

Effets du mode de travail du sol sur les microorganismes à l'échelle du profil cultural

J.F. Vian⁽¹⁾, J. Peigné⁽¹⁾, R. Chaussod⁽²⁾ et J. Roger-Estrade⁽³⁾

- 1) ISARA Lyon, 23 rue Jean Baldassini, 69364 Lyon cedex 7, France
- 2) INRA, UMR MSE, 17 rue Sully, BP 85610, 21065 Dijon cedex, France
- 3) AgroParisTech, Département SIAFEE, bâtiment EGER-BP 01, 78850 Thiverval-Grignon, France

RÉSUMÉ

Le travail du sol modifie la répartition des résidus de culture et la structure du sol et affecte par conséquent les microorganismes du sol (nombre, structure génétique des populations) ainsi que les fonctions qu'ils assurent au premier rang desquelles la minéralisation de la matière organique. L'objectif est d'étudier l'effet de ces modifications engendrées par deux techniques contrastées de travail du sol : un labour traditionnel (LT) et un travail du sol réduit (TR). Les variables étudiées sont la biomasse microbienne du sol (BM), le potentiel de minéralisation du carbone (Cmin) et la structure des communautés bactériennes du sol évaluée par T-RFLP. Afin de prendre en compte l'effet simultané des modifications de la structure du sol et celles de la répartition des résidus de culture, une stratégie d'échantillonnage stratifiée au sein du profil cultural a été adoptée. Pour cela, les indicateurs microbiens ont été mesurés sur des mottes compactées et non-compactées (respectivement baptisées Δ et Γ) prélevées à 3 profondeurs : 0-7, 7-17 et 17-30 cm. La BM et le Cmin sont répartis de façon homogène sur la profondeur de labour pour LT tandis qu'ils présentent une stratification verticale en TR. Le niveau de tassement du sol modifie également ces variables qui diminuent au sein des horizons où les résidus de culture sont enfouis. Par ailleurs, la structure des communautés bactériennes est modifiée également par la profondeur d'enfouissement des résidus de culture et par la structure du sol. Cependant, cet indicateur semble affecté par une variabilité spatiale importante, dont on ne maîtrise pas tous les facteurs. Les effets du travail du sol sur les communautés microbiennes mériteraient une étude plus approfondie.

Mots clés

Travail du sol, structure du sol, biomasse microbienne, potentiel de minéralisation du C, structure des communautés bactériennes.

SUMMARY

EFFECTS OF SOIL TILLAGE ON SOIL MICROORGANISMS AT SOIL PROFILE SCALE

Soil tillage modifies the location of crop residues and soil structure and affects microbial populations and activities such as mineralization of soil organic matter. The aim of this work was to compare the effect of two tillage systems (traditional mouldboard ploughing, LT, and reduced tillage, TR) on crop residues distribution and soil structure as well as their consequences on soil microbial biomass (BM), the potential activity of C mineralization (C_{min}) and soil bacterial community structure (through T-RFLP). In order to study simultaneously the effects of soil structure modifications and crop residues distribution on these microbial parameters we used a stratified sampling scheme based on a morphological characterisation of soil structure (figure 1 and 2). Compacted and non compacted clods (respectively named Δ and Γ clods) were distinguished and sampled at three depths: 0-7, 7-17 and 17-30 cm. BM and C_{min} were homogeneously distributed in the soil profile in the LT treatment, whereas they showed a vertical stratification in TR (figure 3). Our sampling scheme pointed out that BM and C_{min} were affected by both burying depth of crop residues and soil structure. They decreased with soil compaction, but this effect appeared only in soil layers where crop residues were buried, suggesting that these microbial parameters are modified firstly by organic matter availability and secondly by soil structure. Bacterial community structure was also modified by crop residues distribution and soil compaction (figure 4). Indeed, the bacterial community structure of the 0-7 cm soil layer differed markedly from the others soil layers, for LT and TR. However, the bacterial community structure exhibited a high spatial variability at the field scale and further studies are needed to investigate the effects of soil tillage on soil microbial communities.

Key-words

Tillage, soil structure, microbial biomass, potential activity of C mineralization, bacterial community structure.

