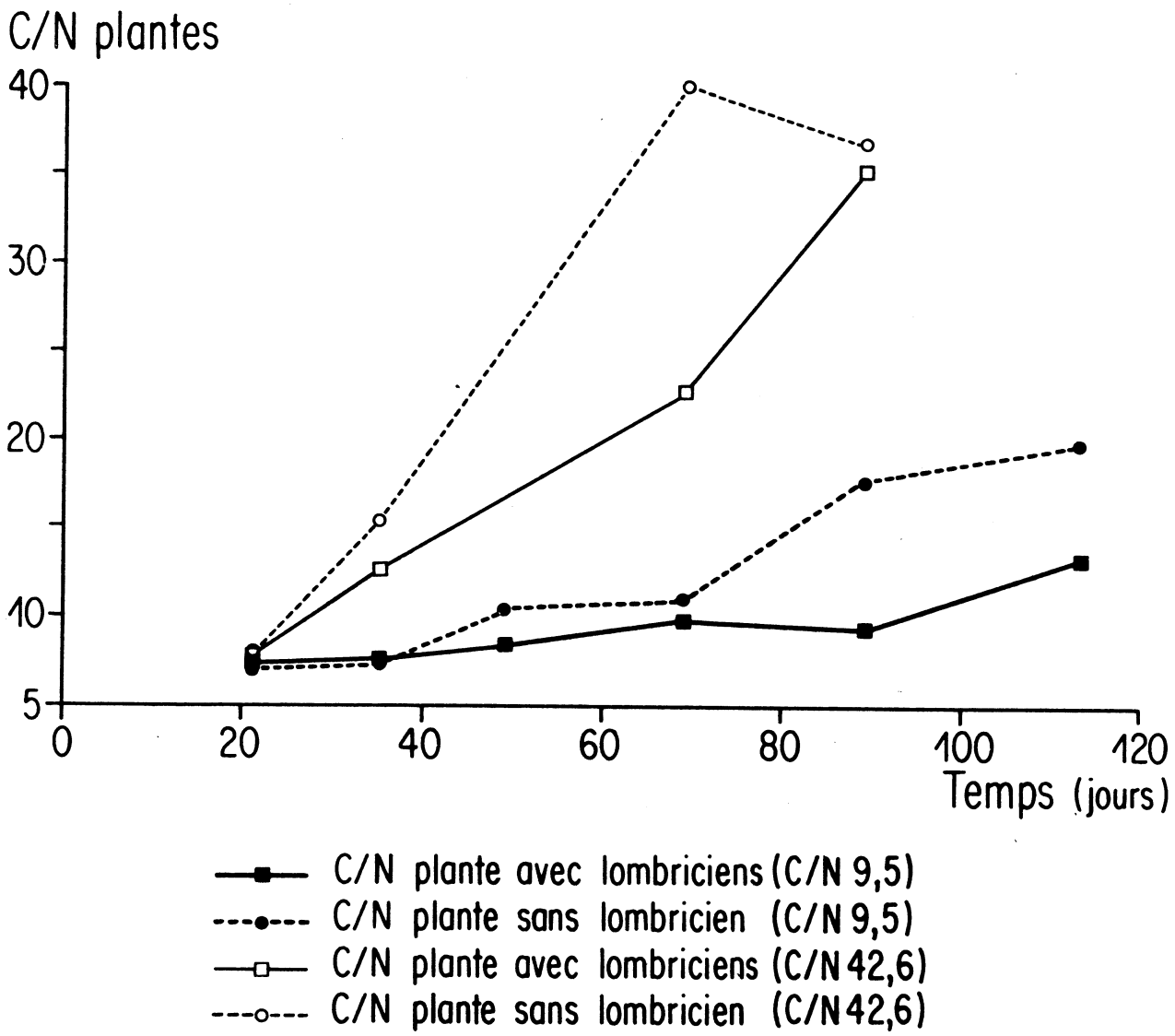

Figure 3.5: Dynamique du rapport C/N des plantes développées en microcosmes, avec les deux types de litière, en présence ou en absence de lombricien.

Quelles peuvent être les causes d'un tel phénomène?

Nous sommes conduits à évoquer quatre hypothèses. Deux d'entre elles (hypothèses 1 et 2) sont liées au rôle des lombriciens et les deux autres (hypothèses 3 et 4) découlent de la surabondance de l'azote assimilable.

1) Hypothèse 1

Le lombricien produirait une quantité importante d'ions NH_4^+ dont une partie pourrait être absorbée par les plantes préférentiellement aux NO_3^-, et ceci grâce à la température relativement basse à laquelle sont maintenues les racines (Clarkson et Wagner, 1979). La contrepartie de cette assimilation serait une moindre production végétale (Salzac et al., 1987).

2) Hypothèse 2

Le lombricien consommerait les jeunes racines très appétentes et la plante devrait réinvestir une partie de son carbone dans le renouvellement de ses tissus racinaires "broutés" en permanence par les animaux. Il en résulterait une moindre croissance végétale.

3) Hypothèse 3

Une surabondance d'azote induirait des troubles physiologiques au niveau du végétal. Rappelons que l'azote apporté graduellement, mais en permanence dans les microcosmes, correspond à un apport de 24,3 $g.m^{-2}$, ce qui correspond à une très forte fumure.

4) Hypothèse 4

L'enrichissement du sol en azote assimilable stimulerait l'activité microbienne qui séquestrerait, dans la nécromasse qu'elle produit, les autres éléments biogènes et créerait ainsi une carence relative nuisant à la croissance végétale.

Considérons tour à tour ces quatre hypothèses.

Hypothèse 1. Inhibition due à l'abondance de NH_4^+.

Clarkson et Wagner (1979) ont démontré que lorsque la température des racines de *Lolium perenne* L. et de *Lolium multiflorum* L. se situe aux alentours de 14°C dans un milieu contenant, à la fois, des ions NH_4^+ et NO_3^- comme seule source d'azote, l'absorption de NH_4^+ par les plantes est nettement favorisée. Salzac et al. (1987) indiquent d'autre part, que la nutrition ammoniacale évite aux plantes la dépense énergétique entraînée par la

réduction des nitrates (de l'ordre de 15 à 16 ATP.mole^{-1} NO_3^-) mais que les plantes alimentées en NH_4^+ ont généralement des productions de matière sèche plus faibles.

L'interprétation de ce phénomène fait appel à plusieurs hypothèses développées par Salzac et al. (1987) aux nombres desquelles, dans notre cas, nous soulignerons celle relative à la nécessité pour les plantes d'investir en acides organiques solubles dans les vacuoles, pour compenser l'absence de nitrates.

Dans notre expérience, la température des racines a été maintenue en permanence à 14°C pour que l'activité lombricienne soit optimale. Les plants de *Lolium perenne* ont donc certainement prélevé dans le milieu plus d'azote sous forme NH_4^+. Le tableau 3.2 (p.49) montre d'ailleurs une teneur en NH_4^+ du sol faible par rapport aux NO_3^-, mais il ne faut pas oublier que la nitrification fonctionne activement dans ces sols.

Les ions NH_4^+ provenant de la minéralisation de la litière mais surtout des excrétats lombriciens très riches en NH_4^+ (Needham, 1957; Lee, 1983), se trouvent donc dans des conditions tout à fait favorables à leur assimilation par les plantes. Cette absorption d'NH_4^+ aurait entraîné une moindre croissance de la biomasse végétale.

C'est dans les microcosmes ayant reçu de la litière à C/*N élevé et en présence de lombriciens que nous trouvons quelques arguments relatifs à cette hypothèse.

Le tableau 3.13 (p.79) montre que les enrichissements (E%) des différents compartiments du système étudié se classent dans l'ordre croissant: E% biomasse microbienne < E% plante < E% lombricien < E% litière (10,3%). Ainsi la plante n'a pas pu assimiler que du *N provenant de la minéralisation des litières par voie microbienne car elle n'aurait en aucun cas dépassé le E% de la microflore. Elle a donc absorbé de l'azote nécessairement plus enrichi en *N. On peut en déduire que la plante a nécessairement assimilé, en l'absence d'azote minéral dans la litière, directement une partie de $*NH_4^+$ émané par les lombriciens, ce qui aurait conduit à une limitation de la croissance végétale.

Remarquons toutefois que, si ce phénomène peut effectivement intervenir ici, dans l'autre type de microcosme à lombriciens il est inapparent. Par ailleurs, il ne peut pas expliquer la croissance végétale moyenne des microcosmes sans ver de terre et à litière C/*N 9,5.

Hypothèse 2. Consommation de jeunes racines par les lombriciens.

Nous avons vu que la biomasse racinaire est toujours plus faible en présence de lombriciens. Cette constatation apparaît nettement lorsqu'on étudie, en fonction du temps, la dynamique du rapport Parties aériennes/Parties racinaires (P_a/P_r) (Figure 3.4; p.68). Il est donc concevable que les vers de terre consomment une partie du système racinaire, notamment les apex terminaux probablement plus appétents en raison des exsudats racinaires. Pour renouveller en permanence les racines, la plante a besoin d'énergie et le carbone réinvesti constamment dans le système racinaire ne peut donc pas servir à augmenter la biomasse végétale.

C'est dans les microcosmes à lombriciens, en présence de litière à C/*N bas, que nous pouvons trouver des indications dans ce sens.

Le tableau 3.13 (p.79) montre, en fonction du temps, la dynamique des E% des différents compartiments de ces microcosmes.

On voit que le E% des lombriciens augmente au cours du temps et rejoint puis dépasse le E% de la plante après 69 jours. Or, à partir de 69 jours, on constate que la croissance racinaire, qui se poursuit nettement en absence de lombricien, s'annule pratiquement en leur présence (Figure 3.3.I; p.63) et, corrélativement, dans ce dernier cas, on observe une augmentation du rapport P_a/P_r (Figure 3.4; p.68).

D'autre part, l'enrichissement de la biomasse microbienne (E%-BM) n'atteint jamais celui des vers de terre. Cela indique que les lombriciens ont consommé un substrat dont la teneur en *N est supérieure à celles des microorganismes et des produits de dégradation microbiens. Ils ont donc ingéré et assimilé, soit des composés organiques issus de la litière, soit des racines. Etant donnée que la biomasse racinaire est plus faible en présence de lombriciens, cela conforte l'hypothèse de la consommation des racines par les animaux. Comme nous l'avons indiqué précédemment, ce phénomène a certainement été amplifié par le fait que, dans notre expérience, le rapport biomasse lombricienne/masse de sol est relativement élevé.

Cette hypothèse n'est pas vérifiable mais ne peut être écartée dans les microcosmes à lombriciens avec de la litière à C/*N élevé. Elle n'explique évidemment pas les différences observées en absence de ver de terre.

Hypothèse 3. Inhibition physiologique de la croissance végétale.

Cette hypothèse s'explique assez mal car on sait que les plantes ont l'aptitude à stocker une importante "consommation de luxe" d'azote notamment par accumulation des nitrates dans les vacuoles. On ne peut toutefois exclure un

COMPARTIMENT		21 (jours)	35 (jours)	49 (jours)	69 (jours)	89(jours)	113 (jours)	
avec lombricien	plante	2,16	1,68	2,03	2,74	2,68	3,42	C/*N = 9,5
	BM	0,69	1,23	1,17	1,50	1,87	1,45	
	VDT	0,13	1,36	1,28	2,60	3,73	3,82	
	NO^-_3	0,89	1,20	1,70	2,50	3,30	2,40	
sans lombricien	plante	1,71	2,16	2,64	2,43	3,20	3,22	
	BM	1,22	0,87	0,55	0,83	1,06	0,59	
	NO^-_3	0,86	1,60	0,80	0,30	1,48	/	
avec lombricien	plante	0,27	0,36	-------	0,73	1,45	--------	C/*N = 42,6
	BM	0,35	0,19	-------	0,27	0,51	--------	
	VDT	1,28	1,48	-------	2,20	*	--------	
	NO^-_3	0,18	0,59	-------	0,72	1,27	--------	
sans lombricien	plante	0,19	0,38	-------	0,90	0,92	--------	
	BM	0,30	0,39	-------	0,64	0,25	--------	
	NO^-_3	0,95	0,23	-------	0,00	0,27	--------	

Tableau 3.13: Evolution, en fonction du temps, de l'enrichissement en ^{15}N des différents compartiments, en présence ou en absence de lombricien (C/*N = 9,5 et 42,6).

* = Lombricien non retrouvé.

autre mécanisme lié de près ou de loin à un excès d'azote puisqu'il existe un lien étroit entre la réduction de la croissance des végétaux et l'abondance d'azote dans leurs tissus.

Le développement des plantes a aussi été influencé par la qualité de la litière apportée. En effet lorsque l'on compare les microcosmes sans ver de terre, en fonction des deux C/*N, on note que:

1) La quantité de racines est environ 2,5 fois plus importante avec la litière à C/*N 42,6. Ceci est normal car, du fait d'une plus faible disponibilité d'azote dans la litière, la plante développe un chevelu racinaire plus conséquent.

2) En présence de litière à C/*N 42,6, E% de la biomasse microbienne est plus faible que celui de la plante, mais du fait de l'accroissement du système racinaire, donc de l'activité microbienne dans la rhizosphère, la minéralisation est accrue et s'exerce à la fois sur la litière mais aussi sur la réserve organique du sol.

3) En présence de litière à C/*N 9,5, E% des plantes augmente constamment pendant 113 jours au cours desquels il est toujours supérieur à celui de la biomasse microbienne et des nitrates totaux. Ces résultats montrent que la plante a certainement assimilé directement une partie des $*NO_3^-$ relâchés par la litière.

4) Les C/N des plantes, qui se sont développées dans les microcosmes, sont toujours bas lorsque le C/*N des litières apportées est bas (Tableau 3.14; p.81) et, réciproquement, s'élève à des valeurs proches de celles des litières à C/*N 42,6.

Hypothèse 4. Séquestration d'un élément biogène limitant, par la microflore stimulée par l'abondance d'azote et les lombriciens.

Dans nos conditions expérimentales, les lombriciens ont eu un effet négatif sur le développement des plantes. Abbott et Parker (1981) ont observé le même phénomène sur *Lolium rigidum* L. mis en présence d' *Allolobophora trapezoides*. Ils émettent l'hypothèse que le lombricien aurait transformé l'azote organique relativement assimilable en formes moins disponibles pour les plantes. Nos résultats invalident cette hypothèse. Nous avons au contraire constaté, en début d'expérience, une accumulation d'azote minéral considérable en présence de lombriciens (cf. 3.2.2.1/A1) et particulièrement en litière riche (à bas C/*N).

On constate d'ailleurs que le paradoxe que nous cherchons à expliquer n'existe pas en début d'expérience. Le taux de croissance observé (Figures 3.3.I, p.63 et 3.3.II, p.65) indique qu'il est d'abord l'inverse de ce qu'il sera ensuite: les apports de litière riche en *N et l'activité lombricienne stimulent la croissance.

On remarque ensuite (cf. 3.2.2.1/A1) une accumulation massive de nitrates dans les sols des pots avec lombriciens (Figure 3.1.I; p.51),

	S+V+P+*L						S+P+*L						
Temps (jours)	21	35	49	69	89	113	21	35	49	69	89	113	C/*N de litière apportée = 9,5
C/N	7,36	7,57	8,37	9,79	9,27	13,18	7,08	7,33	10,42	10,87	17,56	19,71	

Temps (jours)	21	35	/	69	* 89		25	35	/	69	89		C/*N de litière apportée = 42,6
C/N	7,7	12,54	/	22,67	35,13		7,81	15,37	/	39,90	36,64		

* le lombricien de ce prélèvement n'a pas été retrouvé

Tableau 3.14: Evolution, en fonction du temps, du rapport C/N de la plante dans les microcosmes avec et sans lombricien pour les deux types de litière.

spectaculaire dans les microcosmes à litière riche (bas C/*N). Ces nitrates proviennent en partie de la litière mais aussi massivement du sol comme en témoigne leur enrichissement, certes plus élevé en présence de lombriciens mais bien moindre que celui du marquage initial de la litière. Si ces nitrates sont bien issus de la litière, une part non négligeable provient d'un mécanisme de stimulation lombrico-microbienne (excrétion et ammonification suivie de nitrification). Ce processus de production de nitrates n'est pas totalement compensé par une assimilation végétale ou microbienne de sorte qu'il y a accumulation jusqu'au 21ème jour (C/*N bas, sans lombricien) et 49ème jour (C/*N bas, avec lombriciens).

Nous avons constaté au paragraphe 3.2.2.1/A1 que, sans tenir compte de la nitrification continue pendant l'expérience et rien qu'en considérant les différences entre le maximum d'accumulation de nitrates et la fin d'expérience, la quantité de nitrates investis autrement que sous forme de biomasse lombricienne, microbienne et végétale représentait 88% de la différence pour N^t et 37,5% pour *N (C/*N bas) ou 29% de N^t (C/*N haut). Cet évènement souligne l'intense utilisation de l'azote minéral par les microorganismes produisant une importante nécromasse bloquant l'azote (Il n'est pas possible d'observer ce stockage organique par l'analyse du carbone car le stock humique est bien supérieur à cette néoformation, pourtant conséquente).

Remarquons que cette observation, fondée sur les changements d'état minore considérablement le phénomène. Le calcul "ignore" la nitrification qui, par son intensité antérieure aux périodes prises en compte, ne doit pourtant pas être mise en doute. On admet enfin que les lombriciens puisent leur azote en totalité des nitrates alors qu'ils exploitent surtout des sources organiques dont celle de la litière.

Malgré cette réserve, les quantités apparentes, en présence de lombriciens, sont de 436,7x88/100=384,3 mg/pot pour N^t et de 49,5x37,5/100, soit 18,6 mg/pot pour *N dans les microcosmes à bas C/*N. De même , avec le même type de litière et sans lombricien, les quantités de N^t/pot sont de 148,9x28,9/100 soit 43 mg.

Dans tous les cas, cette estimation très minorée de l'azote sous forme de nécromasse lombricienne est considérable par rapport aux apports d'azote effectués vers la litière (194,19 mg/pot). Or, associée à cette séquestration observée, il y a nécessairement une séquestration d'autres éléments biogènes constitutifs, tels le phosphore ou le soufre, qui peuvent expliquer l'inhibition croissante des végétaux en présence d'une quantité importante d'azote disponible. Remarquons que ce phénomène peut être perçu et vérifié grâce à l' accumulation de nitrates (jusqu'au 21ème ou 49ème jour selon le type de litière), puis à leur résorption. Nous interprétons ce phénomène par l'absence relative de source énergétique dans la phase précédant le maximum d'accumulation de nitrates. Par la suite, intervient un apport énergétique

important qui permet une résorption graduelle de cet excédent en nitrates. Ceci pourrait s'expliquer par la croissance du système racinaire qui libérerait dans le milieu des exsudats hautement énergétiques. L'activité microbienne confirme d'ailleurs ce processus en présence de litière à bas C/*N.

Le tableau 3.12 (p.73) montre que, en présence de vers de terre, la biomasse microbienne a concentré une proportion de *N plus importante (5,2% contre 2,3% de *N apporté). Ce résultat est tout à fait logique puisque les lombriciens, en introduisant de la litière dans le sol, activent la microflore.

Cette observation, nette dans les microcosmes à litière à bas C/*N, se vérifie-t-elle avec ceux à litière à haut C/*N?

Dans ces derniers microcosmes, en présence ou en absence de ver de terre, il existe une apparente accumulation de nitrates jusqu'au 21ème jour. Celle-ci est moderée et la diminution des nitrates est respectivement de 50,7 mg/pot et de 42,8 mg/pot avec et sans lombricien (21ème au 89ème jour). Cependant, durant la même période , les plantes n'ont assimilé que 39,5 mg/pot de N^t en présence de vers de terre et 87,9 mg/pot en leur absence.

Si les différences observées sont moins spectaculaires que précédemment, cette technique de calcul, qui ignore la nitrification entre les jours 21 et 89, montre que le processus observé auparavant intervient probablement encore dans les microcosmes avec lombriciens. D'ailleurs, ces derniers accélèreront le passage de l'azote de la litière aux plantes, comme en témoigne l'enrichissement des plantes nettement plus rapide en présence de lombriciens; cet enrichissement des végétaux ne pouvant provenir des microorganismes. La teneur en *N de la biomasse microbienne est généralement plus faible en présence de vers de terre. Après 69 jours d'expérience (rappellons que le ver de terre à 89 jours n'a pas été retrouvé dans le microcosme), elle représente en effet 6,1% de *N apporté contre 12,3% sans animal (Tableau 3.12; p.73).

En conclusion, les quatre hypothèses sont concurrentes. Une seule (h y pothèse 4) est attestée par des faits nets et cependant sous-estimés par nos moyens d'observation.

La séquestration des éléments biogènes limitants est un phénomène explicatif global applicable aux quatre types de microcosmes.

La compétition entre plantes et microorganismes est un mécanisme classique lors du déséquilibre induit par l'apport massif d'énergie organique dans le sol. Cet apport déclenche, en effet, une croissance microbienne telle que les plantes sont alors privées d'azote; L'exemple typique est la "faim" d'azote observée après une culture céréalière lors de l'enfouissement des pailles.

L'inhibition, ainsi induite par séquestration, est proportionnelle à l'excès des accumulations en nitrates et coïncide chronologiquement avec la résorption de cette accumulation.

Si l'ensemble de ces résultats confirment l'importance de ce phénomène, ils ne peuvent pas rejeter les trois autres mécanismes supposés; Une légère diminution de la biomasse racinaire au 89ème jour en présence de lombriciens et de litière à bas C/*N, attesterait même de la possibilité de consommation de racines vivantes par les lombriciens. Une recherche directe visant à vérifier la validité de ce dernier processus reste toutefois à conduire. Pour l'instant, le fait que les anéciques, et notamment *Lumbricus terrestris*, vivent en présence d'un feutrage racinaire qui tapisse leurs galeries, semblerait conduire au rejet de cette hypothèse...mais, là encore, n'y-a-t-il pas "broutage" compensé par une croissance? Dans le prolongement de la découverte de la "prime" offerte aux microorganismes de la rhizosphère sous forme d' exsudats racinaires ("Priming action", Jenkinson, 1966), ne peut-on pas penser qu'elle se double d'un processus analogue au profit des lombriciens?

Dans notre cas, nous avons induit un déséquilibre qui montre que ce phénomène a une valeur beaucoup plus générale: L'excès d'azote, amplifié par une activité lombricienne intense, a permis la séquestration dans la biomasse microbienne de certains éléments (phosphore, soufre...) nécessaires à la croissance végétale.

3.3. Biostimulation des plantes par les lombriciens

Le rôle biologique des lombriciens dans le sol n'est plus à démontrer. Ils entretiennent dans le sol une activité biologique intense grâce à leur co-action quasi symbiotique avec les microorganismes. La dégradation de la matière organique morte ou vivante qu'ils effectuent, est toujours accompagnée d'un travail physique des animaux (translocation et malaxage du sol) et d'une transformation biochimique aboutissant à des formes organiques transitoires émanées (mucus lombricien cutané). Le stade ultime de cette décomposition correspond à la minéralisation des composés carbonés et azotés respectivement en CO_2 et en NH_4^+ puis en NO_3^- ou NO_2^-.

D'un point de vue purement descriptif, nous connaissons depuis longtemps l'importance de la litière et des lombriciens dans la formation de l'humus (Muller, 1884, traduit en 1889), l'influence des lombriciens sur la modification de la structure du sol (Hensen, 1877; Darwin, 1881) et la co-action démontrée par Stöckli (1928) entre microorganismes et lombriciens.

L'introduction des vers de terre dans le sol modifie profondément le profil et les accumulations organiques (Langmaid, 1964; Syers et Springett, 1983; Lee, 1985) et permettent une quantification globale des effets positifs.

Nous avons essayé, dans ce travail au laboratoire, de préciser l'impact lombricien sur les divers compartiments du milieu (plantes, biomasse microbienne, sol) pour analyser les mécanismes.

