



EXEMPLAIRE RÉSERVE

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

R. HAMEED, M. B. BOUCHE et J. CORTEZ\*

Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive, CEPE Louis Emberger, route de Mende, B.P. 5051,  
 34033 Montpellier Cedex, France

(Accepté le 16 septembre 1993)

**Résumé**—Dans le but de valider des résultats de laboratoire *vis-à-vis* des systèmes écologiques, l'étude du transfert de l'azote d'origine lombricienne vers les plantes a été réalisée sous prairie permanente non perturbée. Le double marquage de lombricien (*Lumbricus terrestris* L.), par coloration et  $^{15}\text{N}$ , leur réintroduction dans le milieu naturel et leur recapture à intervalles préétablis 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 (24% de l'azote corporel initial).

Les auteurs ont ensuite essayé de vérifier deux hypothèses:

- (1) La possibilité d'interpoler les résultats entre les diverses espèces de la catégorie écologique des anéciques;
- (2) La possibilité d'interpoler les résultats entre des localisations différentes au *pro rata* des biomasses lombriciennes actives.

Pour tester ces deux hypothèses les deux débits d'azote déterminés sur *L. terrestris* ont été comparés aux deux débits obtenus antérieurement sur un autre anécique, *Nicodrilus longus longus* (Ude), l'un au laboratoire et l'autre dans une prairie permanente de Bourgogne. 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 a permis d'établir un  $Q_{10}$  écophysiological, de vérifier les deux hypothèses d'interpolations spatiales et entre espèces énoncées ci-dessus et enfin de valider les microcosmes utilisés comme modèles mimant les systèmes réels.

Enfin l'ensemble des résultats confirme l'importance quantitative des lombriciens dans le cycle de l'azote.

**Summary**—*In situ* validation of the nitrogen flow through *Lumbricus terrestris* L. was carried out in an undisturbed natural grassland. This validation was possible thanks to the double labelling of earthworms (coloration +  $^{15}\text{N}$ ) followed by reintroduction in the field and by a series of recaptures of earthworms for 48 days. Concurrently the nitrogen flow through *Lumbricus terrestris* L. was measured in the laboratory. Taking into account the  $Q_{10}$ , nitrogen flows were similar in the field (16.1% a day at 16.5°C) and in the lab (14.2% a day at 14°C). Over a period of 48 days 80% of the earthworms' body nitrogen was excreted into the soil and 24% was taken up by plants. The authors compared the nitrogen flow through another anecic earthworm (*Nicodrilus longus longus*, Ude) with that measured through *Lumbricus terrestris*. They showed that the nitrogen flow values were very similar, taking into account the earthworms' biomass, and depended on the temperature only (with  $Q_{10} = 1.65$ ). These results allowed validation in the field, in various sites and with two earthworms species, the nitrogen flow measured in microcosms.

## INTRODUCTION

Dans un article précédent (Hameed *et al.*, 1994), nous avons mesuré, au laboratoire, le débit d'émanation de l'azote corporel de *Lumbricus terrestris* L. (de 13,6 à 14,2 mgN jour<sup>-1</sup>). Ces résultats, ayant été obtenus en microcosmes, ne peuvent être considérés comme directement applicables en milieu naturel. C'est l'essai de validation *in situ* qui fait l'objet du présent article.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

*Expression des résultats*

Les abréviations suivantes sont utilisées: N<sup>t</sup> et C<sup>t</sup> = azote et carbone total; mps = masse sèche, tube digestif plein; mph = masse humide, tube digestif plein;  $^{15}\text{N-E}\%$  = Enrichissement en  $^{15}\text{N}$ .

*Station expérimentale*

Les coordonnées géographiques de la station de Lavérune sont les suivantes: Latitude, 48,42 gr.; Longitude, 1,642 gr.; Altitude, 20 m. Le sol de la station est un sol brun sous prairie permanente. Sa

\*A qui toute correspondance doit être adressée.

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 9,4; pH (H<sub>2</sub>O) 6,7. La température du sol est enregistrée en continu. L'humidité du sol est mesurée régulièrement (Fig. 1).

#### Protocole expérimental

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 <sup>15</sup>N → Au laboratoire
- Lâcher des lombriciens <sup>15</sup>N → Au champ
- Recapture des lombriciens <sup>15</sup>N → Au champ
- Diverses opérations (nettoyage pesée, préparation) → Au laboratoire
- Analyse isotopique <sup>15</sup>N → Au laboratoire

#### Compartiments étudiés

<sup>15</sup>N d'origine lombricienne a été suivi à chaque date de prélèvement dans les compartiments suivants: (1) lombricien, (2) turricules et (3) végétation (parties aériennes (P<sub>a</sub>) et racinaires (P<sub>r</sub>)). La mesure du <sup>15</sup>N dans le sol, qui correspond en fait au compartiment de transfert de l'azote lombricien vers les plantes, n'a pas été effectuée du fait de la trop grande dilution isotopique de l'azote dans le sol. Un calcul théorique simple montre que si la totalité de l'azote apporté par

les animaux (environ 45 mg de <sup>15</sup>N) passait intégralement dans le compartiment sol (contenant environ 170 g de N<sup>t</sup>), <sup>15</sup>N-E% maximal serait de l'ordre de 0,026%, <sup>15</sup>N-E% nettement inférieur aux possibilités du spectromètre optique (non fiable au dessous de 0,1%).