RESUMEN

EFFECTOS DEL MODO DE TRABAJO DEL SUELO SOBRE LOS MICROORGANISMOS A LA ESCALA DEL PERFIL DE CULTIVO

El trabajo del suelo modifica la repartición de los residuos de cultivo y la estructura del suelo y afecta en consecuencia los microorganismos del suelo (número, estructura genética de las poblaciones) así que las funciones que aseguran en el primer plano la mineralización de la materia orgánica. El objetivo está estudiar el efecto de estas modificaciones generadas por dos técnicas contrastadas de trabajo del suelo: una labranza tradicional (LT) y un trabajo del suelo reducido (TR). Las variables estudiadas están biomasa microbiana del suelo (BM), el potencial de mineralización del carbono (C_{min}) y la estructura de las comunidades bacterianas del suelo evaluada por T-RFLP. Con el fin de tomar en cuenta el efecto simultáneo de las modificaciones de la estructura del suelo y de las de la repartición de los residuos de cultivo, se adoptó una estrategia de muestreo estratificada al seno del perfil de cultivo. Para eso, se midieron los indicadores microbianos en terrones compactados y no compactados (respectivamente llamados Δ y Γ) tomados a tres profundidades (0-7, 7-17 y 17-30 cm). La BM y el C_{min} se reparten de manera homogénea en la profundidad de la labranza para LT mientras que presentan una estratificación vertical en TR. El nivel de compactación del suelo modifica igualmente estas variables que disminuyen al seno de los horizontes donde se entierran los residuos de cultivo. Por otra parte, se modificó la estructura de las comunidades bacterianas igualmente por la profundidad de enterramiento de los residuos de cultivo y por la estructura del suelo. Sin embargo, este indicador parece afectado por una variabilidad espacial importante, cuyo no se controlan todos los factores. Los efectos del trabajo del suelo sobre las comunidades microbianas merecerían un estudio más profundizado.

Palabras clave

Trabajo del suelo, biomasa microbiana, potencial de mineralización del C, estructura de las comunidades bacterianas.

Les microorganismes du sol sont des acteurs majeurs des grandes fonctions assurées par le sol, en particulier la fourniture d'éléments minéraux pour les cultures via la minéralisation de la matière organique (Hill *et al.*, 2000). L'étude des paramètres microbiens et de leurs variations au sein d'une parcelle agricole revêt dès lors une importance primordiale pour la gestion de la fertilité du sol. Cependant, cette étude est parfois difficile du fait de la forte variabilité spatiale des indicateurs microbiens. Mais, celle-ci n'est pas entièrement aléatoire et, à l'échelle de la parcelle, les caractéristiques biologiques d'un sol sont souvent structurées spatialement sur des distances très variables selon l'organisme ou le système étudié. Cette structuration peut ainsi exister sur plusieurs dizaines de mètres (Ettema et Wardle, 2002) ou se rencontrer sur des distances centimétriques voire millimétriques (Ranjard et Richaume, 2001). Le sol présente en effet une multitude d'habitats hétérogènes dont les caractéristiques physiques et chimiques varient également dans le temps (Voroney, 2007). Le choix de l'échelle d'étude est donc primordial pour rendre compte de l'effet des pratiques agricoles sur le fonctionnement microbien du sol. La plupart des études sont basées sur un échantillonnage dit « composite », dans lequel on mélange plusieurs prélèvements ponctuels effectués au sein de la zone d'étude, ce qui ne permet pas de mettre en évidence des zones au fonctionnement microbien *a priori* particulier (zones compactées, profondeur d'accumulation de la matière organique...). Afin de prendre en compte l'hétérogénéité des caractéristiques physiques et chimiques du sol, nous avons préféré dans cette étude adopter un échantillonnage stratifié selon les variations des caractéristiques physiques du sol.