Nous nous interesserons ici plus particulièrement à l'influence lombricienne sur la plante elle-même. **En d'autres termes, est-ce que l'introduction de vers de terre dans un sol sous culture depuis plusieurs mois peut améliorer la croissance des végétaux et en augmenter la production ?**

Dans la littérature, on cite souvent l'effet améliorant des lombriciens sur les cultures (Hopp et Slater, 1948; Waters, 1951; Maldague, 1979).

Nous nous attendions dans l'expérience précédente (cf. 3.2) , sur la foi de travaux antérieurs, à un net effet positif des lombriciens sur la biomasse végétale. Or nous venons de voir qu'il n'en a rien été. Nous avons décidé d'introduire des lombriciens dans la série des microcosmes préalablement sans ver de terre, avec litière à C/*N 9,5 pour vérifier si cette arrivée dans un système "mûr" déclenche un effet biostimulant sur les plantes ou au contraire ralentit leur croissance.

Dans l'expérience présente les microcosmes Sol+Plante+Litière contiennent des plants de *Lolium perenne* qui ont été cultivés pendant 113 jours et qui commencent à végéter. Il nous a paru intéressant de savoir si l'introduction de lombricien dans ce milieu donnerait un nouvel élan à la production végétale.

En parallèle, nous avons conservé la série des microcosmes antérieurs, à litière C/*N 9,5 ayant des lombriciens depuis le début de l'expérience et présentant jusque là une déficience relative de la croissance végétale.

En raison du fait que ces microcosmes étaient destinés initialement à une expérimentation visant à préciser l'origine des assimilats azotés des lombriciens dans une étude de cinétique comparée (cf. 3.4), nous avons dû modifier certaines dates d'analyses pour faire coïncider les deux études. Ainsi les dispositifs avec **introduction de vers de terre** ont été sacrifiés aux jours 0, 8, 16, 42, 65 et les microcosmes avec **maintien des vers de terre** aux jours 0, 2, 4, 8 ,16 et 42.

Nous qualifierons ultérieurement la série 1 de **"avec lombriciens introduits"** et la série 2 de **"avec lombriciens maintenus"**.

Dans le paragraphe 3.4 nous utiliserons les valeurs de ^{15}N corporel des lombriciens pour en calculer le débit d'émanation; les microcosmes avec "lombriciens maintenus" seront alors dénommés "Dispositif B".

3.3.1. Matériel et méthodes

3.3.1.1. Les microcosmes

Dans cette expérience, on a utilisé, d'une part, les huit bocaux restants contenant le sol et les plantes cultivées pendant 113 jours en présence de litière marquée au ^{15}N, de C/*N 9,5 (*S+*P+*L). Après 113 jours de culture, les plantes et le sol sont donc marqués au ^{15}N.

Le 113ème jour correspond au jour 0 de la nouvelle expérience et, de ce fait, les enrichissements du sol et des plantes après 113 jours sont considérés comme les enrichissements initiaux de ce dispositif.

Au jour 0, un lombricien (*Lumbricus terrestris* L.) a été introduit dans chacun des huit microcosmes qui en étaient dépourvus. Tous les dispositifs ont reçu, en outre, une litière **non marquée** de C/N=9,5 apportée au fur et à mesure du besoin des animaux. En effet, depuis 113 jours, les systèmes sont marqués au ^{15}N et il est ainsi possible de voir l'effet de dilution induit par l'apport de litière récente non marquée.

Les microcosmes ont été disposés en serre selon les mêmes modalités expérimentales que précédemment (cf. 3.2.1.4).

A chaque prélèvement ont été mesurés N^t et ^{15}N dans la plante, la biomasse microbienne, le ver de terre et, dans le sol, N minéral total et ^{15}N minéral.

Toutes les techniques d'analyse sont décrites dans le chapitre II.

3.3.2. Résultats

3.3.2.1. Dynamique de l'azote minéral dans le sol

Dans les microcosmes à **lombriciens introduits**, les quantités de NH_4^+ retrouvées dans le sol sont faibles et constantes jusqu'au 42ème jour (Tableau 3.15; p.87) pour atteindre, après 65 jours d'expérience 28 mg N-NH_4^+/pot, soit une valeur d'environ 5 à 6 fois supérieure à celle du temps 0.

Comme le montre le tableau 3.15 (p.87), la totalité des NO_3^- est utilisée par les plantes jusqu'au 42ème jour d'expérience. Seul, le 65ème jour présente une teneur en NO_3^- non négligeable. Ces NO_3^- peuvent avoir deux origines différentes. L'une est la nitrification bactérienne, l'autre concerne l'apport direct des NO_3^- par la litière (cf. 3.2.2.1/A1). Or, jusqu'au 42ème jour, les quantités de NO_3^- subsistant dans le sol sont nulles.

Temps (jours)	NH_4^+ mg/pot	E% NH_4^+	$^{15}N.NH_4^+$ mg/pot	NO_3^- mg/pot	E% NO_3^-	$^{15}N.NO_3^-$ mg/pot	N^t $NH_4^+ + NO_3^-$ mg/pot	^{15}N $NH_4^+ + NO_3^-$ mg/pot	$^{15}N.BM$ mg/pot	$N^t.Ver$ $mg.g^{-1}ms$	E% *Ver	$^{15}N\ Ver$ $mg.g^{-1}ms$
0	4,61	1,09	0,05	0,00	0,00	0,00	4,61	0,05	0,45	54,81	0,00	0,00
8	1,58	0,23	0,004	0,00	0,00	0,00	1,58	0,004	0,78	"	0,67	0,37
16	2,10	0,35	0,01	0,00	0,00	0,00	2,10	0,01	0,86	"	0,65	0,36
42	0,00	0,00	0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,67	"	0,63	0,34
65	28,15	0,32	0,09	14,15	0,38	0,05	42,30	0,14	0,58	"	0,43	0,24

Tableau 3.15: Evolution, en fonction du temps, de l'azote minéral du sol, de la biomasse microbienne et du lombricien (lombricien introduit: dispositif *S+V+*P+L).

Après 178 jours de culture (113+65), les plantes amorçaient leur épiaison et on constate une diminution de leur azote total (Tableau 3.16; p.89). En conséquence, l'accumulation de NO_3^- et de NH_4^+ résulterait d'une non-assimilation végétale (Figure 3.6; p.90).

Normalement, toutefois, NH_4^+ aurait dû se nitrifier comme nous l'avons déjà observé au paragraphe 3.2.2.1/A1.

L'excès de NH_4^+ dans le sol peut être dû à une activité métabolique des lombriciens plus intense mais, *a priori*, on ne peut expliquer les raisons pour lesquelles cette activité a quintuplé entre les deux derniers prélèvements. En conséquence, l'activité des bactéries nitrifiantes serait ralentie. Ceci est plausible puisque, malgré la présence de NO_3^- au 65ème jour, les 2/3 de l'azote minéral sont encore sous forme NH_4^+.

Dans les microcosmes à **lombriciens maintenus**, au cours des 42 jours d'observation, on ne retrouve pas ce phénomène et les quantités d'azote minéral restent faibles.

3.3.2.2. Activité lombrico-microbienne

- Lombriciens introduits

Le tableau 3.15 (p.87) montre les variations de l'enrichissement, donc de la teneur en ^{15}N, des tissus **lombriciens introduits**.

On observe une augmentation rapide du E% en début d'expérience pour atteindre une valeur quasi constante entre les jours 8 et 42 et decroître jusqu'au 65ème jour.

Cette brusque augmentation correspond à la dégradation de la litière marquée au ^{15}N apportée aux microcosmes pendant 113 jours. En effet, cette litière, insuffisamment dégradée par la seule microflore de surface, a été ingérée dès l'introduction des animaux et en partie assimilée par les lombriciens. Cette augmentation du ^{15}N corporel peut également provenir de la consommation de matière organique marquée au ^{15}N et préexistant dans le sol.

On observe, entre les jours 42 et 65, une diminution d'environ 30% du ^{15}N incorporé par les animaux. Ce phénomène s'explique par la minéralisation et l'assimilation d'une partie de la litière non marquée apportée au cours de cette expérience.

Le tableau 3.15 (p.87) montre aussi que la dynamique du ^{15}N de la biomasse microbienne suit celle des lombriciens, ce qui confirme une fois de plus l'association quasi-symbiotique entre la biomasse microbienne et les vers de terre.

Temps (jours) (1)	masse totale de plante (2)	masse Pa (3)	masse Pr (4)	Pa/Pr (5)	C^t.Pa (6)	N^t.Pa (7)	E% Pa (8)	^{15}N.Pa (9)	C^t.Pr (10)	N^t.Pr (11)	E% Pr (12)	^{15}N Pr (13)	N^t (Pa+Pr) (14)	^{15}N (Pa+Pr) (15)	C/N plante (16)	*N (Pa+Pr) (17)
0	6618	4160	2458	1,70	392,50	22,04	3,25	0,72	324,30	12,85	3,19	0,40	18,58	0,60	19,71	38,55
8	6685	3985	2700	1,48	377,90	21,78	3,11	0,68	364,10	20,11	3,08	0,62	21,11	0,65	17,60	42,62
16	6340	4460	1880	2,46	378,70	26,16	3,03	0,77	344,45	16,48	2,92	0,48	23,30	0,68	15,82	41,93
42	6733	4670	2073	2,60	397,40	29,59	2,08	0,62	366,90	19,03	2,03	0,39	26,35	0,55	14,73	35,00
65	15520	8550	6970	1,23	385,10	22,25	1,51	0,32	322,20	9,15	1,80	0,16	16,37	0,25	21,81	35,88

Tableau 3.16: Biostimulation des plantes par les lombriciens - Evolution de l'azote des plantes mises en présence de lombriciens. Expérience conduite au laboratoire.

Les colonnes 2, 3, 4 et 17 sont exprimées en mg/pot.
Les colonnes 6, 7, 9, 10, 11, 14 et 15 sont exprimées en $mg.g^{-1}$ ms.

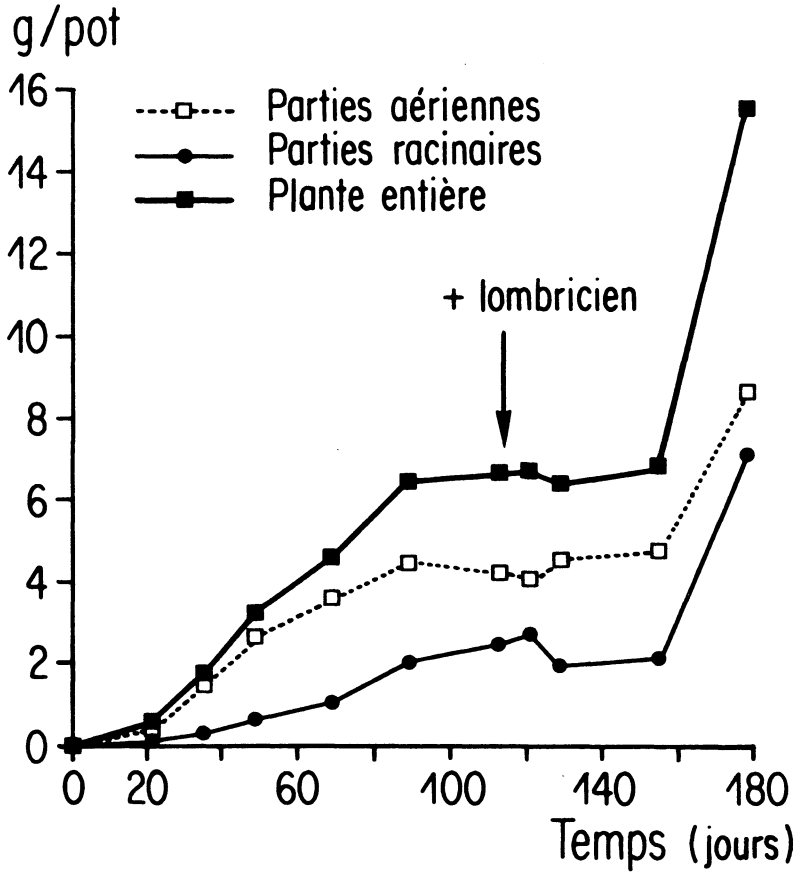

Figure 3.6: Dynamique de la biomasse végétale avant et après introduction des lombriciens (expérience réalisée en microcosmes (1) jusqu'à 113 jours en présence de litière marquée de C/*N 9,5 et (2) à partir de 113 jours en présence de litière non marquée de C/N 9,5).

		Temps (jours)	N^t mg.g^{-1}ms	E%	^{15}N mg.g^{-1}ms	*N.mg mg.g^{-1}ms	^{14}N.mg mg.g^{-1}ms	$\frac{^{15}N}{^{15}N_{oJ}}$ %	$\frac{*N}{N^t}$ %	$\frac{^{14}N}{N^t}$ %	mg.N.ver en début d'exp.	mg.N.ver en fin d'exp.	masse fraîche (mph) en g.	masse sèche (mps) en g.
A	S + *V + L	0	54,81	5,10	2,79	54,73	0,08	100	99,85	0,15	67,55	/	5,83	1,47
		2	"	4,28	2,35	45,99	9,82	84,22	83,91	16,09	86,54	86,16	"	"
		4	"	3,55	1,94	38,05	16,76	69,53	69,42	30,58	59,19	66,16	"	"
		8	"	3,03	1,66	32,56	22,25	59,50	59,40	40,60	70,49	79,31	"	"
		16	"	2,36	1,29	25,30	29,51	46,23	46,20	53,80	60,67	57,22	"	"
		42	"	1,01	0,55	10,79	44,02	19,71	19,69	80,31	95,81	112,91	"	"
B	*S + *V + *P + L	0	54,81	5,10	2,79	54,73	0,08	100	99,85	0,15	67,55	/	5,83	1,47
		2	"	4,08	2,24	21,69	33,12	80,29	39,57	60,43	52,40	82,16	"	"
		4	"	3,39	1,86	18,05	36,76	66,66	32,93	67,07	68,24	112,36	"	"
		8	"	2,91	1,60	15,52	39,29	57,35	28,32	71,63	53,77	60,24	"	"
		16	"	/	/	/	/	/	/	/	/	/	"	"
		42	"	2,65	1,45	14,08	40,71	51,97	25,69	74,31	57,22	67,42	"	"

Tableau 3.17: Emanation azotée. Résultats bruts des états de la biomasse lombricienne (masse fraîche, tube digestif plein). Expérience conduite au laboratoire.

- Lombriciens maintenus

Les **lombriciens maintenus** étant alimentés dans un milieu marqué par de la litière non marquée, présentent un enrichissement en ^{15}N décroissant (Tableau 3.17; p.92), qui sera discuté aux paragraphes 3.4.4.1 et 3.4.4.2; Comme précédemment, la biomasse microbienne suit cette diminution, hormis une exception (Tableau 3.18; p.95).

3.3.2.3. Dynamique de l'azote dans les plantes

- Lombriciens introduits

Après 113 jours de culture en présence de litière marquée au ^{15}N, nous avons vu que les plantes ont assimilé une certaine quantité de ^{15}N provenant de la dégradation microbienne de ces litières. Elles ont donc acquis un certain enrichissement isotopique, d'ailleurs très proche dans les parties aériennes et racinaires ($E\%-P_a = 3,25$; $E\%-P_r = 3,19$; Tableau 3.16; p.89).

Pour mieux comprendre l'effet lombricien sur la plante, on a introduit un ver de terre que l'on a alimenté pendant 65 jours avec de la litière non marquée de même C/N que la précédente.

Si le E% de la plante diminue cela signifie qu'elle a assimilé de l'azote non marqué issu de la litière et a, de ce fait, dilué son rapport isotopique.

La seule activité microbienne peut minéraliser l'azote de la litière mais, comme nous l'avons vu au chapitre précédent, la présence du ver de terre accélère notablement ce phénomène. Il devrait s'en suivre une dilution isotopique relativement rapide dans les plantes.

Pour étudier cette biostimulation des plantes par les lombriciens, nous avons suivi le compartiment plante à deux niveaux à savoir au niveau (1) de l'évolution de la biomasse végétale et (2) de la teneur en azote des plantes et de leur enrichissement en ^{15}N.

1) Biomasse végétale

Sans lombricien, la biomasse des plantes semblait avoir atteint son maximum après 113 jours de culture (6,6 g ms/pot). Or, après l'introduction des animaux, on observe une légère reprise de la biomasse des parties aériennes jusqu'au 155ème jour (42ème jour de l'expérience) suivie d'une augmentation pondérale très rapide de la totalité des plantes jusqu'au 178ème jour (65ème jour de l'expérience).

Ce phénomène apparait aussi au niveau des rapports parties aériennes/parties racinaires (P_a/P_r) qui augmentent rapidement après

introduction des vers de terre pour redécroître en fin d'expérience (Figure 3.7; p.94).

- Lombriciens maintenus

Dans ce type de microcosmes, on observe une dynamique comparable mais exacerbée. En effet, pendant la période des 113 jours, la croissance végétale a été des plus médiocre; cet effet s'est prolongé jusqu'au 121ème jour (8ème jour de la présente expérience; Tableau 3.19; p.96) puis un brutal redémarrage de la végétation est intervenu compensant, et au delà, les retards antérieurs.

2) Azote des plantes et enrichissement

- Lombriciens introduits

Dans le chapitre III (cf. 3.2.2.4), nous avons vu que la présence de lombriciens entraînait une augmentation notable de la concentration de $N^t.g^{-1}$ plante. Nous devrions donc observer ce phénomène après introduction des vers de terre dans les microcosmes.

La figure 3.8.(I) (p.98) montre que, dès l'introduction des lombriciens, la proportion de $N^t.g^{-1}$ ms des parties aériennes et racinaires augmente effectivement. Cette observation est d'ailleurs confirmée par la dynamique des C/N des végétaux qui reflète bien les changements de leur teneur en azote (Figure 3.9; p.99).

D'autre part, on voit sur la figure 3.8.(II) (p.98), immédiatement après l'introduction des animaux, une augmentation de la concentration en $^{15}N.g^{-1}$ ms des plantes. L'explication en est simple.

Les lombriciens ont ingéré et relâché dans le sol de la litière ou de la matière organique marquée subsistant de l'expérience précédente. Cette matière organique marquée a été rapidement minéralisée et l'azote marqué libéré a été assimilé par les plantes en même temps que l'azote non marqué des litières fraîches. Par la suite, la teneur en $^{15}N.g^{-1}$ ms decroît dans les plantes puisque la biodégradation des molécules marquées est de plus en plus difficile. Les végétaux assimilent plutôt de l'azote non marqué issu des litières, ce qui entraîne une diminution de leurs rapports isotopiques (Tableau 3.16; p.89).

- Lombriciens maintenus

Dans ces microcosmes, l'enrichissement des parties aériennes et racinaires décroît régulièrement mais faiblement pendant 42 jours (Tableau 3.19; p.96), du fait de l'apport de litière non marquée. S'il y a toujours

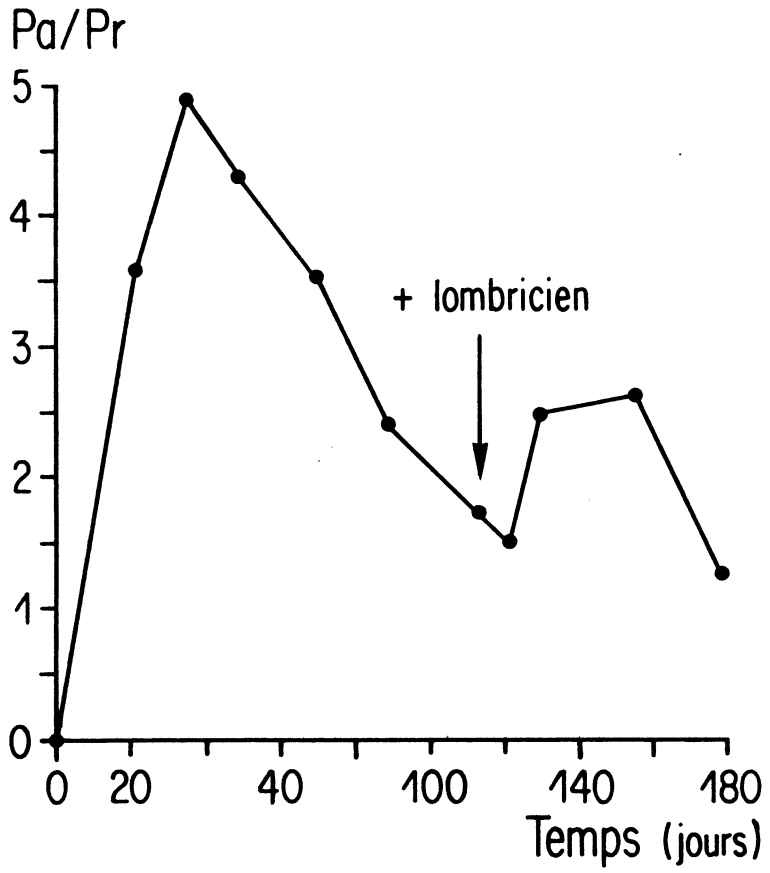

Figure 3.7: Dynamique du rapport P_a/P_r des plantes avant et après introduction des lombriciens (expérience réalisée en microcosmes (1) jusqu'à 113 jours en présence de litière marquée de C/*N 9,5 et (2) à partir de 113 jours en présence de litière non marquée de C/N 9,5).

	S+*V+L (dispositif A)							*S+*V+*P+L (dispositif B)						
Temps (jours) (1)	C^t.BM (2)	N^t.BM (3)	E% N.BM (4)	^{15}N.BM (5)	**N.BM (6)	$\frac{\%^{**}N}{N^t}$ (7)	C/N BM (8)	C^t.BM (9)	N^t.BM (10)	E% N.BM (11)	^{15}N.BM (12)	*N.BM (13)	$\frac{\%^{*}N}{N^t}$ (14)	C/N BM (15)
0	nd	nd	0,00	0,00	0,00	0,00	nd	557,42	71,86	1,45	1,04	10,13	14,12	7,76
2	415,87	97,34	0,16	0,160	3,14	3,22	4,27	524,02	83,10	1,16	0,96	9,30	11,19	6,31
4	425,02	86,40	0,04	0,029	0,58	0,67	4,20	316,66	83,60	1,20	1,00	9,71	11,61	3,79
8	714,02	106,90	0,10	0,108	2,10	1,96	6,68	623,09	93,10	1,01	0,94	9,15	9,83	6,69
16	696,96	92,95	0,10	0,094	1,87	2,01	7,50	627,84	92,50	0,34	0,32	3,10	3,35	6,69
42	684,94	108,50	0,12	0,130	2,55	2,35	6,31	759,38	111,50	0,95	1,06	10,27	9,21	6,81

Tableau 3.18: **Evolution, en fonction du temps, du carbone et de l'azote de la biomasse microbienne (dispositifs avec et sans plante).**

Les colonnes 2,3,5,6,8,9,10,12 et 13 sont exprimées en mg/pot.
Le calcul de **N (dispositif A) a été effectué d'après la source d'azote initiale à savoir le **lombricien de E%=5,01%**.
Le calcul de *N (dispositif B) a été effectué d'après la source d'azote initiale à savoir la **litière de E%=10,3%**
nd = non déterminé

Temps (jours) (1)	masse totale de plante (2)	masse Pa (3)	masse Pr (4)	Pa/Pr (5)	N^t Pa (6)	E% N Pa (7)	N^t Pr (8)	E% N Pr (9)	N^t Pa+Pr (10)	E% Pa+Pr (11)	*N.Pa (12)	*N.Pa (13)	^{15}N. Pa (14)	^{15}N.Pa (15)	*N.Pr (16)	*N.Pr (17)	^{15}N.Pr (18)	^{15}N.Pr (19)	^{15}N Pa+Pr (20)	N^t Pa+Pr (21)	C^t Pa+Pr (22)	C/N (23)
0	3755	2730	1030	3,16	86,24	3,502	21,05	3,350	107,29	3,43	10,63	29,02	1,09	2,99	5,91	6,09	0,67	0,69	3,68	27,93	376,50	13,5
2	6140	4040	2100	1,92	98,82	4,021	30,49	3,509	129,31	3,89	9,51	38,41	0,98	3,96	4,95	10,39	0,51	1,07	5,03	21,06	370,30	17,6
4	2990	2210	780	2,83	93,35	3,728	16,85	3,276	110,20	3,65	15,23	33,66	1,57	3,47	6,89	5,37	0,71	0,55	4,02	36,85	351,40	9,5
8	6410	4790	1620	2,96	162,29	3,363	43,69	3,255	205,98	3,34	11,06	52,98	1,14	5,46	8,54	13,88	0,88	1,43	6,89	32,13	366,30	11,4
16	11995	8575	3420	2,51	187,85	2,936	38,51	2,892	226,36	3,01	6,21	53,25	0,64	5,49	3,20	10,95	0,33	1,33	6,82	18,87	388,80	20,6
42	19740	10550	9190	1,15	177,35	2,820	76,00	2,773	253,35	2,79	4,56	48,11	0,47	4,96	2,23	20,50	0,23	2,11	7,07	12,83	353,60	27,6

Tableau 3.19: Evolution, en fonction du temps, de N^t, *N et ^{15}N dans la plante en présence de lombriciens nourris avec de la litière non marquée (dispositif *S+*V+*P+L).