#### Caractéristiques des lombriciens

La technique de recueil des animaux et leurs caractéristiques sont décrites en détail dans Hameed *et al.* (1994).

#### Coloration des lombriciens

Pour récupérer les vers de terre marqués au <sup>15</sup>N et relâchés sur le terrain, il est nécessaire de pouvoir les repérer aisément. Or le marquage au <sup>15</sup>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 utilisée, basée sur la technique de Meinhardt (1976) a été mise au point par Mazaud (D. Mazaud, Thèse Ingénieur-docteur, Université Paris, 1979). 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 min (Mazaud, *loc. cit.*). Cependant ayant remarqué que la température et l'humidité de l'air ambiant jouent un rôle non négligeable sur le temps de dessèchement des animaux, nous avons laissé les lombriciens se déshydrater pendant des temps variant de 5-8 min. Les vers de terre déshydratés sont ensuite

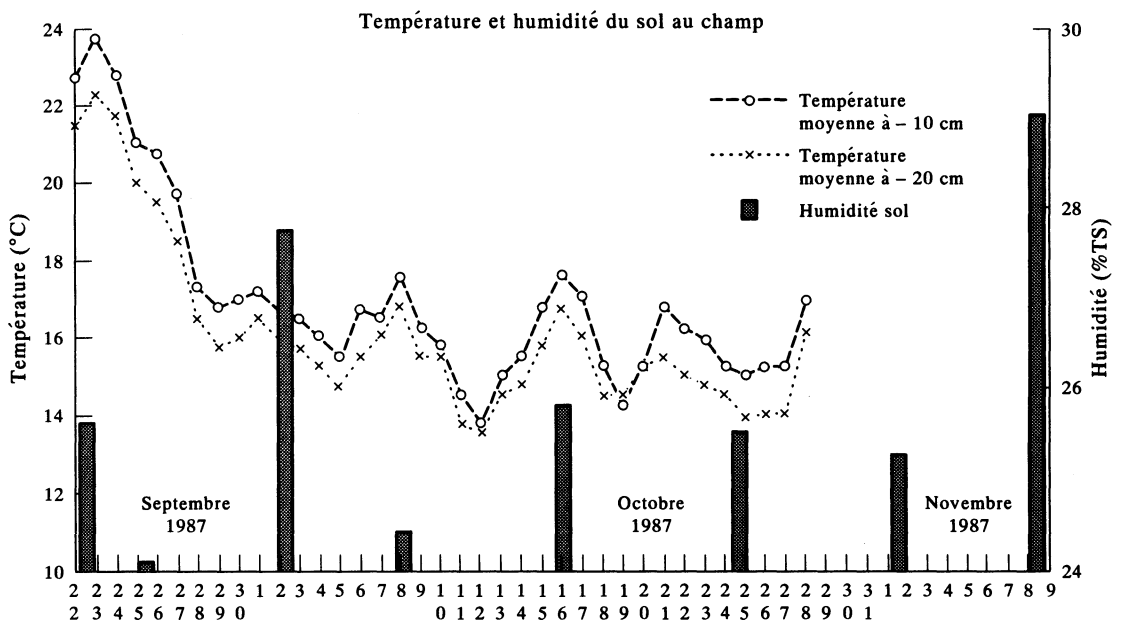


Fig. 1. Températures (-10 cm et -20 cm) et humidité du sol mesurées au terrain pendant la durée de l'expérience. Pour des raisons d'ordre technique, les températures n'ont pas été enregistrées en fin d'expérience.

disposés sur un panier grillagé que l'on immerge dans une solution colorante de vert menthe E ( $p/v = 1/10$ ) (Dragoco S.A.R.L., 13 rue Madeleine Michaelis, 95522, Neuilly-sur-seine) pendant 30s. Les vers sont ensuite égouttés et mis à sécher sur papier filtre jusqu'à apparition de signes de faiblesse chez les animaux. Ce temps de séchage est primordial car la pénétration du colorant en dépend. En effet, Mazaud (*loc. cit.*) 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 boîtes d'élevage contenant du sol que l'on maintient à pF 3 (98 Pa) et à 14°C pendant quelques jours, pour leur permettre de se réhydrater correctement et de retrouver leur condition optimale d'activité.

#### Marquage des lombriciens au $^{15}\text{N}$

Ferrière et Bouché (1985) sur *Nicodrilus longus* et Hameed *et al.* (1994) sur *L. terrestris* ont montré que, en conditions d'élevage favorables, ces vers de terre renouvellent la quasi-totalité de leur C et de leur azote en 40 jours. 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 condition, les lombriciens au stade sub-adulte ont été placés dans des bacs d'un sol provenant de la station d'origine de Lavérune, en conditions d'élevage favorables (14°C et pF = 3 soit 98 Pa), et nourris pendant 2 mois environ par apport de feuilles séchées de *L. perenne* enrichies à 40% en  $^{15}\text{N}$  (les détails de la culture de *Lolium perenne* L. en solution nutritive enrichie en  $^{15}\text{N}$  sont exposés dans Hameed *et al.*, 1994).

#### Lâcher in situ des lombriciens marqués au $^{15}\text{N}$

Après coloration et marquage au  $^{15}\text{N}$ , les vers de terre ont été nettoyés à l'eau et pesés. Leur poids moyen frais, par individu, tube digestif plein, était de  $3,905 \text{ g} \pm 0,260$  ( $n = 28$ ). Ils ont ensuite été relâchés sur le terrain par groupe de 4 à la surface de parallélépipèdes métalliques (50 cm de côté et 30 cm de hauteur) ouverts sur les faces supérieures et inférieures, et enfoncés dans le sol depuis plus d'une année, ce qui a permis de travailler sur un milieu peu perturbé dans lequel le réseau racinaire avait repris sa place. Au moment du lâcher, les lombriciens ont été recouverts d'un peu de terre pour éviter un dessèchement trop rapide et ont été protégés des prédateurs, notamment des oiseaux, par un filet qui recouvrait les cadres.

#### Collecte des turricules

Les turricules frais (déposés pendant deux jours) ont été collectés pendant toute la durée de l'expérience. Pour ce faire, deux jours avant chaque date de prélèvement, tous les turricules déjà déposés

ont été écrasés afin de ne recueillir que la production récente au moment du prélèvement. Les turricules récoltés ont été transportés au laboratoire, séchés à l'étuve à 70°C pendant 24 heures, pesés et analysés ( $\text{N}^t$  = azote total,  $^{15}\text{N}$ ).

#### Récolte des plantes

D'après la fonction mathématique ajustée par Ferrière (G. Ferrière, Thèse d'Etat, Université de Lyon, 1986), les dates optimales d'échantillonnage ont été préétablies par Samih (M. Samih, Thèse de Spécialité, université de Montpellier, 1988). Après 3, 10, 16, 24, 33, 41 et 48 jours d'expérience, les lombriciens et les parties aériennes et racinaires des plantes ont été prélevées. La récolte des parties aériennes a été subdivisée en quatre fractions représentant chacune 1/4 de la surface des cadres métalliques. Elles ont ensuite été séchées à 70°C pendant 36 h et pesées.

Pour les parties racinaires, le bloc de terre, contenu dans le parallélépipède métallique, a été 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  $(\text{NaPO}_3)_6$  et de 31 de formol. Ces produits ont été ajoutés respectivement pour la dispersion des colloïdes du sol et le blocage de la décomposition microbienne. Après 48 h, le mélange a été fragmenté manuellement puis passé au tamis (mailles de 0,6 mm). Les racines et les parties aériennes résiduelles ont été séparées, séchées à 70°C pendant 36 h et pesées avant dosage du C, N<sup>t</sup> et  $^{15}\text{N}$ .

#### Recapture in situ des lombriciens marqués au $^{15}\text{N}$

La recapture des lombriciens s'est effectuée d'abord par un retrait à la bêche de la totalité du sol intérieur aux cadres, sur une profondeur de 30 cm. Cette opération a été suivie d'une récupération manuelle des lombriciens marqués au  $^{15}\text{N}$  et repérés par leur coloration. Puis, dans le cas où les quatre 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 recapter des animaux ayant migré plus en profondeur. La totalité des lombriciens a été retrouvée sauf dans trois cas (aux jours 3, 33 et 41) où l'ensemble des *Lumbricus terrestris* capturés ont été analysés. Les vers de terre de chacun des cadres ont été nettoyés, pesés puis ébouillantés pendant 30s puis disséqués pour recueillir l'endentère, et séchés à l'étuve à 70°C.

#### Méthodes analytiques

Les méthodes d'analyse sont décrites dans Hameed *et al.* (1994).