Les colonnes 2, 3, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 19 et 20 sont exprimées en mg/pot.
Les colonnes 12, 14, 16, 18, 21 et 22 sont exprimées en $mg.g^{-1}$ ms.

accroissement du ^{15}N végétal antérieurement introduit dans le microcosme, la croissance très rapide des plantes entraîne une assimilation d'azote importante et, à partir du 8ème jour, une augmentation de C/N (de 11,4 à 27,6).

3.3.3. Conclusion sur la biostimulation

On confirme l'effet positif de l'apport de lombricien sur la végétation. On montre en effet une biostimulation (1) de la biomasse végétale et (2) de l'assimilation de l'azote par les plantes en présence de **lombriciens introduits**.

Dans l'expérience antérieure sans ver de terre, les plantes avaient déjà stabilisé leur production du fait probablement d'un manque d'azote disponible. L'introduction de lombricien a permis une minéralisation accrue de la litière et une libération d'azote facilement assimilable par les plantes. Dans ces conditions, l'effet biostimulant des lombriciens apparaît nettement.

Ces résultats sont en contradiction apparente avec ceux exposés précédemment (cf. 3.2.2) qui montraient que la présence de lombriciens entraînait une régression de la biomasse végétale dans des microcosmes où les plantes et les animaux avaient vécu conjointement pendant 113 jours.

Les microcosmes à **lombriciens maintenus** nous montrent, qu'après une longue stagnation, la croissance végétale est fort stimulée et compense, et au delà, le retard initial. On constate que l'azote minéral du sol est assimilé activement par les plantes qui conservent un enrichissement élevé et à peine decroîssant malgré l'apport d'azote non marqué de la litière.

Cette intense assimilation de ^{15}N ne peut provenir, en absence d'un stock d'azote minéral, que de la minéralisation de l'azote organique présent avant le jour 0 de la présente expérimentation (113ème jour depuis le début).

Ces observations seraient un indice du débloquage des éléments biogènes séquestrés (cf. 3.2.3 ; hypothèse 4), du fait de la croissance végétale et de la libération d'azote associé à ces éléments biogènes dans la nécromasse microbienne (cf. 3.2.2.1/A1).

Précisons que l'étude du sol, depuis l'origine des microcosmes, a montré une structuration rapide du sol, de sorte qu' après la première phase expérimentale (113ème jour), ces dispositifs ne contiennent pratiquement plus que des ex-fèces de lombriciens agrégés en grumeaux caractéristiques. Nous savons que, dans la nature, les lombriciens récupèrent leur propres fèces après une certaine période de maturation dans le sol (Bouché et al., 1983; Cortez et al., 1989). Nous savons aussi que les fèces récemment déposés sont toxiques pour les vers de terre (Kaplan et al., 1980), mais nous ignorons le temps réel de maturation microbienne nécessaire entre le dépot de fèces et leur ingestion sous forme de grumeaux. Nous pouvons donc déduire que, dans nos conditions

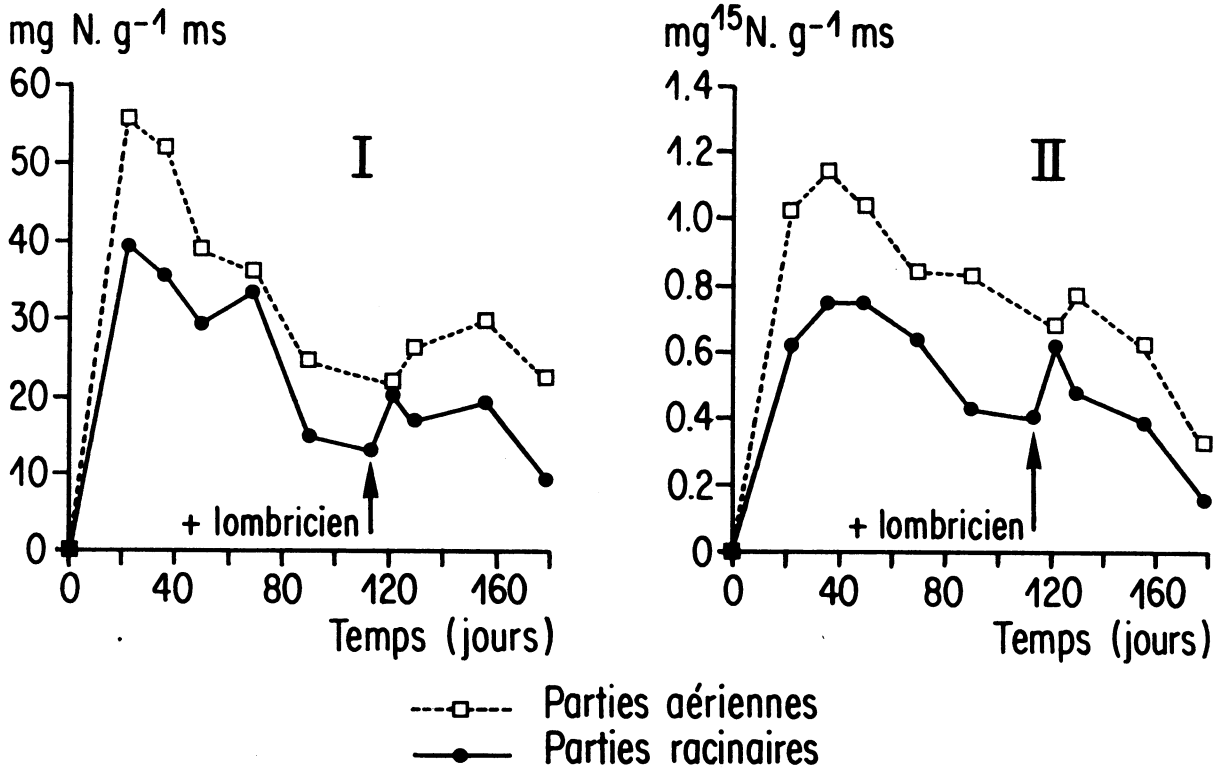

Figure 3.8: Variation de la concentration en azote total (I) et en azote 15 (II) des plantes avant et après introduction des lombriciens (expérience réalisée en microcosmes (1) jusqu'à 113 jours en présence de litière marquée de C/*N 9,5) et (2) à partir de 113 jours en présence de litière non marquée de C/N 9,5).

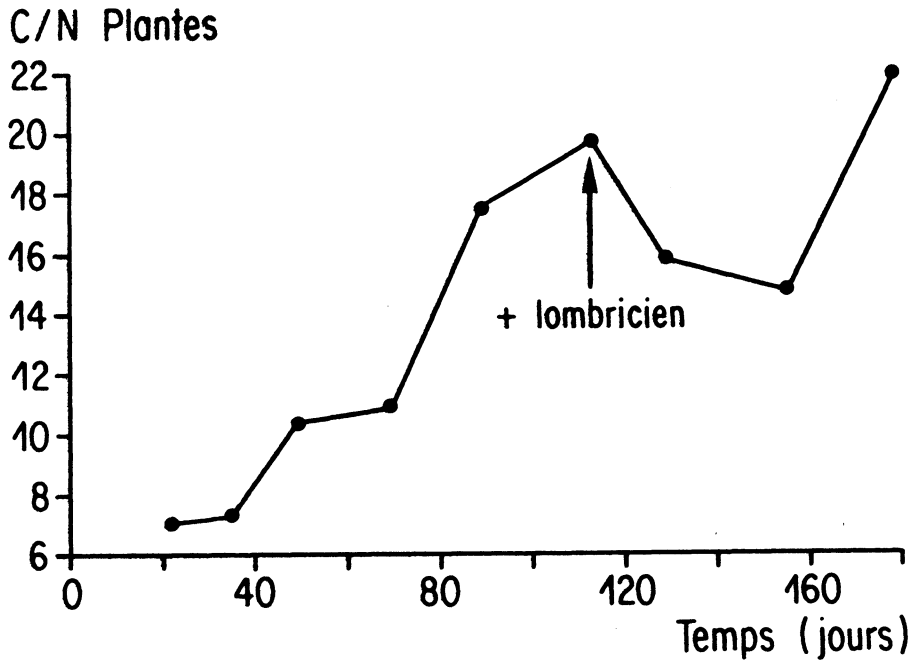

Figure 3.9: Dynamique du rapport C/N des plantes avant et après introduction des lombriciens (expérience réalisée en microcosmes (1) jusqu'à 113 jours en présence de litière marquée de C/*N 9,5) et (2) à partir de 113 jours en présence de litière non marquée de C/N 9,5).

expérimentales, la réingestion est patente au 16ème jour de la seconde expérience soit au maximum au 129ème jour (113+16) du début des observations.

3.4. Etude du renouvellement de l'azote par les lombriciens

3.4.1. Introduction

Rappelons qu'au paragraphe 3.2.2, nous avons étudié les changements des proportions de *N et de °N dans les divers compartiments des microcosmes en présence ou en absence de lombricien.

Nous allons présenter maintenant un autre aspect de ces recherches de laboratoire concernant l'estimation des débits d'entrée et de sortie des compartiments.

Il s'agit, non plus d'observer les **changements d'états** des compartiments (Figure 3.10.A; p.101), mais d'estimer des **débits** (dq/dt) définis comme les quantités de matière qui, en fonction du temps, entrent ou/et sortent de ces compartiments (Figure 3.10.B; p.101).

L'estimation de ces débits est primordiale pour la compréhension des mécanismes du cycle de l'azote dans le sol.

Ferrière (1986), en extrapolant des mesures effectuées directement au terrain, a estimé le débit d'un peuplement lombricien à 631 kg $N.ha^{-1}.an^{-1}$. Mais cette estimation a été réalisée à partir de mesures sur une seule espèce (*Nicodrilus longus longus,* Ude) pendant 40 jours. Rappelons que nous nous sommes proposé d'estimer ce débit sur une autre espèce (*Lumbricus terrestris* L.), tant au laboratoire qu'au terrain.

Les résultats que nous présentons dans ce chapitre ont été obtenus en microcosmes.

Dans une première série de cinq microcosmes, les lombriciens marqués au ^{15}N sont disposés dans un sol non marqué et alimentés par de la litière non marquée déposée en surface. Dans ces conditions (dispositif A; S+*V+L), ils ne peuvent assimiler que de l'azote non marqué et leur émanation corporelle de ^{15}N est compensée par une incorporation de ^{14}N. Elle se traduit alors par le changement des proportions de ^{15}N et de ^{14}N des tissus lombriciens. Ce changement d'état permet de calculer le débit d'azote des animaux à partir de leur *N initial.

Il faut noter que, à l'équilibre de biomasse, le calcul des sorties de *N mesure l'émanation mais que, réciproquement, il y a une assimilation égale en

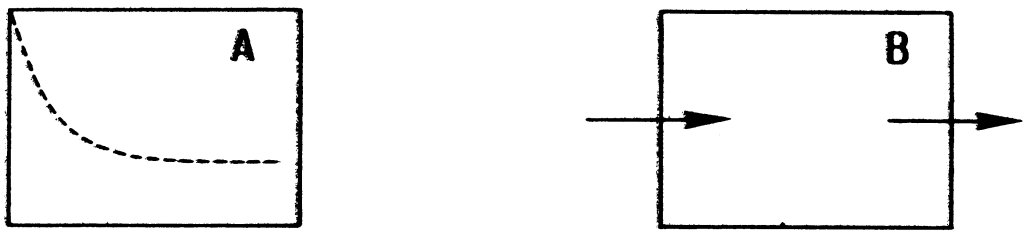

Figure 3.10: Illustration schématique des changements d'état (A) et des débits (B) d'un compartiment quelconque.

°N. On mesure donc, à la fois, l'émanation et l'assimilation puisque toutes les sources alimentaires sont °N.

Pour essayer de mieux caractériser l'origine des aliments, nous avons aussi utilisé cinq autres microcosmes (dispositif B; *S+*V+*P+L) issus de l'expérience présentée dans le paragraphe 3.3 (**lombriciens maintenus**), en substituant toutefois la litière marquée au ^{15}N à de la litière de même C/N mais non marquée. En d'autres termes, les lombriciens, le sol et les plantes sont marqués au ^{15}N et la litière ne l'est pas. Cependant, le marquage du sol ne résulte que de l'incorporation de litière marquée durant les 113 jours de l'expérience précédente. Ainsi, la diminution du marquage des lombriciens peut éventuellement résulter, pour partie, de leur alimentation à partir de composés organiques préexistant dans le sol avant le début du marquage.

3.4.2. Matériel et méthodes

3.4.2.1. Caractéristiques du sol

Ses caractéristiques physico-chimiques sont décrites au paragraphe 3.2.1.1.

3.4.2.2. Caractéristiques des lombriciens

Tous les renseignements nécessaires sont décrits en détail au paragraphe 3.2.1.2. Mais il faut ajouter à cela que leur rapport isotopique (E%) au jour 0 de cette nouvelle expérience est égal à 5,1%.

3.4.2.3. Caractéristiques du compartiment litière

Les conditions de culture des plantes servant de litière ont été présentées au chapitre II (cf. 2.6.2). La composition de la solution nutritive est la même hormis l'enrichissement en ^{15}N qui est nul dans ce cas (E%=0). Après la récolte, les feuilles de *Lolium perenne* sont séchées à l'étuve à 70°C pendant 36 heures et hachées entre 2 et 5mm pour alimenter les lombriciens. Cette litière apportée aux lombriciens est la seule source d'azote non marquée du dispositif B (*S+*V+*P+L).

3.4.2.4. Méthodes utilisées

Les techniques de mesure et de dosages sont décrites dans le chapitre précédent.

3.4.3.5. Dispositifs expérimentaux

Cette expérience est en continuité avec l'expérience présentée au paragraphe 3.2.

Deux dispositifs ont été réalisés à savoir:

- **Dispositif A (S+*V+L)** comprenant 1 kg de sol humide, un lombricien marqué au ^{15}N et de la litière non marquée (cf. 3.2.1.4)

- **Dispositif B (*S+*V+*P+L)** regroupant 1kg de sol humide (même sol que précédemment mais ayant reçu en plus un marquage au ^{15}N pendant 113 jours, par enfouissement par les lombriciens d'une litière marquée au ^{15}N selon le dispositif décrit au paragraphe 3.2.1.4), un ver de terre et des plantes marquées et une litière non marquée.

Après 113 jours d'expérimentation, dix bocaux contenant chacun 1 ver de terre marqué au ^{15}N (E% moyen= 5,1%) et des plantes marquées elles aussi au ^{15}N, ont été obtenus. Cinq parmi les dix lombriciens ont été recapturés, et répartis, à raison de un lombricien par bocal, dans cinq bocaux de sol naturel que l' on a préalablement tamisé à 2mm après élimination des racines et des cailloux et réhumidifié à pF 3 (0,098 MPa). Leur ^{15}N (et *N) est mesuré régulièrement après 0, 2, 4, 8, 16 et 42 jours (=dispositif A).

Pour estimer le débit d'azote d'origine lombricienne lié à l'émanation-assimilation des mêmes lombriciens mais en présence de végétaux, les cinq autres vers de terre sont toujours restés dans leur microcosme avec le sol initial et les plantes qui s'y sont développées pendant 113 jours (=dispositif B).

De la litière non marquée est déposée à la surface de ces dix nouveaux microcosmes au fur et à mesure du besoin des animaux.

Donc, dans cette expérience deux types de dispositifs ont été étudiés à savoir:

- Dispositif A = Sol + Ver marqué ^{15}N + Litière non marquée (S+*V+L)
- Dispositif B = Sol marqué ^{15}N + Ver marqué ^{15}N + Plantes marquées ^{15}N + Litière non marquée (*S+*V+*P+L).

Les dix bocaux sont enveloppés dans du papier aluminium pour maintenir la partie sol à l'obscurité et placés en serre dans les mêmes conditions climatiques que celles de l'expérience précédente. Les masses de litière non marquée apportée, les quantités de N^t, ^{15}N et *N retrouvées dans chaque compartiment (sol, parties aériennes et racinaires des plantes, biomasse microbienne et lombriciens) des différents dispositifs sont présentées dans les tableaux relatifs aux résultats.

3.4.4. Résultats

3.4.4.1. Etats de l'azote dans le sol et la biomasse microbienne

La figure 3.11 (p.105) montre que, dans le dispositif A, il y a bien, à partir des excrétats ^{15}N d'origine lombricienne, d'abord ammonification (accumulation de NH_4^+) puis nitrification, mais que les formes minérales apportées en excès se stabilisent selon un plateau quasi-constant.

Les résultats du carbone total, de l'azote total et de l'azote marqué de la biomasse microbienne sont présentés dans le tableau 3.18 (p.95).

Dans le dispositif A (S+*V+L), il n'y a pas initialement de *N dans la biomasse microbienne. L'enrichissement de la biomasse microbienne (E%-BM) atteint son maximum au deuxième jour, pour se stabiliser par la suite à une valeur inférieure. On peut supposer que, durant les deux premiers jours, la biomasse microbienne du sol est stimulée par l'introduction du ver de terre et se développe aux dépens des émanats marqués au ^{15}N qu'il relâche dans le milieu. Par la suite, les molécules émanées sont de moins en moins marquées.

Dans le dispositif B (*S+*V+*P+L), E%-BM est déjà de 1,45% au jour 0. Il reste toujours beaucoup plus élevé que dans le dispositif sans plante.

On observe une diminution constante de E%-BM qui pourrait s'expliquer par l'apport d'azote non marqué issu de la litière. En effet, l'enfouissement de la litière non marquée par le ver de terre et sa minéralisation rapide, d'une part par le système lombrico-microbien et, d'autre part, par la présence de racines (Billes et Bottner, 1981), entraîne une libération d'azote non marqué qui est repris par la microflore.

On observe que l'introduction de la litière par les lombriciens, dans le dispositif A, conduit peu à peu à une augmentation notable de la teneur en carbone de la biomasse microbienne et corrélativement à celle de son C/N; A partir du 8ème jour, les valeurs du C et du C/N sont comparables dans les deux dispositifs.

3.4.4.2. Cinétiques de l'azote au niveau des lombriciens

Le tableau 3.17 (p.92) indique les résultats bruts obtenus à partir des dispositifs A et B.

Pour l'interprétation, nous nous intéresserons au changement d'état de l'azote marqué corporel initial des lombriciens, pour en suivre l'élimination par émanation. Nous retiendrons donc l'expression de la fraction restante du ^{15}N dans les tissus des animaux par rapport au ^{15}N corporel initial au jour 0. De la même façon, nous considèrerons l'azote marqué (**N) rapporté à l'azote exclusivement lombricien dans le dispositif A (Tableau 3.18; p.95).

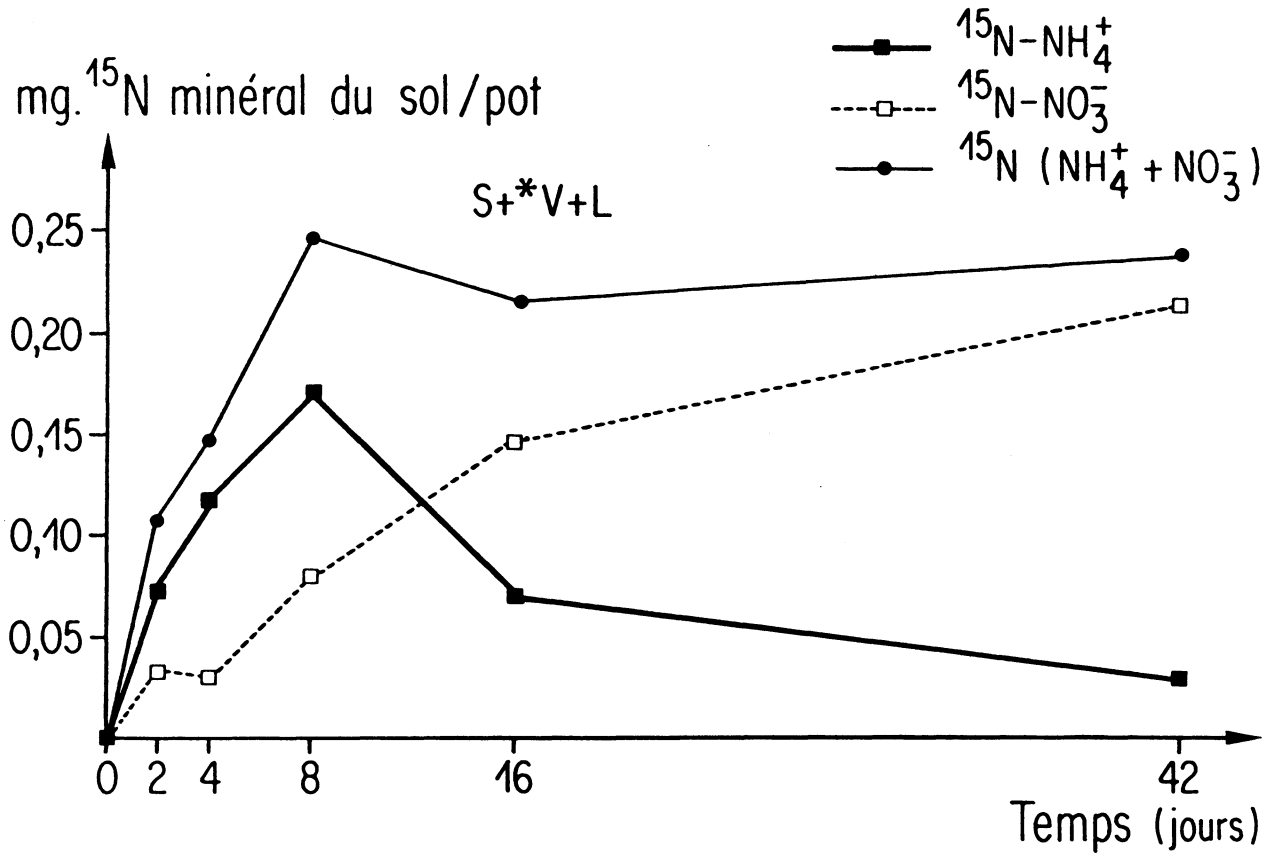

Figure 3.11: Dynamique de la quantité totale d'azote 15 sous forme minérale, ammoniacale et nitrique retrouvée dans le sol dans le dispositif A (S+ *V+L).

Nous avons cherché la fonction mathématique optimale résumant l'information de cette évolution du marquage des lombriciens à l'aide du logiciel développé par F. Sorrentino et adapté par P. Soto d'après la méthode de calcul itératif proposée par Nelder et Mead (1965). Ce logiciel travaille par approximation successive, optimise les paramètres des fonctions proposées pour que les données calculées à partir de ces fonctions soient aussi proches que possible des données observées.