## RESULTATS ET DISCUSSION

Le passage de l'azote lombricien aux plantes se fait via le sol, notamment grâce à l'activité microbienne. Nous avons mesuré, aux différentes dates, l'azote lombricien dans quatre compartiments: les

Tableau 1. Evolution, au cours du temps, de l'azote d'origine lombricienne

Temps (jours)	Pds frais (1)	Pds (sec) (2)	N <sub>i</sub> (3)	E% initial (4)	<sup>15</sup> N <sub>a</sub> (5)	<sup>15</sup> N <sub>r</sub> (6)	<sup>15</sup> N <sub>r</sub> / <sup>15</sup> N <sub>a</sub> (7)
3	14,180	3,57	54,81	22	43,00	NR	—
10	15,005	3,77	54,81	22	45,46	18,41	40,50
16	17,015	4,28	54,81	22	51,60	17,06	33,06
24	16,030	4,03	54,81	22	48,59	15,27	31,42
33	17,110	4,30	54,81	22	51,84	NR	—
41	15,300	3,85	54,81	22	46,41	NR	—
48	14,700	3,70	54,81	22	44,60	9,88	22,15

Les colonnes (1) et (2) sont exprimées en g, tube digestif plein (mps = masse sèche, tube digestif plein; mph = masse humide, tube digestif plein); Rapport masse sèche/masse fraîche = 25,15%.

La colonne (3) est exprimée en mg g<sup>-1</sup> mps.

Les colonnes (4) (= Enrichissement initial en <sup>15</sup>N) et (7) (= Rapport <sup>15</sup>N retrouvé/<sup>15</sup>N initial) sont exprimées en %.

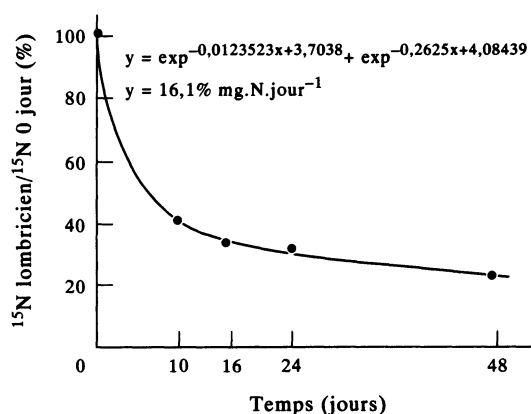
Les colonnes (5) (= masse <sup>15</sup>N apportée/cadre) et (6) (= masse <sup>15</sup>N retrouvée/cadre) sont exprimées en mg/cadre.

NR = non retrouvé.

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. Dans une précédente expérience, au laboratoire, nous avons montré que le compartiment Lombricien perd de l'azote jusqu'au dernier jour de l'expérience (Hameed *et al.*, 1994). En raison de la proportion importante d'azote lombricien non retrouvé dans les plantes en fin d'expérience (23,7% de <sup>15</sup>N assimilé par les plantes après 48 jours), nous pouvons déduire l'existence d'un compartiment de transfert de l'azote des lombriciens aux plantes. Sachant que les pertes par lessivage et par dénitrification sont négligeables (Ferrière, *loc. cit.*), cette quantité d'azote en cours de transit dans le sol peut se calculer en retranchant à l'azote initial lombricien (100%), l'azote initial encore contenu dans les vers de terre, et celui retrouvé dans les turricules et les parties aériennes et racinaires des plantes.

#### Changements d'état et émanation des lombriciens

Le meilleur ajustement des mesures de la fraction restante de <sup>15</sup>N dans les tissus des lombriciens (exprimé en % par rapport du <sup>15</sup>N corporel initial apporté au jour 0 dans chaque cadre; Tableau 1) correspond à la double exponentielle suivante (Fig. 2):

Fig. 2. Mesure de l'excrétion azotée de *Lumbricus terrestris*. Ajustement des données expérimentales et calcul du débit.

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

(Moyenne des carrés des résidus = 0,0536; Ecart type = 9,31 10<sup>-7</sup>).

La dérivée à l'origine, qui mesure l'émanation globale de l'azote (Ferrière et Bouché, 1985), a permis de calculer un débit d'émanation (ou d'assimilation de l'azote) de 16,1% N corporel jour<sup>-1</sup> *in situ*. Une expérience similaire, en laboratoire, à 14°C indiquait, pour *L. terrestris*, un débit d'émanation de 14,2% (Hameed *et al.*, 1994). Ferrière et Bouché (1985) ont trouvé pour *N. longus longus* un débit de 14,6% N corporel jour<sup>-1</sup> au laboratoire et de 10,5% *in situ*. Ils considéraient ces résultats comme cohérents compte tenu des imprécisions relatives à la valeur du Q<sub>10</sub> et à la température corporelle au champ (8–10°C). Dans notre cas, l'émanation calculée, de *Lumbricus terrestris* (biomasse moyenne de 3,905 g mph = 0,982 g mps; N<sup>i</sup> = 54,81 mg g<sup>-1</sup> mps ver soit 53,82 mg de N par ver) est de: (16,1 × 53,82)/100 = 8,67 mg N jour<sup>-1</sup> par lombricien.

#### Assimilation de l'azote d'origine lombricienne par les plantes

On observe que, pendant les 48 jours de l'expérience, la masse végétale (P<sub>a</sub> + P<sub>r</sub>) est irrégulière (Tableau 4). Cette hétérogénéité peut être due à

Tableau 2. Variation, au cours du temps, de <sup>15</sup>N issu des lombriciens et retrouvé dans les parties aériennes des plantes

Temps (jours)	MS (1)	C <sub>t</sub> (2)	N <sub>t</sub> (3)	C/N	E% (4)	<sup>15</sup> N (5)	<sup>15</sup> N <sub>r</sub> (6)	<sup>15</sup> N <sub>r</sub> / <sup>15</sup> N <sub>i</sub> (7)
0	8,05 ± 1,12	389,13 ± 12,80	28,86 ± 3,08	13,48	0,00	0,00	0,00	0,00
3	5,97 ± 1,08	385,23 ± 12,80	31,45 ± 1,65	12,25	0,16 ± 0,01	0,050 ± 0,001	0,30	0,70
10	13,15 ± 1,48	379,55 ± 26,22	24,57 ± 2,40	15,45	0,28 ± 0,02	0,071 ± 0,009	0,93	2,05
16	10,08 ± 1,24	410,10 ± 4,35	26,79 ± 1,28	15,31	0,51 ± 0,02	0,137 ± 0,013	1,38	2,67
24	16,85 ± 1,97	409,70 ± 6,96	25,53 ± 0,57	16,05	0,33 ± 0,02	0,085 ± 0,006	1,43	2,94
33	20,00 ± 2,02	407,38 ± 7,00	25,99 ± 0,91	15,67	0,37 ± 0,03	0,096 ± 0,009	1,92	3,70
41	23,75 ± 2,18	412,18 ± 6,24	25,06 ± 1,55	16,45	0,61 ± 0,05	0,154 ± 0,020	3,66	7,89
48	21,46 ± 2,32	342,68 ± 6,23	18,22 ± 1,42	18,68	0,60 ± 0,04	0,110 ± 0,016	2,36	5,29

La colonne (1) (= masse sèche des parties aériennes) est exprimée en g.

Les colonnes (2) (= carbone total), (3) (= azote total) et (5) sont exprimées en mg g<sup>-1</sup> ms.

Les colonnes (4) (= Enrichissement en <sup>15</sup>N) et (7) (= Rapport <sup>15</sup>N retrouvé/<sup>15</sup>N initial) sont exprimées en %.

La colonne (6) (= masse <sup>15</sup>N retrouvée) est exprimée en mg.

Limites de l'intervalle de confiance à 95% pour n = 4 et 3 analyses.

Tableau 3. Variation, au cours du temps, de  $^{15}\text{N}$  issu des lombriciens et retrouvé dans les parties racinaires des plantes

Temps (jours)	MS (1)	$C_i$ (2)	$N_i$ (3)	C/N	E% (4)	$^{15}\text{N}$ (5)	$^{15}\text{N}_r$ (6)	$^{15}\text{N}_r/^{15}\text{N}_i$ (7)
0	108,01	370,05 ± 7,02	9,60 ± 0,36	38,59	0,00	0,00	0,00	0,00
3	140,15	326,60 ± 6,85	9,31 ± 0,26	35,08	0,19 ± 0,01	0,018 ± 0,001	2,52	5,86
10	171,38	353,90 ± 13,14	9,20 ± 0,50	38,47	0,12 ± 0,02	0,011 ± 0,001	1,89	4,16
16	167,10	335,40 ± 5,46	9,56 ± 0,02	35,08	0,16 ± 0,02	0,015 ± 0,001	2,51	4,86
24	180,60	354,00 ± 7,01	10,13 ± 0,07	34,95	0,15 ± 0,02	0,015 ± 0,001	2,71	5,58
33	166,27	362,50 ± 8,62	10,11 ± 0,24	35,86	0,19 ± 0,03	0,019 ± 0,001	3,16	6,10
41	174,80	358,60 ± 4,12	9,41 ± 0,09	38,11	0,21 ± 0,05	0,020 ± 0,001	3,50	7,54
48	205,22	340,00 ± 5,43	9,15 ± 0,38	37,16	0,44 ± 0,04	0,040 ± 0,001	8,21	18,41

La colonne (1) (= masse sèche des racines) est exprimée en g.

Les colonnes (2) (= carbone total), (3) (= azote total) et (5) sont exprimés en  $\text{mg g}^{-1}$  ms.

Les colonnes (4) (= Enrichissement en  $^{15}\text{N}$ ) et (7) (= Rapport  $^{15}\text{N}$  retrouvé/ $^{15}\text{N}$  initial) sont exprimées en %.

La colonne (6) (= masse  $^{15}\text{N}$  retrouvée) est exprimée en mg.

Limites de l'intervalle de confiance à 95% pour 4 répétitions de la même analyse.