Nous avons essayé de multiples fonctions mathématiques. C'est, en définitive, la double exponentielle qui s'est avérée la meilleure. Ce résultat a d'ailleurs un caractère général que nous discuterons en conclusion (chapitre V): il traduit le fait que le compartiment lombricien est fonctionellement constitué de deux "sous-compartiments".

A. Dispositif A (S+*V+L)

Dans ce cas nous avons obtenu la fonction suivante:

$$Y(\%^{15}N^{t}) = \exp^{-0,702080t + 2,7445} + \exp^{-0,038473t + 4,4390} \quad (1)$$

Notons que la première fonction traduit un "sous-compartiment" modeste mais labile et que la deuxième exponentielle est l'image d'un "sous-compartiment" relativement important, mais à débit faible.

L'interprétation des résultats implique une bonne connaissance de la nature des phénomènes mis en cause.

Bouché (1984) indique que l'azote émané peut provenir de fractions très différentes:

1) Des métabolites assimilés récemment et qui sont rapidement dégradés en fournissant, au métabolisme général, leur énergie chimique sous forme de CO_2, NH_4^+, urée...

2) Des métabolites qui, après assimilation, sont incorporés dans les tissus labiles (muscles) ou relativement stables (type chitine des soies) des lombriciens.

Ces diverses catégories et ces diverses fractions de métabolites sont présentées ici pour expliquer que notamment la première d'entre elles peut avoir une "durée de vie" très brève. Le temps de passage entre le moment où ces substances sont assimilées et où elles sont émanées est très rapide et ces métabolites peuvent se renouveler plusieurs fois pendant le temps de l'expérience (c'est un débit élevé).

Le raisonnement inverse s'applique évidemment aux formes plus stables.

La figure 3.12 (p.108) montre que globalement (tous "sous-compartiments" confondus) *N initial diminue effectivement de moins en moins vite. La pente, donc la dérivée de la courbe, va en diminuant car les fractions les plus labiles ont été émanées dès le début de l'expérience. La fonction mathématique intègre toutes ces propriétés et celles de tous les points d'observation.

La dérivée à l'origine mesure simultanément le débit de tous les sous-compartiments évoqués ci-dessus parce qu'à cet instant ils sont tous homogènement marqués en ^{15}N. Ceci ne sera plus le cas aux temps suivants.

Cette dérivée à l'origine mesure l'émanation globale d'azote en % de celle-ci (le ^{15}N étant le marqueur de l'azote).

La fonction étant une double exponentielle du type:

$$Y = \exp^{-at + b} + \exp^{-ct + d}$$

dans laquelle t est exprimé en jours.

Sa dérivée est donc:

$$Y'o = -a \exp^{b} -c \exp^{d}$$

Dans le cas du dispositif A (S+*V+L):

Y'o = 14,18 % N corporel.jour^{-1} **(2)**

B. Dispositif B (*S+*V+*P+L)

Dans ce cas, les lombriciens disposent à la fois d' une source alimentaire non marquée au ^{15}N et énergétique (la litière) et d'une source partiellement marquée au ^{15}N (le sol).

La figure 3.13 (p.109) montre la dynamique du % de ^{15}N dans les lombriciens.

La meilleure équation d'ajustement obtenue est la suivante:

$$Y = \exp^{-0,280995t + 3,87735} + \exp^{-0,00003272t + 3,94950}$$

Dans ce cas, le débit calculé du renouvellement de l'azote est:

Y'o = 13,57 % N corporel.jour^{-1}

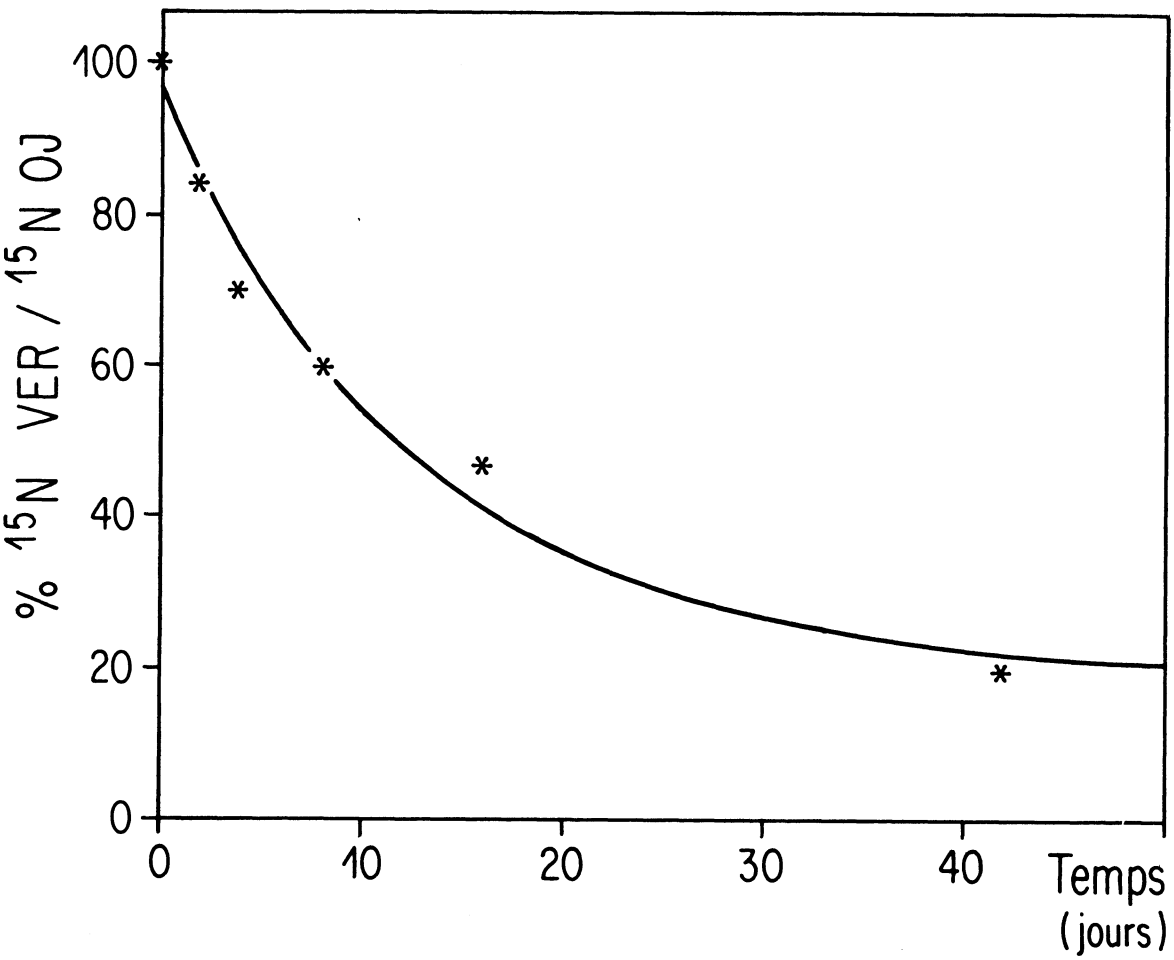

Figure 3.12: Variation de la teneur individuelle en azote 15 des lombriciens marqués relâchés dans le sol et nourris par de la litière non marquée de C/N 9,5 (expérience réalisée en microcosmes dans un sol non marqué). Les valeurs observées (*) et calculées (en trait plein) sont exprimées en % de la teneur initiale en azote 15.

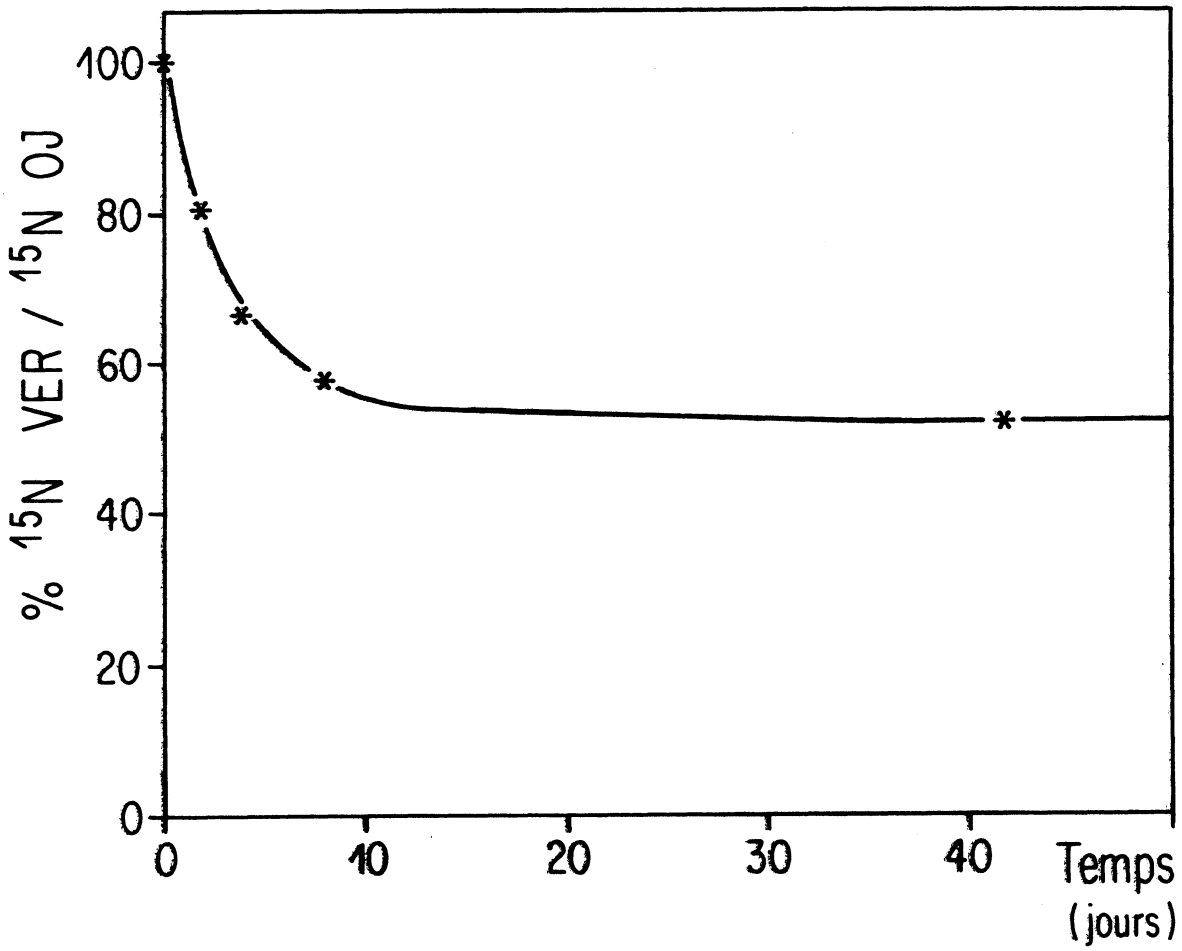

Figure 3.13: Variation de la teneur individuelle en azote 15 des lombriciens marqués, nourris avec de la litière non marquée de C/N 9,5, et vivant dans un milieu déjà marqué à l'azote 15 (expérience réalisée en microcosmes; cf lombriciens maintenus). Les valeurs observées (*) et calculées (en trait plein) sont exprimées en % de la teneur initiale en azote 15.

On note donc une différence de débit journalier de 14,18-13,57 soit 0,61%.jour^{-1}. Cette différence indique que (13,57/14,18)x100 = 95,7% de l'azote provient de la litière, les deux débits observés étant peu différents. La fraction de sol marquée, par exemple sous forme de microorganismes, intervient donc peu dans les sources azotées des lombriciens. Toutefois, par un phénomène de cumul des différences, on observe que **l'état** des deux aliquotes des dispositifs A et B au jour 42, est très différent (respectivement 19,8% et 52,0% - Tableau 3.17; p.92).

On remarque d'ailleurs que la deuxième fonction exponentielle modélisant le dispositif B est pratiquement une constante.

A partir d'une quarantaine de jours, les lombriciens semblent avoir atteint un état d'équilibre entre leur excrétion de ^{15}N et leur assimilation de cet isotope à partir du sol.

C. Vérification des ordres de grandeur des débits obtenus

Nous savons que le poids sec moyen des lombriciens, tube digestif plein, est de 1,47 g et que leur teneur en ^{15}N est de 2,79 mg $^{15}N.g^{-1}$ ms, soit une moyenne de 4,10 mg ^{15}N/ver de terre.(Tableau 3.17; p.92)

Le débit d'assimilation, **à partir du sol**, est de 0,61% soit 25 µg ^{15}N. jour^{-1}/ver.

D'autre part, nous savons que le sol contient 0,43% d'azote enrichi à 0,219% en moyenne (E% du sol à 113 jours), soit 9,42 µg $^{15}N.g^{-1}$ sol sec.

En admettant la double hypothèse que, d'une part, l'assimilation de l'azote du sol ingéré soit de 100% et que, d'autre part, l'ingestat du lombricien ait la même composition isotopique que la valeur moyenne du sol utilisée dans ce calcul, on en déduit que la quantité de sol ingérée (en g.jour^{-1}/ver) est de 25/9,42 = 2,65 g sol.jour^{-1}.

Cet ordre de grandeur est cohérent avec nos connaissances; on admet couramment une ingestion totale égale au poids du ver par jour (ici du poids vif soit en moyenne 5,83 g). Il est à noter que ce calcul a été fait uniquement à partir de l'azote du sol mais que le lombricien se nourrit également à partir de la litière non marquée, mais très riche en azote (C/N=9,5).

D. Conclusion sur le renouvellement de l'azote

On a pu, dans la présente expérience, calculer les débits d'azote des lombriciens à partir d'un milieu n'ayant que des aliments °N (dispositif A) ou *N (sol et plantes). Ceci nous a permis de vérifier que les ordres de grandeur de sol et de litière ingérés étaient tout à fait cohérents. Toutefois, cette validation interne ne contrôle que la cohérence des résultats et ne nous renseigne pas sur les débits dans les systèmes réels.

Nous abordons cette validation écologique au chapitre IV.

CHAPITRE IV

ETUDES *IN SITU* DES TRANSFERTS D' AZOTE D'ORIGINE LOMBRICIENNE (*LUMBRICUS TERRESTRIS* L.) VERS LES PLANTES

Les résultats obtenus dans la partie précédente (cf. 3.4) nous ont montré qu'il est possible d'utiliser la technique des isotopes pour mesurer les débits d'émanation et d'assimilation des vers de terre. Ces mesures de débits, effectuées en modèles expérimentaux, ne peuvent pas être considérées comme directement applicables aux milieux naturels; leur extrapolation *in situ* mérite d'être validée.

Dans cette partie du travail, nous avons dû adapter les techniques expérimentales que nous avons utilisées en laboratoire pour les rendre applicables aux recherches écologiques entreprises *in situ*.

4.1. Station de l'expérience

Nous avons travaillé dans la prairie permanente de Lavérune (Placette Ecordre 2448), dont les coordonnées géographiques sont les suivantes: Latitude, 48,42 gr.; Longitude, 1,642 gr.; Altitude, 20 m; Commune n° 134.

Cette station a été choisie pour plusieurs raisons:

1) D'une façon générale, une prairie joue un rôle important pour l'élevage.

2) Les résultats obtenus sous prairie sont relativement extrapolables par le fait qu'une prairie occupe une artificialisation moyenne entre forêt et culture. Il existe des situations intermédiaires entre prairies permanentes et cultures intensifiées, par exemple, les prairies temporaires, les cultures sans labour...

3) Il s'avère nécessaire, dans les études fondamentales, de travailler dans des conditions telles que les composantes de l'écosystème (végétaux, faune du sol et microorganismes) soient le plus proche possible de l'équilibre biologique. Sur ce dernier point, la prairie retenue est certainement avantageuse.

4.1.1. Principales espèces et recouvrement moyen à la station de Lavérune

Espèces	Recouvrement (%)
Graminées	
Lolium perenne L.	70
Bromus hordeaceus L.	5
Agrostis capillaris L.	5
Arrhenaterum elatius (L.) M. et K.	5
Avenula pubescens (Hudson) Dum.	2

Légumineuses

Trifolium pratense L.	15	
Trifolium fragiferum L.	2	
Trifolium dubium Sibth.	3	
Medicago lupulina L.	2	
Trifolium repens L.		2
Lathyrus pratensis L.	<1	

Divers

Potentilla reptans L.	8	
Sanguisorba minor Scap.		3
Plantago lanceolata L.	2	
Rumex acetosa L.	2	
Linum angustifolium Huds.	2	
Leondodon hispidus L.	2	
Urospermum picrioides L.		1
Crepis taroxacifolia Thuill.	1	
Bellis perennis L.	1	
Galium verum L.	1	

4.2. Matériel et méthodes appliqués *in situ*

Selon les résultats acquis au laboratoire sur les débits d'azote des vers de terre, les lombriciens (*Lumbricus terrestris* L.) peuvent renouveller presque 80% de leur azote initial en 42 jours. A partir de ces résultats (Figure 3.12; p.108), il est possible de faire des essais comparables au champ.

L'élevage des vers de terre durant deux mois, avec de la litière de *Lolium perenne* L. marquée au ^{15}N (E%=40%), permet d'obtenir des animaux marqués à un niveau suffisant et d'établir, en les recapturant, leur changement de rapport isotopique.

Pour pouvoir reconnaître dans la prairie les animaux marqués au ^{15}N, nous les avons colorés préalablement à leur marquage isotopique.

Les différentes opérations mises en oeuvre dans cette expérience *in situ* sont décrites dans le schéma suivant.

Capture des lombriciens ---------> Au champ

▪

Coloration ---------> Au laboratoire

▪

Marquage isotopique ^{15}N ---------> Au laboratoire

▪

Lâcher des lombriciens ^{15}N ---------> Au champ

▪

Recapture des lombriciens ^{15}N ---------> Au champ

▪

Diverses opérations (nettoyage
pesée, préparation) ---------> Au laboratoire

▪

Analyse isotopique ^{15}N ---------> Au laboratoire

4.2.1. Coloration des lombriciens

Pour récupérer, à des fins analytiques, les vers de terre marqués au ^{15}N et relâchés sur le terrain, il est nécessaire de pouvoir les repérer aisément. Or le marquage au ^{15}N n'étant pas apparent, il a fallu mettre au point une technique visuelle permettant ce repérage, à savoir une coloration des lombriciens. La coloration que nous avons utilisée est basée sur la technique de Meinhardt (1976) et mise au point par Mazaud (1979) et nécessitant, au préalable, une déshydratation partielle des lombriciens.

4.2.1.1. Déshydratation partielle des lombriciens

Après un tri manuel pour séparer juvéniles et adultes, les adultes retenus sont rincés plusieurs fois à l'eau pour éliminer les particules de sol encore adhérentes. Ils sont ensuite déposés sur du papier filtre, retournés de temps en temps pour leur permettre de se déshydrater légèrement, ce qui entraînera une meilleure pénétration du colorant. Le temps de dessèchement doit être limité à 5 minutes (Mazaud, 1979), cependant nous avons remarqué que la température et l'humidité de l'air ambiant jouent un rôle non négligeable sur le temps de dessèchement des animaux et, selon ces paramètres, nous avons laissé les lombriciens se déshydrater pendant des temps variant de 5 à 8 minutes.

4.2.1.2. Technique de coloration

Les vers de terre déshydratés sont disposés sur un panier grillagé que l'on immerge dans une solution colorante de vert menthe E (p/v = 1/10)(colorant

DATES	TEMPERATURE DU SOL à - 10 cm			TEMPERATURE DU SOL à - 20 cm		
Mois/Jour	Min.	Max.	Moyenne	Min.	Max.	Moyenne
Septembre						
22	22,0	23,5	22,75	21,0	22,0	21,50
23	22,5	24,0	23,75	21,5	23,0	22,25
24	22,0	23,5	22,75	21,0	22,5	21,75
25	20,0	22,0	21,00	19,0	21,0	20,00
26	20,0	21,5	20,75	19,0	20,0	19,50
27	19,0	20,5	19,75	18,0	19,0	18,50
28	15,5	19,0	17,25	15,0	18,0	16,50
29	15,5	18,0	16,75	14,5	17,0	15,75
30	16,0	18,0	17,00	15,0	17,0	16,00
Octobre						
01	17,0	17,5	17,25	16,0	17,0	16,50
02	16,5	17,0	16,75	15,75	16,0	15,90
03	16,0	17,0	16,50	15,5	16,0	15,75
04	16,0	16,0	16,00	15,0	15,5	15,25
05	15,0	16,0	15,50	14,5	15,0	14,75
06	15,5	18,0	16,75	14,5	16,5	15,50
07	15,0	18,0	16,50	15,0	17,0	16,00
08	17,0	18,0	17,50	16,0	17,5	16,75
09	15,5	17,0	16,25	14,5	16,5	15,50
10	15,0	16,5	15,75	15,0	16,0	15,50
11	14,0	15,0	14,50	13,0	14,5	13,75
12	13,0	14,5	13,75	13,0	14,0	13,50
13	14,0	16,0	15,00	14,0	15,0	14,50
14	15,0	16,0	15,50	14,5	15,0	14,75
15	16,0	17,5	16,75	15,0	16,5	15,75
16	17,2	18,0	17,60	16,5	17,0	16,75
17	16,0	18,0	17,00	15,0	17,0	16,00
18	14,0	16,5	15,25	13,0	16,0	14,50
19	14,0	14,5	14,25	14,0	15,0	14,50
20	14,5	16,0	15,25	15,0	15,5	15,25
21	16,0	17,5	16,75	15,0	16,0	15,50
22	15,6	16,8	16,20	14,5	15,5	15,00
23	15,6	16,2	15,90	14,5	15,0	14,75
24	14,8	15,5	15,20	14,0	15,0	14,50
25	14,5	15,4	15,00	13,5	14,3	13,90
26	15,0	15,4	15,20	13,5	14,5	14,00
27	14,8	15,6	15,20	13,5	14,5	14,00
28			16,90			16,10

Tableau 4.1: Températures du sol mesurées durant l'expérience au terrain, à la station de Lavérune.

vert menthe en poudre hydrosoluble)* pendant 30 secondes. Les vers sont ensuite égouttés et mis à sécher sur papier filtre pendant un temps variable et jusqu'à apparition de signes de faiblesse évidente chez les animaux. Ce temps de séchage est primordial car la pénétration du colorant en dépend. En effet, Mazaud (1979) a montré que la pénétration transcutanée du colorant est amplifiée par les deux réhydratations successives. Ultérieurement, le colorant s'accumule dans les vacuoles des chloragocytes péri-intestinaux et la coloration peut se maintenir plusieurs mois.

Les lombriciens colorés sont ensuite remis dans des boites d'élevage contenant du sol que l'on maintient à pF 3 (=0,098 MPa) et à 14°C pendant quelques jours, pour leur permettre de se réhydrater correctement et de retrouver leur condition optimale d'activité.

4.2.2. Marquage des lombriciens au ^{15}N

Ferrière et Bouché (1985) ont montré que, en conditions d'élevage favorables, les vers de terre renouvellaient la quasi-totalité de leur carbone et de leur azote en 40 jours. Nous avons vérifié ce résultat au paragraphe 3.4 (Figure 3.12; p.108). En nous basant sur ces données, nous avons estimé qu'un élevage de 2 mois en présence de litière marquée permettrait d'obtenir un marquage homogène de la population. Ainsi, après coloration et remise en conditions, les lombriciens au stade sub-adulte ont été placés dans des bacs de sol provenant de la station d'origine de Lavérune, en conditions d'élevage favorables (14°C et pF=3 soit 0,098 MPa), et nourris pendant 2 mois environ par apport de feuilles séchées de *Lolium perenne* L. enrichies à 40% en ^{15}N.