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 24<sup>ème</sup> 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 7,4. Notre prairie se trouve en pédoclimat méditerranéen mais de tels rapports ont déjà été décrits (Basilevitch, 1962, in Duvignaud, 1974) dans les steppes et les prairies-steppes en URSS. Malgré l'hétérogénéité initiale globale de la biomasse végétale, on constate que  $^{15}\text{N}$ -E% des plantes augmente, respectivement de 0,16 à 0,60 et de 0,19 à 0,44 pour les parties aériennes et racinaires (Tableaux 2 et 3). L'assimilation globale de l'azote provenant des vers de terre dans les deux compartiments plantes est d'environ 24% de l'azote lombricien initial après 48 jours (Fig. 3). On observe une incorporation lente et régulière de  $^{15}\text{N}$  par les plantes. Ferrière (*loc. cit.*) a constaté, dans une prairie à climat semi-continentale (Cîteau, Côte d'Or), une assimilation de l'azote d'origine lombricenne par les plantes d'environ 90% pendant une durée d'expérience similaire (40 jours). Avec un dispositif expérimental analogue, on obtient donc une assimilation végétale beaucoup moins rapide malgré la similitude des deux lois mathématiques.

Le transfert lombricien-plante dépend du fonctionnement du système prairial. Les deux sols limono-argileux semblent peu différents; le climat, nettement plus chaud à Lavérune qu'en Côte d'Or, aurait dû

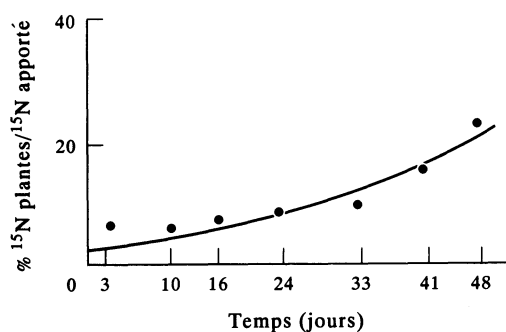


Fig. 3. Pourcentage de  $^{15}\text{N}$  assimilé par les plantes pendant les 48 jours de l'expérience au champ.

introduire un passage beaucoup plus rapide. Mais c'est la structure de la végétation qui semble pouvoir expliquer cette différence. En effet, nous avons noté à Lavérune, une structure végétale représentative d'une certaine aridité par un rapport  $P_r/P_a$  très élevé (moyenne = 12,8) très différent de celui de Ferrière ( $P_r/P_a = 4,5$ ). De même, le taux de croissance, nécessairement associé à l'assimilation végétale, est plus élevé (à Cîteaux, en moyenne  $16,8 \text{ g jour}^{-1} \text{ m}^{-2}$  et à Lavérune  $12,0 \text{ g jour}^{-1} \text{ m}^{-2}$ ). Enfin, le taux d'émanation lombricenne est plus rapide à Lavérune qu'à Cîteaux.

#### Azote d'origine lombricenne dans les turricules

Les quantités de turricules par prélèvement ( $106,89 \text{ g} \pm 16,45$ ) et leur concentration en  $\text{N}^i$  ( $2,79 \text{ mg g}^{-1} \text{ ms} \pm 0,21$ ) sont relativement constantes au cours de l'expérience (Tableau 5). Cette dynamique reflète le maintien de l'activité lombricenne (Al Addan, Thèse d'Etat, Université de Montpellier, 1990). De plus, on constate que:

- (1)  $^{15}\text{N}$  des turricules est relativement homogène (moyenne  $^{15}\text{N}$  retrouvé par cadre =  $0,41 \pm 0,13 \text{ mg}$ ; Tableau 5).
- (2) La production de turricules sur 2 jours contient en moyenne, sur toute la durée de l'expérience, 0,86% de l'azote lombricien, ce qui représente 20,9% pour les 48 jours de l'expérience.
- (3) Les conditions d'activité globale des lombriciens dans les cadres, conduisent, à Lavérune, à une production élevée de turricules ( $213,9 \text{ g m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$ ) pauvres en azote (2,79‰)

Tableau 4. Evolution du poids total des plantes ( $P_a + P_r$ ), des parties aériennes ( $P_a$ ) ( $n = 4$ ), des parties racinaires ( $P_r$ ) ( $n = 1$ ) et du rapport  $P_r/P_a$  pendant les 48 jours de l'expérience au champ

Temps (jours)	$P_a$	$P_r$	$P_r/P_a$	$P_a + P_r$
0	8,05 ± 1,12	108,01	13,4	116,2
3	5,97 ± 1,08	140,15	23,5	146,1
10	13,15 ± 1,48	171,38	13,0	184,5
16	10,08 ± 1,24	167,10	16,6	183,7
24	16,85 ± 1,97	180,6	10,7	191,3
33	20,00 ± 2,02	166,27	8,3	186,3
41	23,75 ± 2,18	174,80	7,4	198,6
48	21,46 ± 2,32	205,22	9,6	226,7

Limites de l'intervalle de confiance à 95% pour 4 répétitions.

Tableau 5. Variation, au cours du temps, de  $^{15}\text{N}$  issu des lombriciens et retrouvé dans les turricules

Temps (jours)	Pds (s) (1)	C <sub>t</sub> (2)	N <sub>t</sub> (3)	E% (4)	$^{15}\text{N}_a$ (5)	$^{15}\text{N}_r$ (6)	$^{15}\text{N}_r / ^{15}\text{N}_a$ (7)
3	123,37	90,71	2,86	0,104	43,00	0,37	0,86
10	108,54	90,59	3,00	0,084	45,46	0,27	0,59
16	93,44	86,48	2,87	0,236	51,60	0,65	1,25
24	81,53	89,13	2,79	0,200	48,59	0,49	1,01
33	104,70	88,03	2,85	0,120	51,84	0,31	0,60
41	NP	—	—	—	46,41	—	—
48	129,72	84,14	2,34	0,127	44,60	0,39	0,90

La colonne (1) (=masse sèche de turricules) est exprimée en g. Les colonnes (2) (=carbone total), (3) (=azote total) sont exprimées en  $\text{mg g}^{-1}$  ms.

Les colonnes (4) (=Enrichissement en  $^{15}\text{N}$ ) et (7) (=Rapport  $^{15}\text{N}$  retrouvé/ $^{15}\text{N}$  initial) sont exprimées en %.

Les colonnes (5) (=masse  $^{15}\text{N}$  apportée/cadre) et (6) (=masse  $^{15}\text{N}$  retrouvée/cadre) sont exprimées en  $\text{mg/cadre}$ .

par comparaison aux résultats obtenus par Ferrière (*loc. cit.*) à Cîteaux, sur *N. longus longus* (respectivement  $119,6 \text{ g m}^{-2} \text{ jour}^{-1}$  et 9,26%).

Plusieurs études relatent la richesse des turricules en N<sup>t</sup> et notamment en azote minéral. Pour *L. terrestris*, Tillinghast (1967) attribue l'ammoniaque et l'urée des fèces essentiellement à l'excrétion intestinale. Pour vérifier cette interprétation, seul le marquage  $^{15}\text{N}$  corporel permet de distinguer l'azote excrété par voie intestinale de l'azote simplement ingéré puis digéré sans assimilation. A partir des données de Ferrière (*loc. cit.*) (rapportées à 1 g de  $^{15}\text{N}$  corporel) et de nos propres résultats (rapportés à l'apport initial moyen de  $^{15}\text{N}$  à savoir 47,37 mg; Tableau 5), nous avons calculé le pourcentage de  $^{15}\text{N}$  issu des lombriciens et rejeté dans les turricules (Tableau 6).

En établissant 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 au  $^{15}\text{N}$  journalier moyen des turricules, il est possible de connaître la part excrétée via le tube digestif. On remarque que *L. terrestris*, à la différence de *N. longus longus*, excrète une part importante de son azote par l'intermédiaire du tube digestif. Cette excrétion intestinale, environ 4 fois supérieure chez *L. terrestris*, montre qu'une part plus importante de l'azote serait mêlée aux fèces transformés par la suite en grumeaux. Ceci entraînerait une stimulation de l'activité microbienne dans ces structures pédologiques après le délai

Tableau 6. Etats du  $^{15}\text{N}$  corporel (exprimé en  $\text{mg } ^{15}\text{N}$ ) en début et en fin d'expérience pour *Lumbricus terrestris* L. (L.T.) et *Nicodrilus longus longus* (N.L.). Calcul des émanations totales (Et) et des turricules (T); rapport entre les deux types d'émanation (T/Et)

	$^{15}\text{N}$ LB début (1)	$^{15}\text{N}$ LB fin (2)	Et (3)	T (4)	T/Et (5)
N.L.	998,46	59,57	938,89	15,74	1,68
L.T.	189,43	39,52	149,91	10,37	6,92

Les données de *N. longus* sont rapportées à 1 g de  $^{15}\text{N}$  corporel, celles de *L. terrestris* à  $15,62 \text{ g}$  de lombricien (masse fraîche); soit  $189,43 \text{ mg } ^{15}\text{N m}^{-2}$ .

nécessaire à l'induction d'un arsenal enzymatique susceptible de décomposer la matière organique. Cette dérivation de l'azote par la voie intestinale, donc dans des grumeaux qui ne sont pénétrés qu'ultérieurement par les racines, expliquerait partiellement, la relative lenteur du transfert au champ entre azote lombricien (*L. terrestris*) et plantes par comparaison avec *N. longus longus* qui excrète pratiquement la totalité de son azote par voie cutanée, directement sur le chevelu racinaire des plantes tapissant leurs galeries.