* *Dragoco SARL, 13 rue Madeleine Michaelis, 95522, Neuilly-sur-seine.*

4.2.3. Lâcher *in situ* des lombriciens marqués au ^{15}N

Après coloration et marquage au ^{15}N, les vers de terre sont nettoyés à l'eau et pesés. Leur poids moyen frais avoisine 3,5 g par individu (Tableau 4.2; p.122). Ils sont ensuite relâchés sur le terrain par groupe de 4 à la surface de parcelles délimitées par des cubes métalliques de 50x50 cm, ouverts sur les faces supérieures et inférieures (Figure 4.1; p.117), et mis en place dans le sol depuis plus d'une année, ce qui a permis de travailler sur un milieu peu perturbé dans lequel le réseau racinaire a repris sa place. Au moment du lâcher, les lombriciens sont recouverts d'un peu de terre pour éviter un dessèchement trop rapide et sont protégés des prédateurs, notamment des oiseaux, par un filet qui recouvre les cadres.

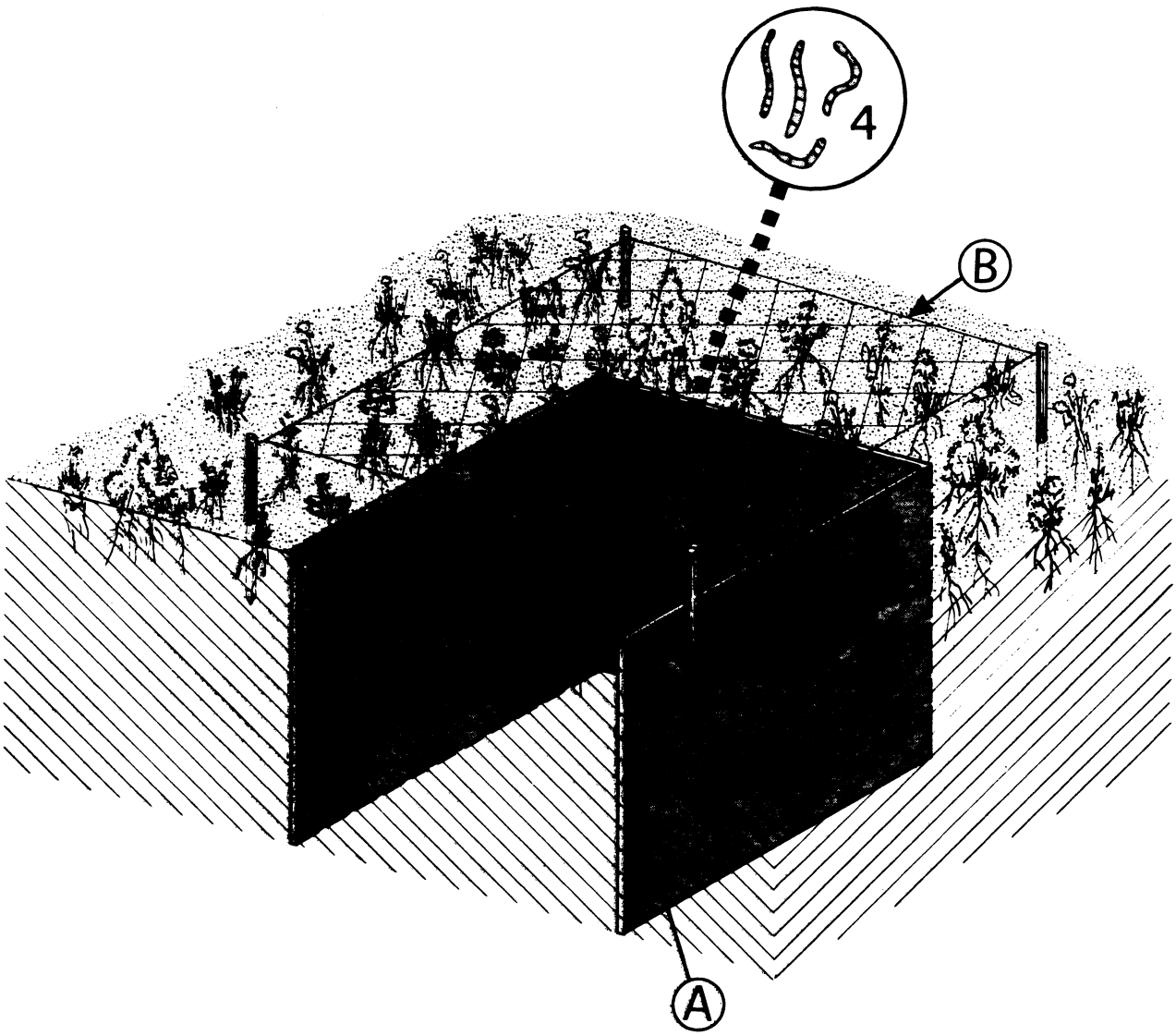

Figure 4.1: Coupe du dispositif mis en place dans la prairie de Lavérune pour la mesure du débit d'émanation azotée des lombriciens (Ferrière, 1986).

4.2.4. Recapture *in situ* des lombriciens marqués au ^{15}N

La recapture des animaux est effectuée au fur et à mesure des besoins de l'expérience, à savoir aux jours 3, 10, 16, 24, 33, 41 et 48 jours. Ces dates n' ont pas été déterminées arbitrairement mais ont été calculées par Samih (1988) sur la base du modèle estimé par Ferrière (1986).

La recapture des lombriciens s'effectue d'abord par un retrait à la bèche de la totalité du sol intérieur aux cadres, sur une profondeur de 30 cm. Cette opération est suivie d'un récupération manuelle des lombriciens marqués au ^{15}N et repérés par leur coloration. Puis, dans le cas où les 4 animaux lâchés en début d'expérience n'ont pu être récupérés, nous avons utilisé l'arrosage au formol qui, dans certains cas, a permis de recapturer des animaux ayant migrés plus en profondeur. La totalité des lombriciens a été retrouvée sauf dans trois cas (au jour 3, 33 et 41). L'absence de ces animaux marqués au ^{15}N pourrait s'expliquer par une prédation ou par une atténuation de la coloration des individus qui n'aurait pas permis de les reconnaître. Dans ces cas, la totalité des *Lumbricus terrestris* capturés ont été analysés. Les vers de terre de chacun des cadres sont nettoyés et pesés puis ébouillantés pendant quelques secondes, disséqués pour recueillir l'endentère, et séchés à l'étuve à 70°C.

4.3. Délimitation des compartiments étudiés

4.3.1. Compartiment Sol

Il comprend le squelette du sol, la microflore, les débris végétaux, la microfaune et toutes les formes de matière organique dégradée (y compris les formes organiques liées à la strate minérale du sol).

La délimitation de ce compartiment dans l'espace est en surface celle des parallélépipèdes utilisés (50x50 cm ou 0,25 m^2) sur une profondeur de 30 cm.

Le prélèvement du sol s'effectue simplement à la bêche. Après avoir retiré les racines, la terre est pesée et homogénéisée. Sa teneur en azote est calculée à partir de la moyenne de trois échantillons de sol. Les résultats obtenus sont extrapolés à la totalité de sol de chaque cube.

Ferrière (1986) avait estimé, en fonction du temps, le taux de ^{15}N libéré par les lombriciens dans le sol à l'aide d'un spectromètre de masse (sensible à 0,0001%). Malheureusement, la sensibilité du spectromètre optique dont nous disposons est beaucoup plus faible et les résultats des enrichissements ne sont plus fiables en dessous de 0,1%.

Un calcul théorique montre donc l'inutilité d'un tel dosage en spectrométrie optique. Admettons que la totalité de l'azote apporté par les quatre *Lumbricus terrestris* L. (environ 45 mg de ^{15}N) soit passée

intégralement dans le compartiment Sol (contenant environ 170 g d'azote total), l'enrichissement maximal possible serait d'environ 0,026%, enrichissement nettement inférieur aux possibilités de notre appareil.

4.3.2. Compartiment Lombricien

Comme nous l'avons indiqué au chapitre III (cf. 1.2.), ce compartiment correspond à la masse fraîche totale des quatre vers de terre, tube digestif plein.

4.3.3. Compartiment Turricules frais

Les turricules ou fèces déposés à la surface du sol représentent une part de l'ensemble de la défécation des lombriciens présents dans le cadre.

Pour de nombreux auteurs, les turricules évoluent rapidement au cours du temps, se désagrègent puis se réincorporent au sol.

Pendant la durée de notre expérience, nous avons collecté les turricules frais (âgés de deux jours). Pour ce faire, deux jours avant chacune des dates de prélèvement, nous avons écrasé tous les turricules déjà déposés afin de reconnaître la production fraîche de turricules au moment du prélèvement.

Les turricules recueillis sont transportés dans des pochettes en plastique au laboratoire où ils sont immédiatement séchés à l'étuve, à 70°C pendant 24 heures, pesés et analysés (N^t, ^{15}N).

4.3.4. Compartiment Végétal

Les parties aériennes et racinaires ont été prélevées. La récolte des parties aériennes a été subdivisé en quatre fractions représentant chacune 1/4 de la surface des cadres metalliques.

Les parties aériennes sont recueillies avant prélèvement du bloc de terre et coupées au ras du sol à l'aide de ciseaux à gazon.

Pour les parties racinaires, le bloc de terre, contenu dans le parallélépipède métallique, est prélevé à la bêche jusqu'à 30 cm de profondeur, puis déposé dans un bac de 100 l rempli d'eau additionnée de 450 g d'hexamétaphosphate de sodium et de 3 l de formol. Ces produits sont ajoutés respectivement pour la dispersion des colloïdes du sol et le blocage de la décomposition microbienne. Après 48 heures, le mélange est fragmenté manuellement puis passé au tamis (mailles de 0,6 mm). Les racines et les parties aériennes résiduelles sont alors séparées, séchées à 70°C pendant 36 heures et pesées.

Les dosages de N^t et de ^{15}N sont réalisés à partir de quatre prises effectuées sur le prélevat des racines pesées.

4.3.5. Compartiment de Transfert Lombricien --> Plante (CTLP)

Le passage de l'azote aux plantes se fait via le sol, notamment grâce à l'activité microbienne.

Nous avons observé, aux différentes dates, cet azote lombricien dans quatre compartiments: **les lombriciens, les turricules, les parties aériennes et racinaires des plantes**. Comme nous l'avons indiqué précédemment, l'analyse du compartiment Sol proprement dit n'a pas été possible.

Le compartiment Lombricien perd de l'azote jusqu'au dernier jour de l'expérience (Figure 4.2; p.121). En raison de la proportion importante d'azote lombricien non retrouvé dans les plantes en fin d'expérience (22,8% de ^{15}N assimilé par les plantes après 48 jours), nous pouvons définir un compartiment de transfert des lombriciens aux plantes dans le sol. Ce compartiment représente l'azote en cours de transit dans le sol; Il correspond, à chaque instant de prélèvement, au complément de l'azote lombricien excrété non retrouvé. Autrement dit: Le compartiment de transfert Lombricien-plante (CTLP) est l'azote initial lombricien (100%) auquel on retranche l'azote initial encore contenu dans les vers de terre, l'azote initial retrouvé dans les turricules et les parties aériennes et racinaires des plantes.

4.3.6. Codification des compartiments

Il est certain que l'interprétation des données obtenues s'effectue dans un système complexe qui nous oblige à une codification limitée et précise des données sur lesquelles sont conduites les opérations.

Les codes utilisés sont pour l'azote (N = azote; ^{15}N = isotope 15 de l'azote), et pour les compartiments:

L = Lombricien
P = Plante
P_a = Parties aériennes
P_r = Parties racinaires
S = Sol
T_f = Turricules frais
CTPL = Compartiment de transfert Lombricien ---> Plante
NP_a = Azote des parties aériennes
NP_r = Azote des parties racinaires.

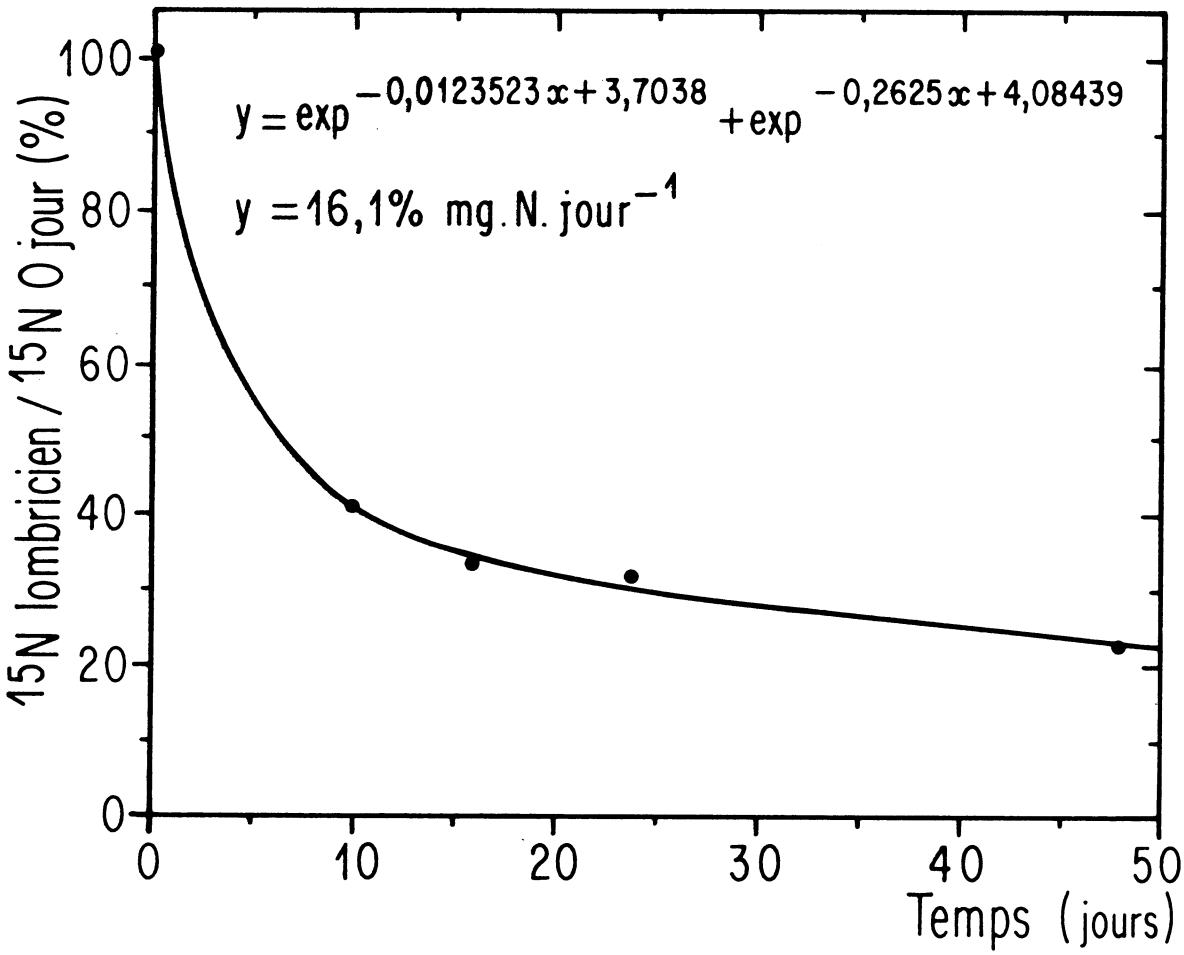

Figure 4.2: Mesure de l'émanation azotée par les lombriciens. Ajustement des données expérimentales et calcul du débit. Les valeurs sont exprimées en % ^{15}N lombricien/^{15}N initial.

Temps (jour)	Masse fraîche de lombriciens apportés (TDP)	$N^t.mg.g^{-1}$ ms (TDP)	E% du début de l'expéri.	Masse ^{15}N apportée mg/cadre	Masse ^{15}N recapturée mg/cadre	% ^{15}N recapturé / % ^{15}N apporté
0	-	54,81	22	-	-	-
3	14,180	54,81	22	43,00	-	-
10	15,005	54,81	22	45,46	18,41	40,50
16	17,015	54,81	22	51,60	17,06	33,06
24	16,030	54,81	22	48,59	15,27	31,42
33	17,110	54,81	22	51,84	-	-
41	15,300	54,81	22	46,41	-	-
48	14,700	54,81	22	44,60	9,88	22,15
Moyenne	15,63			47,36		

Tableau 4.2: Changements d'état azoté d'origine lombricienne.

Les valeurs sont exprimées en mg $^{15}N/^{15}N$ initial.
Nt = 54,81 $mg.g^{-1}$ ms TDP (tube digestif plein)
Nt = 115,15 $mg.g^{-1}$ ms TDV (tube digestif vide)
masse sèche/masse fraîche = 25,15%, lombricien TDP
masse sèche/masse fraîche = 14,41%, lombricien TDV

4.4. Résultats

4.4.1. Changements d'état et émanation des lombriciens

Les résultats obtenus dans cette expérience, sont présentés dans le tableau 4.2 (p.122). La biomasse initiale fraîche des animaux de chaque lot (quatre vers de terre par cadre) a été notée avant leur lâcher dans les cadres.

Après recapture des lombriciens, nous avons mesuré la fraction restante de ^{15}N dans leurs tissus et exprimé ce résultat en % par rapport au ^{15}N corporel initial apporté au jour 0 dans chaque cadre.

Nous avons ajusté les données expérimentales par la même méthode que celle des expériences conduites au laboratoire (cf. 3.4.4.2). Une nouvelle fois, le meilleur ajustement obtenu a été une équation à deux exponentielles (Figure 4.2; p.121).

La fonction utilisée est la suivante:

$$Y\ (\%^{15}N^{t}) = \exp^{-at+b} + \exp^{-ct+d}$$

$$Y\ (\%^{15}N^{t}) = \exp^{-0,0123523t+3,7038} + \exp^{-0,2625t+4,08439}$$

La dérivée $Y' = -0,0123523 \exp^{3,7038} - 0,2625 \exp^{4,08439}$

Au jour 0: $Y'° = -0,5014-15,59 = -16,1\%N$ corporel.jour^{-1}

On note donc un débit journalier de 16,1%.

Donc l'émanation calculée, correspondant à un ver de terre adulte, de biomasse moyenne de 3,5 g mph ($N^{t}=54,81$ mg.g^{-1} mps ver soit 41,35 mg d'azote par ver) est la suivante:

$(16,1 \times 48,24)/100 = 7,77$ mg N.jour^{-1} par lombricien.

4.4.2. Assimilation d'azote d'origine lombricienne par les plantes

Le tableau 4.3 (p.124) montre les résultats concernant l'évolution de l'azote total, azote 15 et carbone total dans les plantes. Nous allons présenter les résultats pour chacun des compartiments végétaux.

1) Développement de la biomasse végétale

La figure 4.3 (p.125) et le tableau 4.3 (p.124) illustrent le développement et la croissance végétale pendant la durée de l'expérience, soit 48 jours.

TEMPS - JOURS		0	3	10	16	24	33	41	48
PARTIES RACINAIRES	masse sèche(g)	108,01	140,15	171,38	167,10	180,60	166,27	174,80	205,22
	Azote total $mg.g^{-1}$ ms	9,60	9,31	9,20	9,56	10,13	10,11	9,41	9,15
	Carbone total $mg.g^{-1}$ ms	370,05	326,6	353,9	335,4	354,0	362,5	358,6	340,0
	C/N	38,59	35,08	38,47	35,08	34,95	35,86	38,11	37,16
	Enrichissement	/	0,19	0,12	0,16	0,15	0,19	0,21	0,44
	^{15}N $mg.g^{-1}$ms	/	0,018	0,01	0,02	0,02	0,02	0,02	0,04
	^{15}N total mg	/	2,52	1,89	2,51	2,71	3,16	3,50	8,21
	^{15}N retrouvé/ ^{15}N apporté %	/	5,86%	4,16%	4,86%	5,58%	6,10%	7,54%	18,41%
PARTIES AERIENNES	masse sèche(g)	8,05	5,97	13,15	10,08	16,85	20,00	23,75	21,46
	Azote total $mg.g^{-1}$ ms	28,86	31,45	24,57	26,79	25,53	25,99	25,06	18,34
	Carbone total $mg.g^{-1}$ ms	389,13	385,20	379,55	410,10	409,70	407,38	412,18	342,68
	C/N	13,48	12,25	15,45	15,31	16,05	15,67	16,45	18,68
	Enrichissement	/	0,16	0,28	0,51	0,33	0,37	0,61	0,60
	^{15}N $mg.g^{-1}$ ms	/	0,05	0,07	0,14	0,08	0,09	0,15	0,09
	^{15}N total mg	/	0,31	0,86	1,47	1,45	1,81	3,55	1,97
	^{15}N retrouvé/ ^{15}N apporté %	/	0,7%	1,90%	2,84%	2,98%	3,48%	7,65%	4,42%
	Masse totale Pa +Pr	116,06	146,12	184,53	177,18	197,45	186,27	198,55	226,68
	g/cadre/jour		10,02	5,49	-1,2	2,53	-1,2	1,54	4,01
	Rapport Pr/Pa	13,42	23,48	13,03	16,56	10,72	8,31	7,36	9,56

Tableau 4.3: ^{15}N issu des lombriciens et retrouvé dans les parties aériennes et racinaires des plantes.

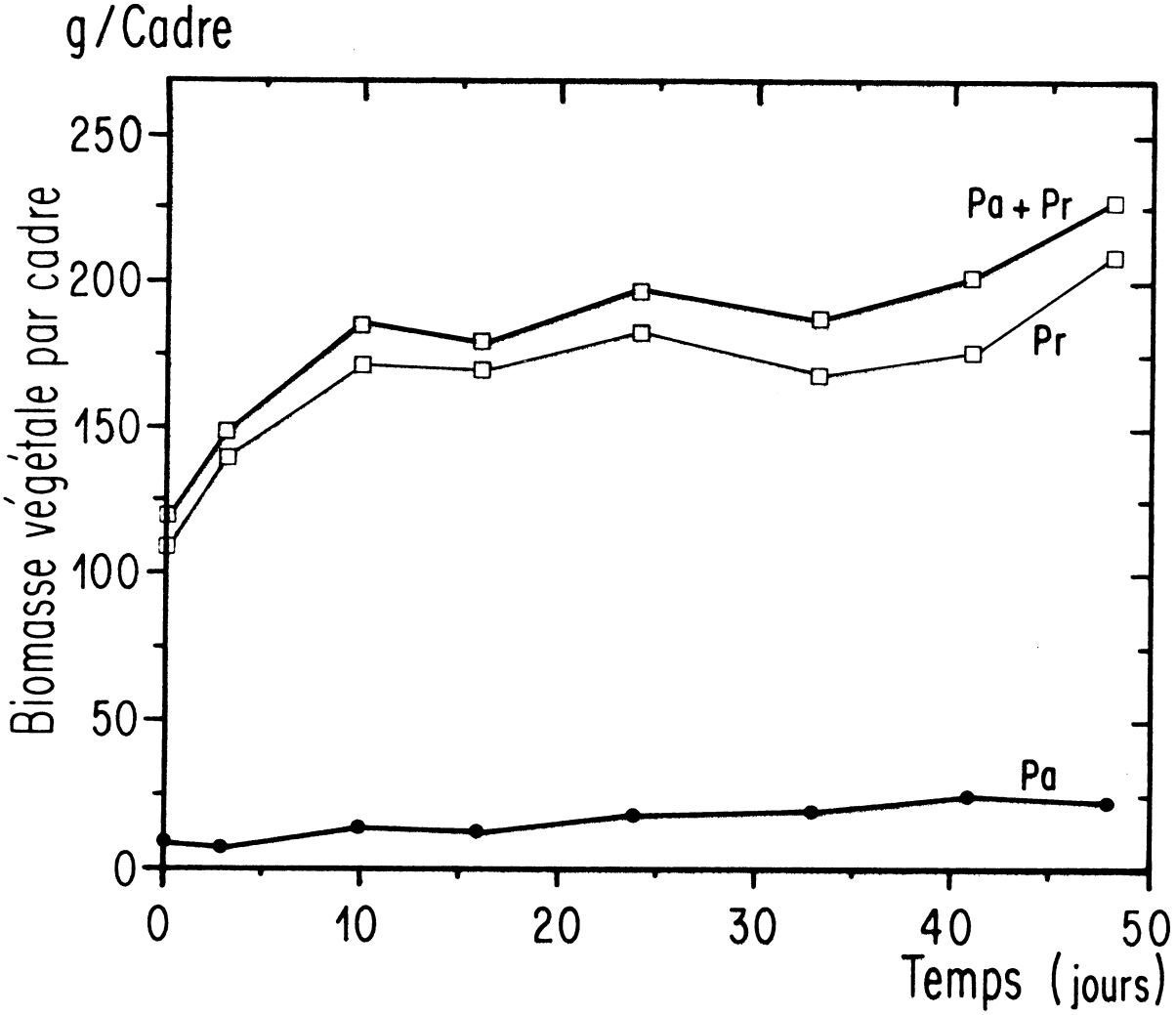

Figure 4.3: Illustration du développement et de la croissance végétale (P_a,P_r, P_a+P_r) pendant la durée de l'expérience.