#### Modélisation et validation des mesures in situ

Satchell (1963) a effectué une première estimation hypothétique du rôle des lombriciens dans le cycle de l'azote en se fondant sur les travaux de physiologie de Needham (1957) extrapolés à l'estimation d'un peuplement lombricien. Pour leur part, Reichle *et al.* (1973) ont présenté un modèle quantitatif du taux de décomposition attribué aux vers de terre. Mais la mise en oeuvre du double marquage (coloration + isotope) réalisée par Ferrière et Bouché (1985) et Ferrière (*loc. cit.*) a permis de développer des méthodes de mesure *in situ* pour valider de telles estimations. Si Ferrière (*loc. cit.*) 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-mêmes (Hameed *et al.*, 1993; Hameed *et al.*, 1994) 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 (moyenne des carrés des résidus = 0,0183; écart type =  $7,83 \cdot 10^{-18}$ ), ce qui permet le calcul d'une dérivée intégratrice à chaque expérience. Nous avons comparé les débits d'azote (Fig. 4), en fonction des températures moyennes du sol au laboratoire et au champ ( $-15 \text{ cm}$ ) (Fig. 1). Les

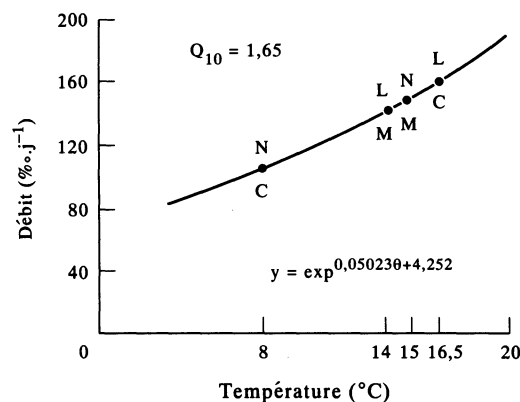


Fig. 4. Ajustement des débits d'azote, observés au champ (C) et en microcosmes (M) (Hameed *et al.*, 1994) sur *Lumbricus terrestris* L. (L) et *Nicodrilus longus longus* (N), en fonction de la température.

quatre expérimentations portent sur deux espèces, deux conditions expérimentales (laboratoire et terrain), deux milieux différents (Lavérune, Hérault, et Cîteaux, Côte d'Or), et deux saisons (septembre/octobre et avril/mai). Malgré cela, nous avons observé une remarquable coïncidence des débits d'assimilation (ou d'excrétion) qui ne dépendent que d'un  $Q_{10} = 1,65$ .

Il y a ainsi simultanément 4 validations: (1) des microcosmes vs terrain; (2) de l'identité fonctionnelle dans une même catégorie écologique, (3) de l'interpolation des résultats entre deux localités et (4) 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 endogées (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 et l'expérience qui s'en suit ne peut pas être comparée.

Ces résultats confirment donc le rôle des lombriciens dans le cycle de l'azote et indiquent l'importance qu'il faut attacher à l'harmonie des rythmes saisonniers entre plantes, microorganismes, lombriciens et stocks endogés.

*Remerciements*—Ce travail a été réalisé avec la collaboration technique de Mr A. Janez auquel nous exprimons toute notre reconnaissance.

#### BIBLIOGRAPHIE

- Barois I., Verdier B., Kaiser P., Mariotti A., Rangel P. et Lavelle P. (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 Symposia and Monographs, UZI, 2 Mucchi Modena.
- Duvignaud P. (1974) *La synthèse écologique. Populations, Communautés, Ecosystèmes. Biosphère, Noosphère* (Doin Ed). Paris.
- Ferrière G. et Bouché M. B. (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 Cîteaux. *Comptes Rendus Académie des Sciences*, Paris **301**, III 789-794.
- Hameed R., Cortez J. et Bouché M. B. (1994) Biostimulation de la croissance de *Lolium perenne* L. par l'azote excrété par *Lumbricus terrestris* L. Mesure au laboratoire de ce débit. *Soil Biology & Biochemistry* **26**, 483-493.
- Hameed R., Cortez J. et Bouché M. B. (1993) Influence de la qualité de la litière apportée à *Lumbricus terrestris* L. sur la dynamique de l'azote minéral et la production végétale. *Pédobiologia* **37**, 178-192.
- Meinhardt U. (1976) Dauerhafte Markierung von Regenwürmern durch ihre Lebendfärbung. *Nach. Deut. Pflanzenschutzd.* **28**, 84-86.
- Needham A. E. (1957) Components of nitrogenous excreta in the earthworms *Lumbricus terrestris* and *Eisenia fetida* (Savigny). *Journal of Experimental Biology* **34**, 425-446.
- Reichle D. E., O'Neil R. V., Kaye S. V., Sollins P. et Booth R. E. (1973) Systems analysis as applied to modeling ecological processes. *Oikos*, **24**, 337-343.
- 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, Amsterdam.
- Tillinghast E. K. (1967) Excretory pathways of ammonia and urea in the earthworms *Lumbricus terrestris* L. *Journal of Experimental Zoology* **166**, 295-300.