A partir de ces résultats, on observe que la masse végétale ($P_a + P_r$) est irrégulière. Cette hétérogénéité peut être due à l'hétérogénéité initiale du milieu ou/et à celle de la croissance végétale.

On constate aussi que le rapport P_r/P_a n'est pas régulier non plus mais, globalement, à partir du 16ème jour, on observe une augmentation de la production de feuilles qui est à l'origine de la baisse de ce rapport. Dans notre cas, P_r/P_a varie de 23 à 8,3. De tels rapports ont déjà été décrits (Basilevitch, 1962, in Duvignaud, 1974) dans les steppes et les prairies-steppes en URSS.

La composition carbonée et azotée des plantes est donnée dans le tableau 4.3 (p.124). Malgré l'hétérogénéité initiale globale de la biomasse végétale, on constate que leur enrichissement est en augmentation, respectivement de 0,19 à 0,44 et de 0,16 à 0,60 pour les parties racinaires et aériennes.

Nous avons étudié l'assimilation ou l'incorporation globale de l'azote provenant des vers de terre dans les deux compartiments plantes. Les résultats (Figure 4.4, p.127 et Tableau 4.3; p.124) sont présentés en % de ^{15}N retrouvé dans la plante par rapport au ^{15}N initial apporté avec les vers dans chaque cadre.

Après 48 jours, nous avons retrouvé, dans notre situation expérimentale, environ 23% de l'azote initial lombricien dans les plantes.

L'ajustement de ces données (taux d'azote assimilé par les plantes) a été fait avec diverses fonctions mathématiques. C'est finalement avec une loi logistique, traduisant l'assimilation avec limitation à terme de celle-ci, que les meilleurs résultats ont été obtenus. Cette loi tient compte du fait que l'absorption d'azote lombricien par les plantes ne peut dépasser la valeur de l'apport initial.

On observe une incorporation lente et régulière de ^{15}N par les plantes. Ferrière (1986) a constaté, dans une prairie à climat semi-continental (Cîteau, Côte d'Or), une assimilation d'environ 90% d'azote d'origine lombricienne par les plantes pendant la même durée d'expérience (40 jours). Pour un dispositif expérimental analogue, on obtient une assimilation beaucoup moins rapide. Toutefois, les deux lois mathématiques sont similaires (logistiques) aux paramètres près, traduisant cette différence.

Le transfert lombricien-plante dépend du fonctionnement du système prairial. Autant qu'on puisse en juger, les deux sols limono-argileux semblent peu différents, le climat nettement plus chaud à Lavérune qu'en Côte d'Or aurait dû introduire un passage beaucoup plus rapide. C'est en définitive, la structure de la végétation qui semble pouvoir expliquer cette différence. En effet, nous avons noté une structure végétale traduisant une certaine aridité par

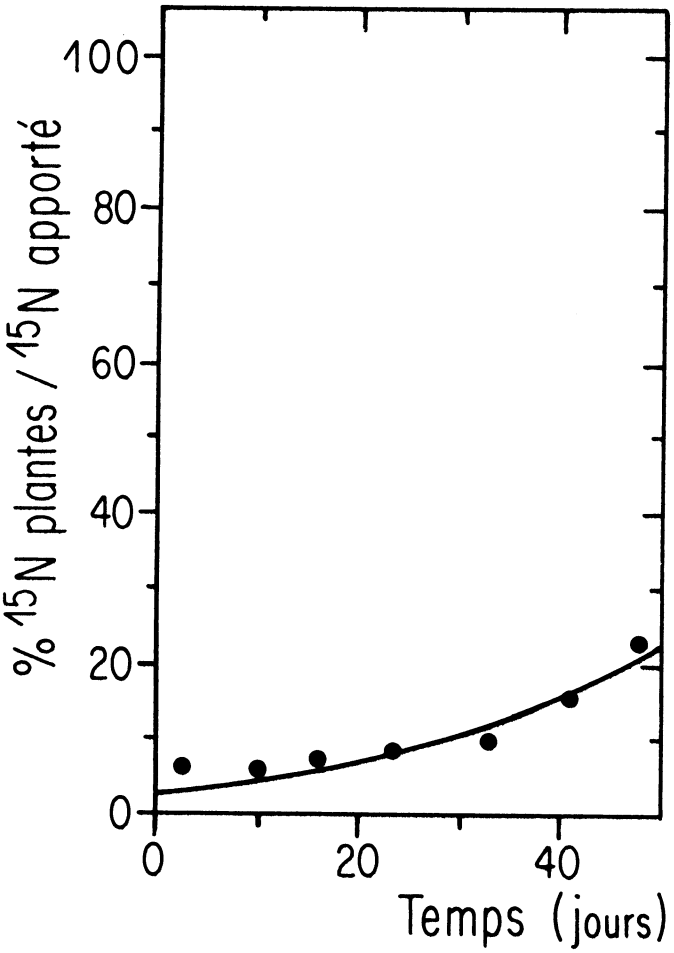

Figure 4.4: Pourcentage d'azote 15 assimilé par les plantes *in situ*. Les pourcentages sont exprimés par rapport à l'azote 15 amené par les lombriciens dans chaque cadre.

un rapport P_r/P_a très élevé (moyenne= 12,8) fort différent de celui de Ferrière (P_r/P_a= 4,5). De même, le taux de croissance, auquel on peut penser associer l'assimilation végétale, est plus élevé (à Cîteaux, en moyenne 4,2 $g.jour^{-1}$ et à Lavérune 3,0 $g.jour^{-1}$ et par cadre). Enfin, le taux d'émanation lombricienne est plus rapide à Lavérune qu'à Cîteaux.

4.4.3. Les Turricules

Nous avons déjà exposé, dans le paragraphe 4.3.3, la méthode de mesure de ce compartiment.

Les résultats bruts sont présentés dans le tableau 4.4 (p.129).

On observe que les quantités de turricules par prélèvement d'une part, et l'azote total des turricules (en $mg.g^{-1}$ ms) d'autre part, sont relativement constants au cours de l'expérience. Cette dynamique reflète probablement le maintien de l'activité lombricienne.

En ce qui concerne l'évolution de l'azote initial lombricien (^{15}N) dans les turricules (Tableau 4.4, p.129 et figure 4.5; p.130) on constate que:

1) Les enrichissements des turricules sont relativement voisins.

2) Le pourcentage de ^{15}N retrouvé par cadre dans les turricules atteint presque 0,87% en moyenne pour deux jours soit 0,43%.$jour^{-1}$ du ^{15}N apporté par les lombriciens. Ceci représente 20,8% pour les 48 jours de l'expérience.

3) L'azote total des turricules ($^{14}N + {}^{15}N$), exprimé en $mg.g^{-1}$ ms, est en moyenne de 2,79 $mg.g^{-1}$ ms.

Les auteurs ont remarqué depuis longtemps que les turricules sont riches en azote total et notamment en azote minéral. Tillinghast (1967) attribue, pour *Lumbricus terrestris*, l'ammoniaque et l'urée essentiellement à l'excrétion intestinale.

Pour vérifier cette interprétation, seul le passage corporel permet de distinguer l'azote émané de l'azote simplement ingéré puis digéré sans assimilation.

A partir des données de Ferrière (rapportées à 1 g de ^{15}N corporel) et à partir de nos propres résultats (rapportés à l'apport initial de ^{15}N à savoir 48,04 mg), nous avons calculé le pourcentage de ^{15}N issu des lombriciens et rejeté dans les turricules (Tableau 4.5; p.131).

On peut établir un bilan global des pertes d'azote entre l'état initial et l'état final d'une part, et, d'autre part, en rapportant nos observations aux dépôts de ^{15}N journaliers moyens. Il est ainsi possible de connaitre la part excrétée via le tube digestif.

On remarque que *Lumbricus terrestris*, tout à la différence de *Nicodrilus longus longus*, excrète une part importante de son azote via le tube

TEMPS (jours) (1)	Turricules secs/cadre (g) (2)	Moyenne turricules/ cadre/jour (3) (g)	N^t $mg.g^{-1}ms$ (4)	C^t $mg.g^{-1}ms$ (5)	E% (6)	^{15}N turricules $mg.g^{-1}ms$ (7)	^{15}N turricules/ cadre (8) (mg)	^{15}N apporté/ cadre(mg) (9)	%^{15}N de turricules/ ^{15}N apporté (10)	N^t sol $mg.g^{-1}ms$ (11)
3	123,37	53,44	2,86	90,71	0,104	0,003	0,37	43,00	0,86	1,79
10	108,54		3,00	91,59	0,084	0,003	0,27	45,46	0,59	1,86
16	93,44		2,87	86,48	0,236	0,007	0,65	51,60	1,25	1,59
24	81,53		2,79	89,13	0,200	0,006	0,49	48,59	1,01	1,67
33	104,70		2,85	88,03	0,120	0,003	0,31	51,84	0,60	1,78
41	-		-	-	-	-	-	46,41	-	1,68
48	129,72		2,34	84,14	0,127	0,003	0,39	44,60	0,90	1,53

Tableau 4.4: ^{15}N issu des lombriciens et retrouvé dans les turricules.

Les valeurs sont exprimées en $mg.g^{-1}$ ms de turricules.
Les quantités collectées représentent la masse de deux jours.

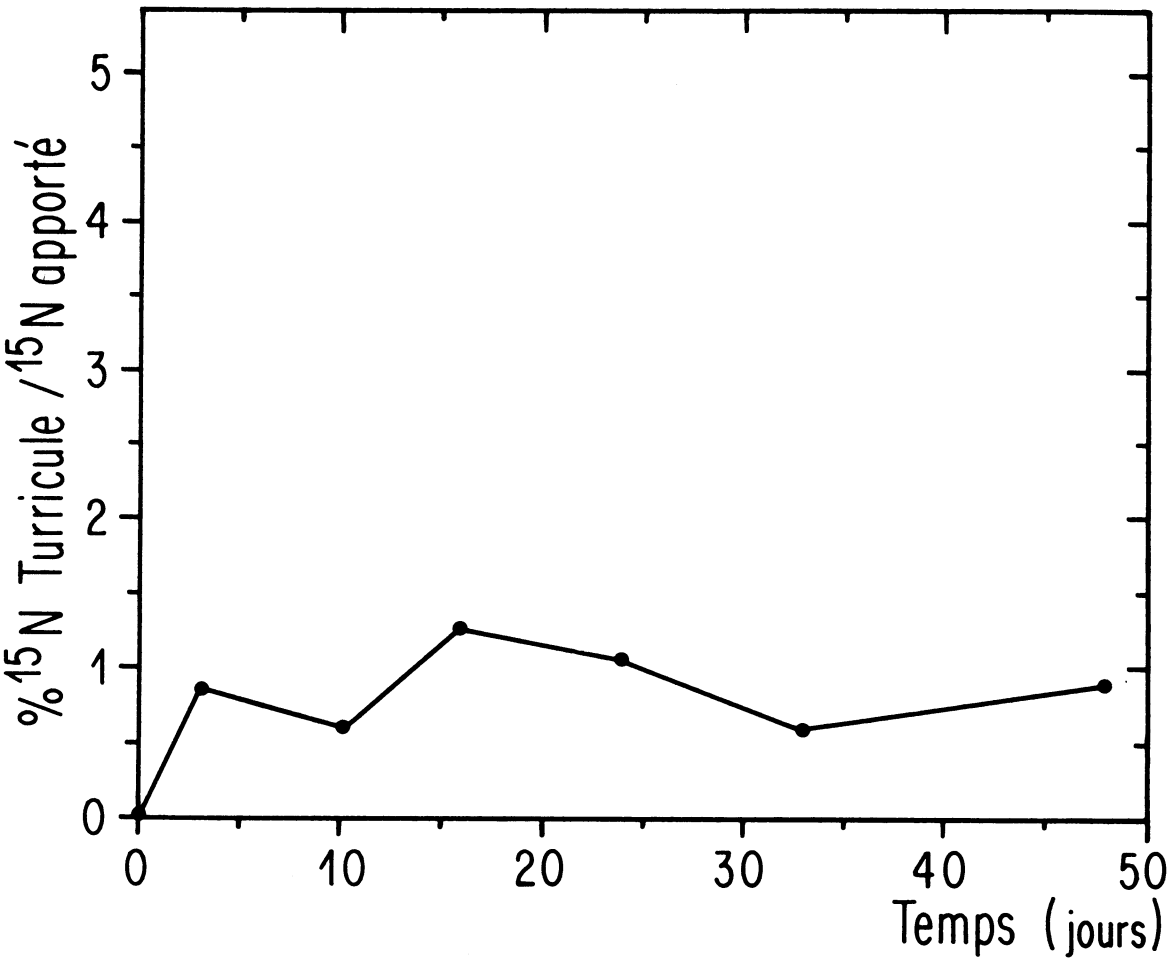

Figure 4.5: Pourcentage d'azote 15 d'origine lombricienne retrouvé, *in situ*, dans la totalité des turricules (les turricules ont été récoltés systématiquement deux jours avant les prélèvements). Les pourcentages sont exprimés par rapport à l'azote 15 amené par les lombriciens dans chaque cadre.

	^{15}N corporel début d'expérience	^{15}N corporel fin d'expérience	Différence (=émanation)	Emanation via turricules	Emanations via turricules/ émanation totale
N. longus	998,46	59,57	938,89	15,74	1,68 %
L. terrestris	189,43	39,52	149,91	10,37	6,92 %

Tableau 4.5: Etats du ^{15}N corporel, exprimé en mg ^{15}N, en début et en fin d'expérience (la durée est différente soit 39 jours pour *N. longus* et 47 jours pour *L. terrestris*). Calcul des émanations totales et des émanations via le tube digestif.

Les données de *N. longus* sont rapportées à 1 g d'azote 15 corporel, celles de *L. terrestris* à 15,62 g de lombricien mph, soit 189,43 mg $15N.m^{-2}$.

digestif. Cette excrétion, environ 4 fois supérieure chez *Lumbricus terrestris*, témoigne d'une destinée différente des excrétats - notamment une part sensiblement plus importante de l'azote est intimement mélée aux fèces, futurs grumeaux. Cela permettrait une stimulation de l'activité microbienne dans ces structures et favoriserait la "séquestration" par voie microbienne des éléments biogènes selon l'hypothèse n°4 (cf. 3.2.3). Il faut cependant ne pas oublier que les turricules ne représentent qu'une partie des fèces et que la fraction déféquée serait double ou triple.

Remarquons, avant de clore ce paragraphe de comparaison des résultats, que les conditions d'activité globale des lombriciens (introduites ou non) dans les cadres, conduisent, à Lavérune, à une production élevée de turricules (213,9 $g.m^{-2}.jour^{-1}$) pauvres en azote (2,79°/oo) par comparaison aux résultats obtenus à Cîteaux (respectivement 119,6 $g.m^{-2}.jour^{-1}$ et 9,26°/oo).

Nous interprèterons ces faits en conclusion.

CHAPITRE V

CONCLUSION GENERALE

5.1. Introduction

L'etude conduite avait une problématique générale: celle de la compréhension des mécanismes de transfert de l'azote dans le sol. Il s'agissait de mieux cerner les modalités de minéralisation et de stockage de cet élément dans divers compartiments organiques et minéraux, sous les effets des actions biologiques, végétales, animales et microbiennes.

Cette problématique n'est pas nouvelle, mais présente des difficultés d'étude telles que la compréhension des phénomènes mis en cause mérite d'être encore largement précisée.

Pour ce faire, nous avons pratiqué l'utilisation d'isotopes, de modèles et la comparaison de dynamiques ou de cinèses en mettant en oeuvre, à la fois, l'activité animale, deux types de litière, les végétaux et les microorganismes.

Cette problématique a donc visé plus particulièrement à:

1) Développer un modèle physique (=microcosme) permettant une expérimentation relativement contrôlée et portant sur les changements d'état des principaux compartiments évoqués ci-dessus.

2) Suivre le devenir de l'azote concrètement, grâce à l'utilisation de ^{15}N.

3) Ajuster les fonctions (=modèles mathématiques) de changement d'état pour, si possible, mesurer les transferts (débits) entre compartiments.

4) Valider les résultats vis-à-vis des systèmes écologiques, c'est à dire vis-à-vis **du réel**, en s'efforçant d' en permettre l'interpolation.

Nous avons présenté ces diverses approches au cours de ce travail en distinguant, étape par étape, les modalités expérimentales de laboratoire et de terrain.

Nous allons donc maintenant reprendre ces éléments en privilégiant, d'abord les conclusions générales pour ensuite, éventuellement, focaliser sur des processus spécifiques.

5.2. Modélisations, validations et interpolations

De très nombreux travaux, portant sur l'azote, comparent globalement les effets de l'apport de cet élément sur les végétaux, notamment à des fins agronomiques. D'autres recherches étudient spécifiquement au laboratoire des mécanismes physiologiques ou des interactions au niveau du rôle des sols, des microorganismes, des plantes, ou, moins fréquemment des animaux.

D'un côté, des connaissances globales analysent sans maîtriser les mécanismes sous-jacents, de l'autre, une description des processus, sans connaître leur intensité et leurs régulations dans les systèmes écologiques.

Depuis quinze ans environ, l'importance de la modélisation est reconnue pour tendre à rapprocher ces deux pratiques qui devraient être complémentaires. Un modèle physique (microcosme ou dispositif expérimental contrôlé au laboratoire) accompagné de modèles mathématiques (ajustements, systèmes modélisés) visent alors à mimer un système réel. Encore faut-il que la validation du modèle soit effectuée vis-à-vis de la réalité. Cette opération, permettant seule d'apprécier la valeur des concepts et faits mis en oeuvre dans le modèle, constitue le moyen de s'assurer de la qualité des acquis synthétisés.

Cette nécessaire modélisation a été présentée, pour les écosystèmes prairiaux par Gounot et Bouché (1974). Elle attire l'attention sur la nécessité d'une **stratégie de recherche**, visant à réduire le nombre de paramètres nécessaires pour permettre de rentabiliser l'investissement toujours important d'une modèlisation écologique. La valeur d'un modèle se juge alors, non seulement sur sa **réfutabilité** (= aptitude à être validé), mais aussi sur sa **transposabilité** (= aptitude à être réutilisé). Cet article souligne notamment les hypothèses d'alors, en ce qui concerne les lombriciens.

1) Possibilité de considérer comme quasi-identique les activités des lombriciens de la même catégorie écologique (= même mode de vie).

2) Possibilité d'indexer cette activité au prorata de la biomasse présente en divers lieux.

3) Possibilité de considérer qu'en ces différents lieux, les activités saisonnières se compensent en limitant le niveau du peuplement.

Satchell (1963) a effectué une première estimation du rôle des lombriciens dans le cycle de l'azote en se fondant sur les travaux de physiologie de Needham (1957) extrapolé à l'estimation d'un peuplement lombricien. Reichle et al., (1973), illustrant l'intérêt d'une approche systémique de la modélisation, présente un modèle quantitatif du taux de décomposition attribué aux vers de terre. Mais Bouché (1977) devait souligner la nécessité de développer des méthodes de mesure *in situ* pour valider de telles estimations.

La mise en oeuvre du double marquage (coloration + isotope) (cf. 4.2.1 et 4.2.2) a permis d'effectuer cette opération.

Si Ferrière (1986) a pu effectuer une première manipulation permettant la comparaison d'une mesure au terrain et d'une estimation au laboratoire, nous avons étendu, dans ce travail, ces mesures à des animaux d'un **autre lieu** et d'un **autre genre** mais de la même catégorie écologique.

Les 81 mesures de rapport isotopiques effectuées par Ferrière et nous-même sont "résumées" par les moyennes des états isotopiques à chaque date,

puis par les fonctions mathématiques d'ajustement entre les dates d'une même expérience, ce qui permet le calcul **d'une** dérivée à chaque expérience.

Nous comparons, en fonction des températures moyennes de laboratoire ou de sol au terrain (-15 cm), les débits d'azote dans la figure 5.1 (p.137). Les quatre expérimentations portent sur deux espèces, deux conditions expérimentales (laboratoire et terrain) et deux milieux différents (Lavérune , Hérault et Cîteaux, Côte d'Or), enfin deux saisons différentes (respectivement septembre/octobre et avril/mai). Malgré cela, nous observons une remarquable coïncidence des débits qui ne dépendent que d'un $Q_{10}=1,65$ (rappelons que le Q_{10} est le coefficient multiplicateur d'une activité physiologique observée pour une augmentation de la température de 10°C).

Il y a ainsi:

1) Validation des microcosmes *versus* terrain

2) Validation de l'identité fonctionnelle d'animaux phylogénétiquement différents (deux genres) mais ayant convergés vers le même mode de vie (même catégorie écologique)

3) Validation de l'hypothèse d'interpolation des résultats entre localités éloignées

4) Acquisition de la connaissance écophysiologique du Q_{10} des lombriciens anéciques.

Il n'est cependant pas prouvé que ces mesures de débits, tout à fait comparables dans le cas des anéciques, soient valables aussi dans le cas des espèces endogées. L'unique mesure effectuée sur les endogés (Barois et al., 1987) montre que le taux de renouvellement est beaucoup plus lent que pour les anéciques, à moins que l'importance de l'excrétion intestinale signalée par ces auteurs ne soit suivie de réassimilation. De toute façon, le renouvellement ayant été très lent, le marquage initial de cet endogé (*Pontoscolex corethrurus*) n'est certainement que partiel.

Les mécanismes observés au niveau du métabolon lombricien, dans les microcosmes, apparaissent ainsi comme identiques à ceux intervenant *in situ*. Par contre, l'étude des interactions entre les compartiments litière, sol, lombricien, microorganismes et plantes n'avait pas encore été entreprise. Nous l'avons effectuée d'une part, au niveau de diverses expériences en microcosmes et, d'autre part, par l'observation de l'assimilation d'azote d'origine lombricienne *in situ*. Nous allons en dégager les principaux résultats.

Dans le cycle de l'azote considéré ici, on peut schématiquement distinguer deux étapes:

1) L'élaboration de molécules organiques azotées; cette synthèse nécessitant du carbone réduit qui, globalement est fourni par la photosynthèse.

2) La dégradation de molécules organiques azotées qui libère l'azote sous forme minérale ; c'est la minéralisation.

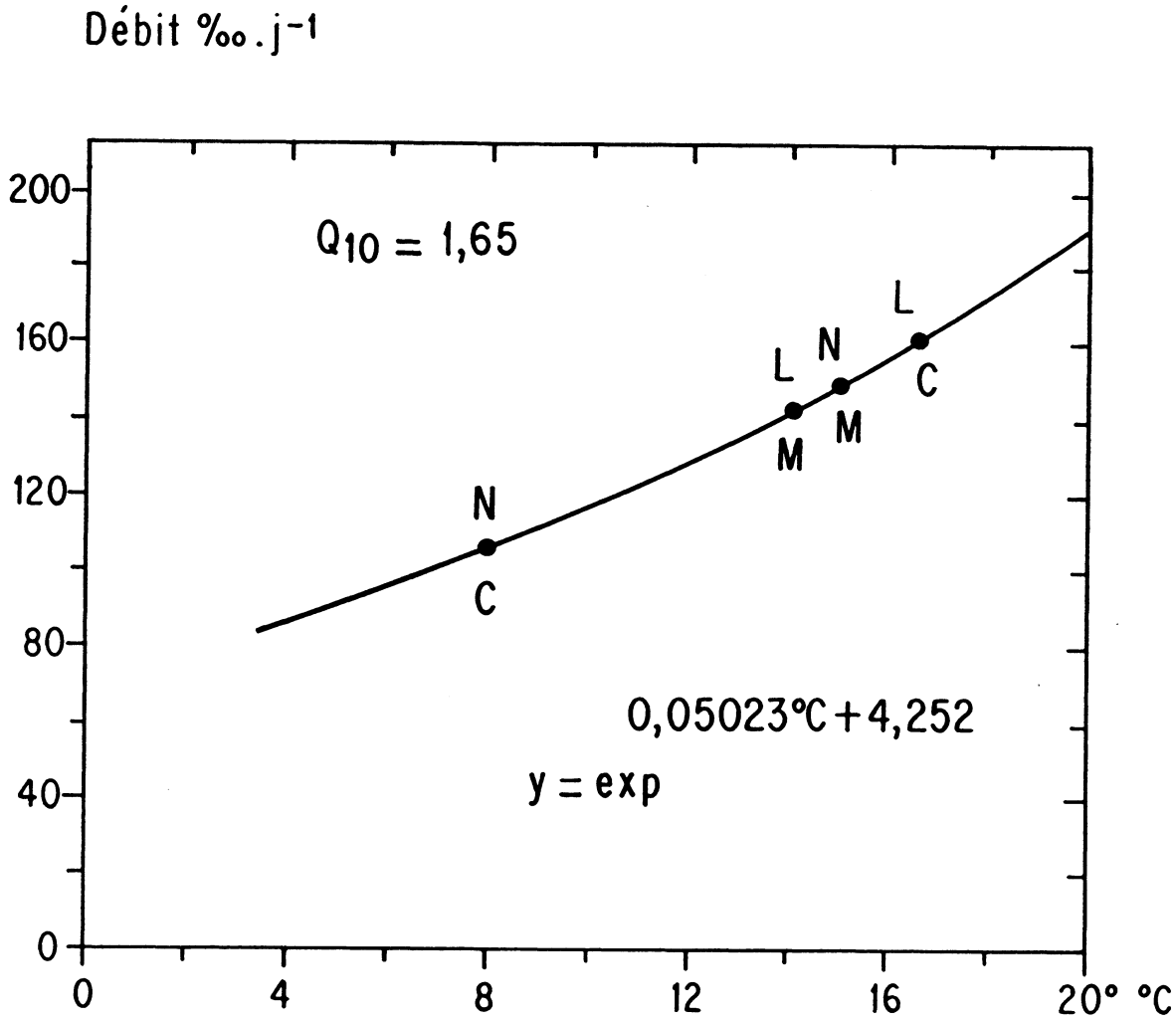

Figure 5.1: Ajustement des débits d'azote, observés au champ (C) et en microcosmes (M) sur *Lumbricus terrestris* (L) et *Nicodrilus longus longus* (N), en fonction de la température. Ces quatre débits résultent de l'ajustement de fonctions, entre autres prouvées aux figures 3.12 et 4.3. En tout, ces quatre débits sont fondés sur 81 mesures d'enrichissement isotopique au ^{15}N.

Nous allons, dans cette conclusion, reprendre le cycle de l'azote en le suivant depuis la plante, où s'effectue l'essentiel des synthèses, vers le système sol puis du système sol, où s'effectue la minéralisation, vers la plante (Figure 5.2; p.139).

5.2.1. Du végétal au système sol: Rôle des litières

Nous avons introduit, dans les microcosmes, l'azote organique synthétisé par la plante en créant deux types de litière. L'une est obtenue à partir de ray-gras (*Lolium perenne*) récolté jeune (C/N 9,5), l'autre à partir de la même plante récoltée à matûrité (C/N 42,6). Ces plantes ont été cultivées en présence ou en absence de ^{15}N, selon le type d'expérience.

Le choix d'une différenciation sur la base du C/N tient au fait que, classiquement, les litières à bas C/N sont les plus appétentes pour les lombriciens.

L'apport de litière s'est effectué en suivant le rythme d'enfouissement des lombriciens.

Les *Lumbricus terrestris* anéciques utilisés ont la particularité de pouvoir enfouir de la litière sans l'ingérer ou/et d'effectuer une ingestion directe. A notre étonnement, ils ont utilisé ces deux modalités (A, Fig 5.2) en enfouissant, sans ingestion, la litière que nous croyions la plus appétente (C/N 9,5) mais qui, en fait, ne l'était pas probablement à cause de l'accumulation des nitrates vacuolaires, et (B, Figure 5.2; p.139) en enfouissant par ingestion la litière à C/N 42,6.

Remarquons que les litières choisies, pour éviter de changer d'espèce végétale, ont conduit à fournir directement à un décomposeur des parties végétales jeunes qui, usuellement ne lui parviennent qu'après sénescence ou herbivorie; Il y a donc eu introduction d'un déphasage vis-à-vis de l'enchaînement naturel des évènements.

5.2.2. Du système sol au végétal: Disponibilité des éléments et activité microbienne

Dans les types de modèle (microcosmes) que nous avons développés, le lien du végétal au système-sol reflète directement les options retenues à savoir le choix des lombriciens, des litières et la fréquence des apports. A l'inverse, le lien entre le système-sol (comprenant le sol, les lombriciens, les microorganismes et l'interface racine-sol) et les plantes reflète, dans notre étude, le fonctionnement spontané du modèle ou de la prairie.

Les microcosmes nous ont montré initialement une croissance végétale normalement stimulée par l'abondance de l'apport de litière et par l'activité

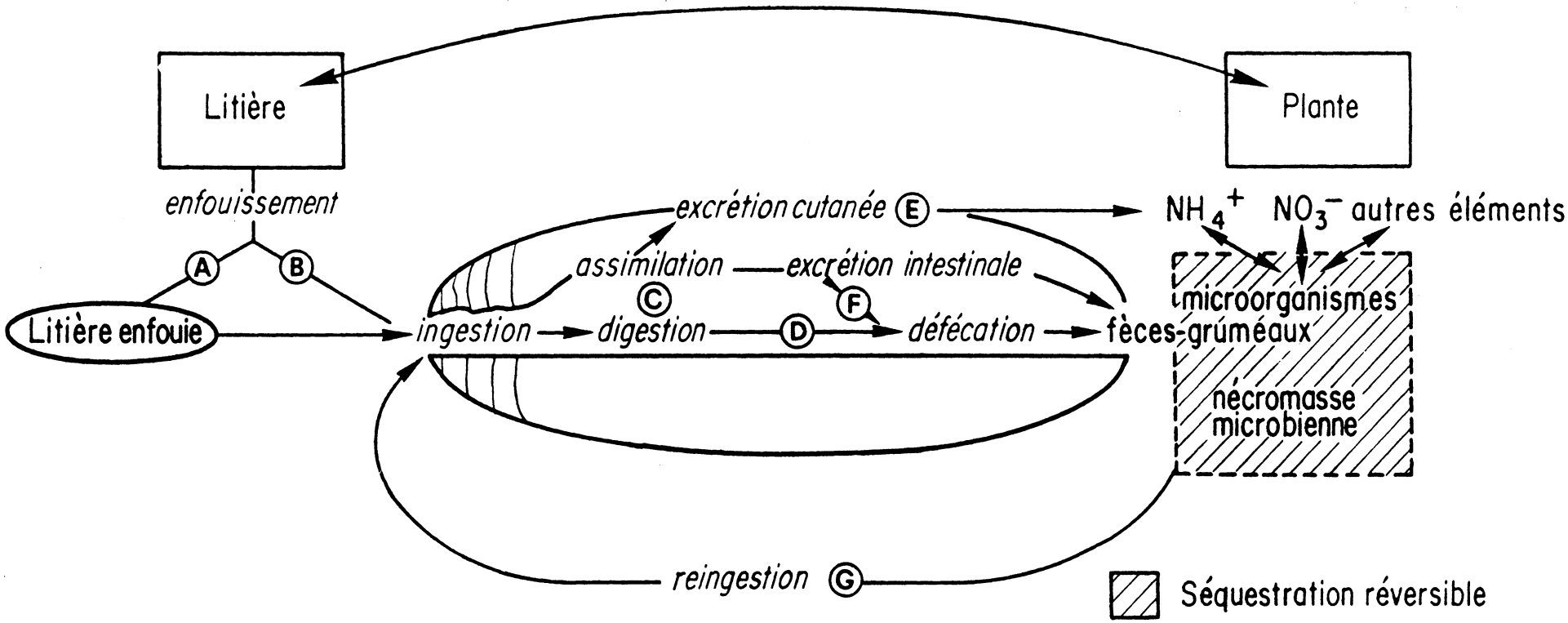

Figure 5.2: Schéma général des mécanismes litière-plante via les lombriciens

La litière est enfouie et déposée (A) ou directement ingérée (B). Au cours de la digestion, une fraction d'azote est assimilée (C) ou non (D). Le métabolisme lombricien aboutit à une excrétion azotée soit cutanée (E) soit intestinale (F). Les formes d'azote déféquées (D+F) sont aussi incluses dans les grumeaux où les microorganismes peuvent produire une nécromasse séquestrante. L'azote excrété (E) fournit de l'ammonium éventuellement nitrifié. Ammonium et nitrates et autres éléments biogènes sont assimilés par deux ensembles en compétition: plantes et microorganismes. En conditions non limitantes pour les microorganismes, cette compétition joue en leur faveur. Ce mouvement est réversible. Cette inversion est tributaire de la minéralisation microbienne éventuellement accélérée par la réingestion des fèces-grumeaux (G).

lombricienne. Très vite cette observation, qui correspondait aux hypothèses initiales, s'est inversée; il y a eu inhibition relative de la croissance végétale en présence de quantités importantes d'azote et d'activité lombricienne intense. Simultanément, la richesse tissulaire des végétaux en ^{15}N, provenant de la litière, et en N non marqué provenant de la minéralisation dans le sol, a augmenté. Ce n'est donc pas une absence d'assimilation de cet élément qui est en cause. On observe effectivement une grande disponibilité de l'azote dans le sol sous forme de NO_3^-, notamment aux 21ème et 49ème jour selon le type de microcosme. Ultérieurement ces NO_3^- sont régulièrement résorbés. Nous avons montré que cette résorption était due au système-sol, très probablement par une active production de nécromasse microbienne "séquestrant" cet azote sous forme organique.

Comment expliquer ce phénomène de croissance inhibé d'autant plus fortement que la teneur en nitrates est importante?

Nous avons été conduit à proposer quatre hypothèses.

Deux d'entre elles (broutage des racines par les lombriciens et investissement énergétique lié à l'assimilation de NH_4^+) n'expliquent que partiellement l'ensemble des résultats en microcosmes.

Deux autres, générales, font appel soit à une inhibition physiologique de la plante par un processus corrélé aux observations, soit à une séquestration dans la nécromasse microbienne (Figure 5.2; p.139), simultanément à l'azote nitrique, d'un ou de plusieurs éléments biogènes devenant, de ce fait, indisponibles pour les plantes.

Dans ces conditions, loin de stimuler la croissance végétale, les lombriciens semblent accroître l'inhibition provoquée par l'excès de NO_3^- en induisant une séquestration par la biomasse microbienne.

L'introduction de vers de terre, en microcosmes dépourvus de lombricien mais ayant une végétation développée devenue "stagnante" (123ème jour), déclenche une stimulation notable de la végétation et, en aucun cas, une inhibition.

En absence d'une accumulation nitrique antérieure, le rôle direct des animaux est vérifié. Il se confirme d'ailleurs, qu'après un certain délai, la biostimulation apparaît dans les microcosmes où l'inhibition avait été la plus marquée. Tout se passe comme si l'activité lombricienne, après avoir induit un blocage, lève celui-ci après un laps de temps important (113+42=155 jours).

L'observation des mécanismes de transfert au champ nous apporte, à cet égard, une information interessante: l'azote excrété par *Lumbricus terrestris* l'est, de façon sensible, par voie intestinale (F, Figure 5.2; p.139) contrairement à ce qui est établi pour *Nicodrilus longus longus*.

Dans ces conditions, les fèces qui contiennent, d'une part, les résidus carbonés énergétiques non assimilables car peu biodégradables après un premier transit intestinal, et d'autre part l'azote excrété, constituent un milieu favorable à une incubation microbienne. Mais la microflore ne va utiliser ce milieu qu'après un certain délai, temps nécessaire à l'induction d'un arsenal enzymatique diversifié. Ceci expliquerait que, dans les microcosmes, après une accumulation initiale de NO_3^-, les microorganismes assimilent cet azote puis produisent une nécromassse "séquestrante" au niveau des ex-fèces se transformant en grumeaux. Ultérieurement, ces grumeaux incubés, sont réingérés par les animaux (G, Figure 5.2; p.139). Cette dernière étape expliquerait la levée du blocage observé par les microcosmes après 155 jours de culture: dans ces dispositifs, la diminution de l'enrichissement en ^{15}N des animaux décroît faiblement, ce qui témoigne d'une assimilation de molécules non marquées provenant du sol mais aussi de composés marqués issus des fèces.

Cette dérivation de l'azote par la voie intestinale, donc dans des grumeaux qui ne sont pénétré qu'ultérieurement par les racines, expliquerait, au moins pour partie, la relative lenteur du transfert entre azote lombricien et plantes au champ par comparaison avec *Nicodrilus longus longus*. En effet, cette espèce excrète pratiquement la totalité de son azote par voie cutanée (E, Figure 5.2; p.139) directement sur le chevelu racinaire des plantes tapissant leurs galeries.

5.2.3. Modélisation: déphasage et ajustement

Comme nous l'avons indiqué en début de cette conclusion, la modélisation est le moyen de rapprocher les observations globales des interprétations de mécanismes sous-jacents en replaçant ces derniers dans leur contexte réel - à condition que les modèles soient validés.

Dans notre cas, outre les modèles conceptuels qui nous ont servi de base à la modélisation, nous avons mis en oeuvre des modèles physiques (microcosmes) et mathématiques (ajustements). La modélisation étant un processus continu d'approximations successives, ces outils se sont avérés, à la fois, comme des moyens d'exploration de nouveaux mécanismes et comme des outils d'interprétation. Par ailleurs, elle permet de vérifier la validation de quelques hypothèses de travail et intervient au niveau de la transposition des résultats.

Comme nous l'avons déjà indiqué, les divers ajustements mathématiques permettent de calculer les débits nous conduisant à une représentation unique de cette fonction *versus* la température. Ceci semble s'appliquer au compartiment anécique quelque soit la transposition sur le milieu, l'espèce ou la modalité d'observation (terrain/microcosme). Ces ajustements confirment également que la physiologie des lombriciens se

comporte comme si deux compartiments la régulaient, car on retrouve toujours le meilleur ajustement avec une double exponentielle (confrontation des résultats de Dietz in Bouché et al., (1987), de Ferrière (1986) et de Samih (1988)).

Toutefois, ceci ne reflète que le métabolisme mais non les voies d'excrétion. Nous sommes conduits à substituer à l' excrétion quasi exclusivement cutanée observée sur *Nicodrilus longus longus*, une représentation à deux voies, à la fois cutanée et intestinale pour *Lumbricus terrestris*.

L'assimilation, au terrain, de l'azote lombricien représente la même fonction dans les deux terrains expérimentaux qui peuvent être comparés (Lavérune et Cîteaux). Mais le transfert quasi-direct, qui résultait des travaux de Ferrière (1986), n'est pas confirmé dans notre cas. Si le modèle lombricien est confirmé et généralisé, le modèle de transfert lombricien-plante nécessitera une diversification en tenant compte, au moins, des voies physiologiques lombriciennes et des modalités de réorganisation de l'azote, comme l'indiquent nos travaux en microcosmes, mais aussi peut-être des morphologies fonctionnelles végétales, comme l'illustre le rapport P_a/P_r des prairies; ces morphologies pouvant, à la manière des catégories écologiques lombriciennes, constituer des approches morphofonctionnelles de l'écophysiologie prairiale.

L'exploration des modalités de transferts en microcosmes a révélé des phénomènes imprévus du fait des options de mise en oeuvre. Ce sont surtout des déphasages qui ont permis de révéler des étapes de transferts usuellement non observables.

Le fait d'avoir introduit des lombriciens dans les microcosmes où la végétation n'était pas en place (en fin de germination) a entraîné une activité minéralisatrice lombrico-microbienne disproportionnée par rapport aux possibilités assimilatrices du système sol-plante; ceci étant amplifié par l'importance de la biomasse animale introduite. Dès lors, il en a résulté une accumulation temporaire d'azote minéral.

En outre, le C/N de la litière riche (9,5) et surtout, semble-t'il, la présence de nitrates vacuolaires abondants a entraîné un desquilibre temporel des fonctionnements par rapport au schéma logique escompté. Ce déséquilibre est observable successivement dans les divers compartiments concernés. D'abord, on a observé un retard à l'assimilation de ^{15}N par les lombriciens, ensuite une accumulation spectaculaire de nitrates puis, très probablement, une accumulation de nécromasse microbienne "séquestrante" et enfin une libération des éléments biogènes entraînant une nette reprise de la croisance végétale.

En définitive, du point de vue de la pratique des modèles, il était impossible initialement d'introduire des lombriciens dans un système végétal

pré-équilibré en présence de lombriciens. Il s'agit là d'une limite à la pratique de ces dispositifs.

Par contre, les déséquilibres induits par la litière ou l'excès de lombriciens s'avèrent finalement comme un excellent moyen d'exploration des microcosmes. Leur observation nous a conduit à émettre des hypothèses nouvelles qui mériteraient des études plus spécifiques. Ainsi, celles relatives, d'une part, à la possibilité de broutage des racines par les lombriciens (ou les seuls *Lumbricus*) et, d'autre part, à l'assimilabilité ou la séquestration d'éléments biogènes sous influence lombricienne, pourraient être vérifiées et conduites à l'aide de microcosmes dérivant de ceux mis en oeuvre dans notre travail.

Résumé

Grâce à l'utilisation des techniques de marquage (coloration et ^{15}N), nous avons pu suivre, en serre et au champ, le transfert d'azote vers les plantes , en présence ou non de lombriciens (*Lumbricus terrestris* L.).

L'originalité de ce travail réside, d'une part, dans la quantification des changements d'état d'un système complet comprenant différents compartiments (sol, microorganismes, lombriciens, plantes) et d'autre part, dans la mesure et la validation au champ des débits d'émanation d'azote de *Lumbricus terrestris* L.

Pour ce faire, deux types d'expérience ont été entreprises; l'une, en microcosmes, en serre, nous a permis de quantifier et de suivre les transferts de l'azote de deux litières de C/N différents (9,5 et 42,6); l'autre de mesurer, au champ, les débits d'azote d'origine lombricienne et la part assimilée, *in situ*, par la prairie.

Dans nos conditions expérimentales, en serre, nous avons obtenu plusieurs résultats interessants:

1) Dans les microcosmes ayant reçu de la litière riche en azote (C/N 9,5), les proportions d'azote d'origine litière retrouvées dans les plantes sont très proches en présence ou en absence de lombricien (respectivement 18,2% et 19,8%). Par contre, dans les microcosmes ayant reçu de la litière pauvre en azote (C/N 42,6), cette proportion est toujours supérieure en présence de lombriciens (17,9% contre 14,5% sans ver de terre).

2) Quel que soit le type de litière, les lombriciens favorisent toujours l'assimilation de l'azote par les plantes tout en limitant leur production.

Ce dernier résultat peut paraître paradoxal puisqu'on connait le rôle bénéfique des lombriciens au niveau de la croissance des plantes et du rendement des cultures.

Pour expliquer ces observations, nous avons été conduits à proposer quatre hypothèses.

Deux d'entre elles (broutage des racines par les lombriciens et investissement énergétique liée à l'assimilation de NH_4^+) n'expliquent que partiellement l'ensemble des résultats en microcosmes.

Deux autres, générales, font appel soit, à une inhibition physiologique de la plante, soit à une séquestration dans la nécromasse microbienne, simultanément à l'azote nitrique, d'un ou de plusieurs éléments biogènes devenant, de ce fait, indisponibles pour les plantes. Dans ces conditions, loin de stimuler la croissance végétale, les lombriciens semblent accroître l'inhibition provoquée par l'excès de NO_3^- en induisant une séquestration par la biomasse microbienne.

Cependant, nous avons observé, en serre, une biostimulation des plantes par les lombriciens. En effet, dans les microcosmes dans lesquels ont été **introduits** les vers de terre, on constate un redémarrage de la croissance végétale, stagnante jusque là. Parallèlement, dans les microcosmes où les

animaux avaient été **maintenus**, on remarque une augmentation de la production végétale allant dans le sens d'un déblocage des éléments biogènes après reconsommation des turricules par les lombriciens. Tout se passe comme si l'activité lombricienne, après avoir induit un blocage, lève celui-ci après un certain laps de temps.

Dans un but de validation des résultats de laboratoire vis-à-vis des systèmes écologiques en place, la seconde partie de ce travail a été réalisée au champ, sous prairie permanente non perturbée.

Le double marquage des lombriciens (coloration et ^{15}N), leur réintroduction dans le milieu naturel et leur recapture à intervalles prédéterminés pendant 48 jours d'expérience, nous ont permis (1) de valider au terrain, compte tenu du Q_{10}, les débits d'azote d'origine lombricienne observés au laboratoire (14,2% par jour à 14°C. et 16,1% par jour au terrain à 16,5°C.) et (2) de quantifier l'azote émané par les animaux (80%) et réassimilé par les plantes (23% de l'azote corporel initial).

Nous nous sommes ensuite inspiré de deux hypothèses antérieures:

1) La catégorie écologique des anéciques constitue un ensemble fonctionnellement cohérent

2) Il est possible d'interpoler des résultats obtenus, par catégorie, dans des localisations différentes au prorata des biomasses lombriciennes actives.

Pour tester ces deux hypothèses nous avons rapproché nos résultats des deux débits d'azote obtenus antérieurement, l'un au laboratoire, l'autre dans une prairie permanente de Bourgogne avec un autre anécique, *Nicodrilus longus longus* (Ude).

Les quatre débits actuellement établis pour les lombriciens se sont avérés identiques, proportionnellement à la biomasse, et ne dépendent que de la température avec un Q_{10} de 1,65.

Ceci (1) permet d'établir un Q_{10} écophysiologique et (2) valide vis-à-vis de ces débits:

a) L'interpolation entre stations sur la base d'estimation des biomasses lombriciennes,

b) L'interpolation entre espèce lombricienne, de deux genres différents, à l'intérieur des anéciques,

c) Les microcosmes utilisés comme modèles qui miment les systèmes réels.

BIBLIOGRAPHIE

ABBOTT, I & C.A. PARKER, (1981) - Interactions between earthworms and their soil environment. *Soil Biol. Biochem.*, **13**, 191-197.

ALDAG, R. & O. GRAFF, (1975) - Einfluss der Regenwurmtätigkeit auf Proteingehalt und Proteinqualität junger Haferpflanzen. *Z. landwirtschaft. Forsch.*,**31**, 277-284.

ANDERSON, J.P.E. & K.H. DOMSCH, (1978) - A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.*, **10**, 215-221.

AVEL, M., (1929) - Recherches expérimentales sur les caractères sexuels somatiques des lombriciens. *Bull. Biol. Fr. Bel.*, **63**, 149-318.

BAROIS, I., B. VERDIER, P. KAISER, A. MARIOTTI, P. RANGEL, P. LAVELLE (1987) - Influence of the tropical earthworm *Pontoscolex corethrurus* (Glossoscolecidae) on the fixation and mineralization of nitrogen. In *On Earthworms*, (A.M. Bonvici Pagliari and P. Omodeo, Eds), pp 151-158. Selected Symphosia and Monographs, UZI, 2 Mucchi Modena.

BENOIT, R.E., R.L. STARKEY & J. BASARABA, (1968) - Effect of purified plant tannins on decomposition of some organic compounds and plant material. *Soil Sci.*, **105**, 153-158.

BHATNAGAR, T., (1975) - Lombriciens et humification: un aspect nouveau de l'incorporation microbienne d'azote induite par les vers de terre. In *Humification et Biodégradation*, Kilbertus et al., (Pierron ed.), Sarreguemines, 169-182.

BILLES, G. & P. BOTTNER, (1981) - Effet des racines vivantes sur la décomposition d'une litière racinaire marquée au ^{14}C. *Plant and Soil*, **62**, 193-208.

BLANCKE, E. & F. GIESECKE, (1924) - The effect of earthworms on the physical and biological properties of soil. *Z. PflanzErnähr. Dung. Bodenkund.*, **3**, 198-210.

BOLTON, P.J. & J. PHILLIPSON, (1976) - Energy equivalents of earthworms, their egesta and a mineral soil. *Pedobiol.*, **16**, 443-450

BOLTON, P.J. & J. PHILLIPSON, (1976) - Burrowing, feeding, egestion and energy budgets of *Allolobophora rosea* (Savigny)(Lumbricidae). *Oecologia* (Berl.), **23**, 225-245.

BOTTNER, P. & F.R. WAREMBOURG, (1976) - Method for simultaneous measurement of total and radioactive carbon in soils, soil extract and plant material. *Plant and soil*, **45**, 273-277.

BOUCHE, M.B., (1969) - Comparaison critique de méthodes d'évaluation des populations de lombricidés. *Pedobiol.*, **9**, 26-34.

BOUCHE, M.B., (1971) - Relations entre les structures spaciales et fonctionnelles des écosystèmes, illustrés par le rôle pédobiologique des vers de terre. In *La vie dans les sols*, (Gauthiers-Villard Eds.), pp 187-209, P. Pesson, Paris.

BOUCHE, M.B., (1972) - In *Lombriciens de France*, Ecologie et Systématique, (INRA Eds). *Ann. Zool. Ecol. Anim.*, NS, **72-2**, pp 1-671.

BOUCHE, M.B., (1975) - Action de la faune sur les états de la matière organique dans les écosystèmes. In *Humification et Biodégradation*, Kilbertus et al., pp 157-168. (Pierron ed.), Sarreguemines.

BOUCHE, M.B., (1977) - Fauna in the grassland ecosystem: rôle of earthworms. In *Anonymous*. Department of Zoologie. Orientation and means; presentation of some research projects. Publ.INRA, Ministry of Agriculture, France, 21-23.

BOUCHE, M.B., (1978) - Discussion d'écologie. III. Transfert d'énergie entre maillons trophiques. *Bull. Ecol.*, **9**, 289-299.

BOUCHE, M.B., (1980) - L'interprétation morphologique des lombriciens: un commentaire de l'évaluation numérique de R.W. Sims. *Pedobiol.*, **20**, 4, 227-229.

BOUCHE, M.B., (1982) - Ecosystème prairial. Un exemple d'activité animale: Le rôle des lombriciens. *Acta Oecol., Oecol. Gen.*, **3**, 127-154.

BOUCHE, M.B., (1984) - Une méthode de mesure du débit d'éléments dans un sol non perturbé: azote et carbone des lombriciens (Lumbricidae, Annelida). *Pedobiol.*, **27**, 197-206.

BOUCHE, M.B., (sous presse) - Ecologie opérationnelle assistée par ordinateur, (Masson Ed.).

BOUCHE, M.B. & M. GOUNOT, (1974) - Modélisation de l'écosystème prairial. Objectifs et méthodes. *Bull. Ecol.*, **5**, 309-338.

BOUCHE, M.B., Z. RAFIDISON & F. TOUTAIN, (1983) - Etude de l'alimentation et du brassage pédo-intestinal du lombricien *Nicodrilus Velox* (Annelida, Lumbricidae) par l'analyse élémentaire. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **20**, 49-75.

BOUCHE, M.B. & G. FERRIERE, (1986) - Cinétique de l'assimilation de l'azote d'origine lombricienne par une végétation prairiale non perturbée. *C. R. Acad. Sci.*, Paris, **302**, III, (2), 75-80.

BOUCHE, M.B., G. FERRIERE & P. SOTO, (1987) - The rôle of earthworms in the decomposition and nitrogen nutrition of plants in a grassland. In *On Earthworms*, (A.M. Bonvici Pagliari and P. Omodeo, Eds), pp 113-129. Selected Symphosia and Monographs, UZI, 2 Mucchi Modena.

BRATTSTEN, L.B., (1979) - Biochemical defense mechanisms in herbivores against plant allelochemicals. In *Herbivores-Their Interaction with secondary Plant Metabolites* (G.A. Rosenthal and D.H. Jansen,Eds), pp 200-270. Academic Press London.

BROKES, P.C., J.F. KRAGT, D.S. POWLSON & D.S. JENKINSON, (1985) - Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: The effect of fumigation time and temperature. *Soil Biol. Biochem.*, **17**, 831-835.

BROOKES P.C., A. LANDMAN, G. PRUDEN & D.S. JENKINSON, (1985) - Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **17**, 837-842.

CASIMIR, D.G., (1982) - Ecosystème prairial. *Acta Oecologica, Ecol. Gener.*, 3,1,1-220.

CHAUSSOD, R., B. NICOLARDOT & G. CATROUX (1986) - Mesure en routine de la biomasse microbienne des sols par la méthode de fumigation au chloroforme. *Science du Sol*, **2**, 201-211.

CLARKSON, D.T. & A.J. WARNER, (1979) - Relationships berween root temperature and the transport of ammonium and nitrate ions by italian and perennial ryegrass (*lolium multiflorum* and *lolium perenne*). *Plant Physiol.*, **64**, 557-561.

COOKE, A., (1983) - The effects of fungi on food selection by *Lumbricus terrestris* L. In *Earthworms Ecology from Darwin to Vermiculture* (J.E. Satchell ed.), pp 365-373. Chapman and Hall, London.

COOKE, A. & M. LUXTON, (1980) -. Effects of microbes on food selection by *Lumbricus terrestris*. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **17**, 365-370.

CORTEZ, J. & M. SCHNITZER, (1979) - Purines and pyrimidines in soil and humic substances. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, **43**, 958-961.

CORTEZ, J. & M.B. BOUCHE, (1987) - Composition chimique du mucus cutané de *Allolobophora chaetophora chaetophora* (oligochaeta: Lumbricidae). *C. R. Acad. Sci.*, Paris **305**, III, (6), 207-210.

CORTEZ, J., G. BILLES & P. BOTTNER, (1985) - The isotopic composition of the soil microbial biomass and of adenine and guanine isolated from soil incubated with ^{14}C- and ^{15}N-labelled plant material: Comparison with fumigation method. *Soil Biol. Biochem.*, **17**, 773-778.

CORTEZ, J. & R. HAMEED, (1988) - Effets de la maturation des litières de ray-gras (*Lolium perenne* L.) dans le sol sur leur consommation et leur assimilation par *Lumbricus terrestris* L. *Rev.Ecol. Biol. Sol*,(sous presse).

CORTEZ, J., R. HAMEED & M.B. BOUCHE, (1989) - C and N transfer in soil with or without earthworms fed with ^{14}C- and ^{15}N- labelled wheat straw litter. *Soil Biol. Biochem.*, **21**, 491-497.

CROSSLEY, D.A., D.E. REICHLE & C.A. EDWARDS, (1971) - Intake and turnover of radioactive cesium by earthworms (Lumbricidae). *Pedobiol.*, **23**, 263-265.

DARWIN, C., (1881) - *The formation of vegetable mould through the action of worms, with observations of their habits*. pp 1-338. Murray, London.

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

DREIDAX, L., (1931) - Investigations on the importance of earthworms for plant growth. *Arch. Pflanz.*, **7**, 413 -467.

DIETZ, S., (1979) - Etude de l'incorporation de la litière en système herbacé à l'aide de matériel végétal marqué au ^{14}C. Thèse de doctorat 3ème cycle, option Ecologie terrestre. USTL, Montpellier, 1-76.

DOMMERGUES, Y., (1968) - Dégagement tellurique de CO_2. Mesure et signification. Rapport général. *Ann. Inst. Pasteur*, **115**, 4, 627-656.

DOMMERGUES, Y. & F. MANGENOT, (1972) - *Ecologie microbienne du sol.* Masson, Paris.

DUVIGNAUD, P., (1974) - *La synthèse écologique. Populations, Communautés, Ecosystèmes. Biosphère, Noosphère,* (Doin Ed.), Paris.

EDWARDS, C.A. & J.R. LOFTY, (1972) - *Biology of Earthworms.* Chapman and Hall, London.

EDWARDS, C.A. & J.R. LOFTY, (1978) - The influence of arthropods and earthworms upon root growth of direct drilled cereals. *J. Appl. Ecol.*, **15**, 789-795.

EDWARDS, C.A & G.W. HEATH, (1975) - Studies in leaf litter breakdown. III. The influence of leaf age. *Pedobiol.*, **15**, 403-408.

EHLERS, W., (1975) - Observations on earthworm channels and infiltration on tilled and untilled loess soil. *Soil Sci.*, **119**, 242-249.

EL DUVWEINI, A.K. & S.I. GHABBOUR, (1971) - IV Colloquium Pedobiologiae, *Inst. Nat. Rech. Agric.*, Paris, 495-501.

FERRIERE, G., (1986) - Mouvements naturels des éléments dans une prairie: Quantification des échanges d'azote entre lombriciens, sol et plante. Thèse d'Etat. Université de Lyon I, 1-148.

FERRIERE, G. & M.B. BOUCHE, (1985) - Première mesure écophysiologique d'un débit d'élément dans un animal endogé: le débit d'azote de *Nicodrilus longus longus* (Ude) (Lumbricidae, Oligochaeta) dans la prairie de Citeaux. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, **301**, (III):789-794.

GRAFF, O., (1971) - Stickstoff, Phosphor und Kalium in der Regenwurmlosung auf der Wiesenversuchsflache des Sollingprojecktes. IV Colloquium Pedobiologiae, (J. d'Aguilar Ed.), pp. 503-511. *Inst. Nat. Rech. Agric.*, Publ. **71-7**,Paris.

GRAFF, O. & F. MAKESCHIN, (1980) - Beeinflussung des Ertrags von Weidelgras (*Lolium multiflorum*) durch Ausscheidungen von Regen würmer dreier verschiedener Arten. *Pedobiol.*, **20**, 176-180.

GUIRAUD, G. & J.C. FARDEAU, (1980) - Détermination isotopique par spectrométrie optique de composés faiblement enrichis en azote 15. *Analysis*, **8**, 148-152.

HAMEED, R., J. CORTEZ & M.B. BOUCHE, (1987) - Interactions entre états de la matière organique et organismes du sol: Approche expérimentale. *XIII Congrès A.I.S.S.*, Hambourg, **5**:157-166.

HARTENSTEIN, R., (1982) - Effect of aromatic compounds, humic acids and lignins on growth of the earthworm *Eisenia fetida*. *Soil Biol. Biochem.*, **14**, 595-599.

HEIDET, J.C. & M.B. BOUCHE (sous presse) - Régulation de l'activité lombricienne: influence de la température, de la photopériode et de l'humidité *in situ* sur la mobilité de *Nicodrilus longus longus* (Ude)(Lombricidae, oligochaeta). In *C.R. Xème Coll. Int. Zool. Sol* (1988).

HOPP, H. & C.S. SLATER, (1948) - Influence of earthworms on soil productivity. *Soil Sci.*, **66**, 421-428.

HOPP, H. & C.S. SLATER, (1949) - The effect of earthworms on the productivity of agricultural soil. *J. Agric. Res.*, **78**, 325-339.

JENKINSON, D.S., (1966) - The use of isotopes in soil organic matter studies. The priming action. *J. Appl. Radiat. Isotopes*, suppl., Pergamon, Oxford. 199-208.

JENKINSON, D.S., (1966) - Studies on the decomposition of plant material in soil. II. Partial sterilization of soil and the soil biomass. *J. Soil Sci.*, **17**, 280-302.

JENKINSON, D.S., (1976) - The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. IV. The decomposition of fumiigated organisms in soil. *Soil Biol. Biochem.*, **8**, 203-208.

JENKINSON, D.S. & D.S. POWLSON, (1976) - The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.*, **8**, 209-213.

JENKINSON, D.S. & J.N. LADD, (1981) - Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In *Soil Biochemistry*, vol. 5, (E.A. Paul et J.N. Ladd Eds.), pp. 415-471, Dekker, New-York.

JOSHI, N.V. & B.V. KELBAR, (1952) - The rôle of earthworms in soil fertility. *Indian J. Agric. Sci.*, **22**, 189-196.

KAPLAN, D.L., R. HARTENSTEIN & E.F. NEUHAUSER, (1980) - Coprophagic relations among the earthworms *Eisenia foetida*, *Eudrilus eugeniae* and *Amynthas spp. Pedobiol.*, **20**, 74-84.

KRISHNAMOORTHY, R.V., (1985) - Nitrogen contribution by earthworm populations from grassland and woodland sites near Bangalore, India. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **22**, 463-472.

KRIVOLUTSKY, D., V. TURCANINOVA & Z. MIKHALTSOVA, (1982) - Earthworms as bioindicators of radioactive soil pollution. *Pedobiol.*, **23**, 263-265.

KURCHEVA, G.F., (1960) - Role of invertebrates in the decomposition of oak litter. *Soviet Soil Sci.*, **4**, 360-365.

LAMPARSKI, F., (1985) - Der Regenwurm *Lumbricus badensis*. Seine Wohnröhre, seine Verbreitung und sein Einfluss auf die Böden in Südschwarzwald. *Diss. Doktorg. Geowissenschaftl.* Fak. Freiburg i. Br., 1-327.

LANGMAID, K.K., (1964) - Some effects of earthworm invasion in virgin podzols. *Canad. J. Soil Sci.*, **44**, 34-37.

LAVELLE, P., (1977) - Bilan energétique des populations naturelles du ver de terre géophage *Millsonia anomala* (Oligochètes-Acanthodrilidae) dans la savanne de Lamto (Côte d'ivoire). *Geo. Eco. Trop.*, **1**, (2), 149-157.

LAVELLE, P., (1987) - Interactions, hiérarchies et régulations dans le sol: A la recherche d'une nouvelle approche conceptuelle. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **24**, 219-229.

LAVELLE, P., J. KANYONYO & P. RANGEL, (1983) - Intestinal mucus production by two species of tropical earthworms: *Millsonia anomala* (Megascolecidae) and *Pontoscolex corethurus* (Glossoscolidae). In *New Trends in Soil Biology* (Ph. Lebrun et al., Eds.), Dieu-Brichant, Louvain-la-Neuve, 405-410.

LAVERACK, M.S., (1963) - The Physiology of earthworms. Int. Ser. *Monographs on Pure and Appl. Biol. Zool.*, **15**, Pergamon, Oxford.

LEE, K.E., (1983) - The influence of earthworms and termites on soil nitrogen cycling. In *New Trends in Soil Biology*, Proc. 8th Intl Colloquium Soil Zool., Louvain-la-Neuve, 1982.

LEE, K.E., (1985) - Physical effects on soil. In *Earthworms.Their Ecology and relationship with soils and land use*, pp. 173-199, Academic Press, London.

LOQUET, M., (1974) - Etude de l'activité microbiologique d'une prairie permanente: Le Haras du Pin. Comparaison avec les turricules de vers. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, **11**, 47-65.

LOQUET, M., T. BHATNAGAR, M.B. BOUCHE & J. ROUELLE, (1977) - Essai d'estimation de l'influence écologique des lombriciens sur les microorganismes. *Pedobiol.*, **17**, 400-417.

MACFADYEN, A., (1963) - Contribution of the microfauna to total soil metabolism. In *Soil Organisms* (J. Doeksen and J. van der Drift, Eds), pp. 3-17. North Holland Publishing Company, Amsterdam.

MALDAGUE, M.E., (1979) - Rôle des animaux édaphiques dans la fertilité des sols forestiers. *Publ. Inst. Nat. Etude Agron. Congo* Ser. Sci. No 112.

MALDAGUE, M.E., & G. COUTURE, (1972) - Utilisation des litières radioactives par *Lumbricus terrestris. C.R. IV coll. Pedobiologiae*, Dijon, Sept. 1970, INRA Ed., Ann. Zool., Ecol. Anim., **71-7**.

MARTIN, A., J. CORTEZ, I. BAROIS & P. LAVELLE, (1987) - Les mucus intestinaux de ver de terre: moteur de leur interaction avec la microflore. *Rev. Ecol. Biol. Sol*, **24**, 549-558.

MAZAUD, D., (1979) - Evaluation de méthodes de marquage permettant le repérage des lombriciens au terrain; premières applications. *Thèse docteur-ingénieur sciences agronomiques*, INA, Paris, 1-178.

MEINHARDT, U., (1976) - Dauerhafte Markierung von Regenwürmen durch ihre Lebendfärbung. *Nach. Deut. Pflanzenschutzd.*, **28**, 84-86.

MICHON, J., (1954) - Contribution expérimentale à l'étude de la biologie des Lumbricidae. Les variations pondérales au cours des différentes modalités du développement postembryonnaire. *Thèse Doct. Etat*, Fac. Sci. Univ. Poitiers, 1-192.

MONNIER, G., (1965) - Action des matières organiques sur la stabilité structurale des sols. *Thèse Doct. Etat*, Fac. Sci. Univ. Paris, ed. INRA, Paris, 1-140.

MULLER, P.E., (1884) - Traduction française en 1889: Recherches sur les formes naturelles de l'humus. *Ann. Sci. agron. fr. etrang.*, **1**, 1-351.

NEEDHAM, A.E., (1957) - Components of nitrogenous excreta in the earthworms *Lumbricus terrestris* and *Eisenia fetida* (Savigny). *J. Exp. Biol.*, **34**, 425-446.

NEKRASOVA K.A., L.S. KOZOLOVSKAYA, L.I. DOMRACEA & E.A. SHTINA, (1976) - The influence of invertebrataes on the developpement of algae. *Pedobiol.*, **16**, 256-297.

NELDER, J.A. & R. MEAD, (1965) - *The computer journal*, **7**, 308-313.

NICOLARDOT, B., G. GUIRAUD, R. CHAUSSOD & G. CATROUX, (1986) - Minéralisation dans le sol de matériaux microbiens marqués au carbone 14 et à l'azote 15: Quantification de l'azote de la biomasse microbienne. *Soil Biol. Biochem.*, **18**, 263-273.

O'BRIEN, B.J. & J.D. STOUT, (1978) - Movement and turnover of soil organic matter as indicated by carbon isotope measurements. *Soil Biol. Biochem.*, **10**, 309-317.

ODUM, E.P., (1959) - *Fundamentals of Ecology* (2nd Edition), Saunders Eds., Philadelphia, 1-546.

PARLE, J.N., (1963,a) - Microorganisms in the intestines of earthworms. *J. Gen. Microbiol.*, **31**, 1-11.

PARLE, J.N., (1963,b) - Microbiological study of earthworms casts. *J. Gen. Microbiol.*, **31**, 13-22.

PORTER, L.K., (1975) - In *Soil Biochemistry*, 4, (E.A. Paul and A. Douglas McLaren, Eds), pp 1-30. Dekker, New-York.

RAW, F., (1959) - Estimating earthworms population by using formalin. *Nature* (London), **184**, 1661-1665.

REICHLE, D.E., R.V. O'NEIL, S.V. KAYE, P. SOLLINS & Ray E. BOOTH, (1973) - Systems analysis as applied to modeling ecological processes. *Oikos*, **24**, 337-343.

RHEE VAN, J.E., (1963) - Earthworm activities and the breakdown of organic matter in agricultural soils. In *Soil organisms* (J.Doeksen and J. van der Drift,Eds),pp. 55-59. North Holland Publishing Company, Amsterdam.

RICHARDS, K.S., (1978) - Epidermis and cuticle. In *Physiology of Annelids*, (P.J. Mill Ed.), pp 33-61, Academic Press, London.

RITTENBERG, D., D.W. WILLSON, A.D. NIER & P.C. RIEMAN, (1948) - In *Preparation and Measurements of Isotopic Tracers* pp. 123-188. Doin-Derez, Paris.

SALZAC, L, S. CHAILLOU, J.F. MOROT-GAUDRY, C. LESAINT & E. JOLIVET, (1987) - Nitrate and ammonium nutrition in plants. *Plant Physiol. Biochem.*, **25**, 805-812.

SAMIH, M., (1988) - Quelques problèmes spécifiques à la programmation non linéaire: application à des problèmes écologiques. Thèse doctorat de Spécialité, Math. pure et appl., USTL, Montpellier.

SATCHELL, J.E., (1958) - Earthworm biology and soil fertility. *Soil and Fert.*, **21**, 209-219.

SATCHELL, J.E., (1963) - Nitrogen turnover by a woodland population of *Lumbricus terrestris* L. In *Soil organisms* (J. Doeksen and J. van der Drift, Eds), pp. 60-66. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.

SATCHELL, J.E., (1967) - Lumbricidae. In *Soil Biology* (A. Burges and F. Raw,Eds),pp. 259-322. Academic Press, London.

SATCHELL, J.E., (1969) - Methods of sampling earthworms populations. *Pedobiol.*, **9**, 20-25.

SATCHELL, J.E. & D.G. LOWE, (1967) - Selection of leaf litter in *Lumbricus terrestris*. In *Progress in soil Biology* (O. Graff and J.E. Satchell,Eds),pp. 102-119. North Holland Publishing Company, Amsterdam.

SATCHELL, J.E., (1974) - Litter-interface of animate/unanimate matter. Introduction. In *Biology of plant litter decomposition* (C.H. Dickinson and J.F. Puch, Eds), Vol. 1, pp 1-146. Academic Press, Oxford.

SHARPLEY, A.N., J.K. SYERS & J.A. SPRINGETT, (1979) - Effect of surface-casting on the transport of phosphorus and nitrogen in surface runoff from pasture. *Soil Biol. Biochem.*, **11**, 459-462.

SHIPITALO, M.J., R. PROTZ & A.D. TOMLIN, (1988) - Effect of diet on the feeding and casting activity of *Lumbricus terrestris* and *L. rubellus* in laboratory culture. *Soil Biol. Biochem.*, **20**, 233-237.

SLATER, C.S. & H. HOPP, (1947) - Relation of fall protection to earthworm populations and soil physical conditions. Proceedings. *Soil Sci. Soc. Amer.*, **12**, 508-511.

STOCKDILL, S.M.J. & G.G. COSSENS, (1969) - Earthworms, a must for maximum production. *New Zeal. J. Agr.*, **119**, 61-67.

STÖCKLI, A., (1928) - Studien über den Einfluss des Regenwürmes auf Beschaffenheit des Bodens. *Landwirtschaft Jahrb. Schweiz*, **42**, 1-121.

SYERS, J.K., A.N. SHARPLEY & D.R. KEENEY, (1979) - Cycling of nitrogen by surface-casting earthworms in a pasture ecosystem. *Soil Biol. Biochem.*, **11**,181-185.

SYERS, J.K. & J.A. SPRINGETT, (1983) - Earthworm ecology in grassland soils. In *Earthworm ecology, from Darwin to vermiculture* (J.E. Satchell Ed.), pp 67-83. Chapman and Hall London.

TEMIROV, T. & B. VALIAKHMEDOV, (1988) - Influence of earthworms on fertility of high altitude desert soil in Tajikistan. *Pedobiol.*, **32**, 293-300.

TILLINGHAST, E.K., (1967) - Excretory pathways of ammonia and urea in the earthworms *Lumbricus terrestris* L. *J. Exp. Zool.*, **166**, 295-300.

WATERS, R.A.S., (1951) - Earthworms and the fertility of pasture. *Proc. 13th Conf. N.Z. Grassl. Assoc.*,New-Plymouth, 168-175.

WRIGHT, M.A., (1972) - Factors governing ingestion by the earthworm *Lumbricus terrestris* with special reference to apple leaves. *Ann. Appl. Biol.*, **70**, 175-188.