Pour cela, dans le cadre d'une expérimentation sur l'effet de différentes techniques de travail du sol en agriculture biologique sur les microorganismes du sol, une stratégie d'échantillonnage stratifiée à partir de l'observation de profils culturaux a été adoptée (Vian, 2009; Vian *et al.*, 2009). Dans une parcelle cultivée, le sol présente une grande hétérogénéité spatiale des conditions locales de circulation d'eau, d'aération et d'activités biologiques (Boizard *et al.*, 2004). Ainsi, la structure d'un sol labouré est composée de l'assemblage de sol fin, de mottes décimétriques (compactées ou non), de résidus de cultures répartis le long de la bande de labour, de vides et de fissures issus de l'action de retournement, de déplacement et de fragmentation de la charrue sur la couche de sol labourée (Roger-Estrade *et al.*, 2004). La structure d'un sol non labouré est caractérisée par une structure plus homogène et les résidus de culture sont concentrés dans les premiers centimètres du sol. Ces structurations différentes influencent les caractéristiques biologiques du sol et notamment la répartition et l'activité de la biomasse microbienne du sol (Andrade *et al.*, 2003) ainsi que la structure des communautés (Drijber *et al.*, 2000; Cookson *et al.*, 2008). Le profil cultural permet d'apprécier, au champ, ces différences et la variabilité

des caractéristiques physiques du milieu. C'est pourquoi nous l'avons utilisé comme base d'échantillonnage.

L'objectif de cet article est de présenter les effets à court terme (dès la première année de différenciation des traitements) des modifications structurales et de la répartition des résidus de culture générées par deux techniques de travail du sol (labour et travail du sol réduit) sur la biomasse microbienne, le potentiel de minéralisation du C et la structure des communautés microbiennes du sol.

La mesure de la biomasse microbienne du sol (BM) et son activité potentielle de minéralisation du carbone (C_{min}) permettent d'estimer globalement le fonctionnement de l'écosystème sol et le niveau de productivité des parcelles agricoles (Aon *et al.*, 2001). La caractérisation de la structure des communautés microbiennes du sol par T-RFLP (Terminal – Restriction Fragment Length Polymorphism) permet de vérifier si les changements microbiens quantitatifs s'accompagnent d'un changement dans la composition des communautés microbiennes du sol après un an de différenciation des traitements.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Site expérimental

La parcelle d'essai est située sur la commune de Thil (01), à proximité de Lyon, chez Claude Barbet, agriculteur biologique céréalier. Le climat est de type continental océanique. L'essai a été mis en place en 2005 sur un sol sablo-limoneux issu de dépôt d'alluvions (Fluvisol Luvic: 0,58 g.g⁻¹ sables, 0,27 g.g⁻¹ limons, 0,15 g.g⁻¹ d'argile). C'est un sol carbonaté au pH homogène (pH = 8,2). Le dispositif expérimental est composé de trois blocs à l'intérieur desquels 4 techniques de travail du sol sont placées aléatoirement. La parcelle d'essai a une surface de 1,48 ha, elle est plane et les parcelles expérimentales mesurent 80 m de long et 12 m de large. Elle est conduite selon le mode de production Agriculture Biologique (EU 2092/91) depuis 1999 et était labourée annuellement à 25 cm de profondeur avant la mise en place des traitements.

La rotation mise en place sur ce dispositif est représentative de ce qui est réalisé dans les exploitations céréalières agrobiologiques de la région Rhône-Alpes: maïs grain irrigué (*Zea mays* L.) 2005 / soja irrigué (*Glycine max*) 2006 / blé d'hiver (*Triticum aestivum*) 2006-2007. Les traitements ont été mis en place au printemps 2005 après 3 années de luzerne fourragère (*Medicago sativa* L., 2002-2005).

Les techniques de travail du sol

Le labour traditionnel (LT) et le travail du sol réduit (TR) ont été effectués début mai 2005 pour l'implantation du maïs. Le LT s'effectue avec une charrue réversible (corps de 14 pouces,

5-7 km.h⁻¹), il enfouit les résidus de culture sur les 30 premiers cm du sol. Le TR s'effectue avec un chisel (outil à dents) à 15-18 cm de profondeur. La couche de sol travaillée n'est pas retournée, les résidus de culture sont enfouis grossièrement et restent majoritairement concentrés à la surface du sol. Plusieurs opérations de reprise ont été effectuées avec un déchaumeur (5-7 cm de profondeur) et plusieurs passages de bineuses au cours des cultures du maïs et de soja ont eu lieu afin de maîtriser le développement des adventices.

Caractérisation de la structure du sol et stratégie d'échantillonnage

La structure du sol a été caractérisée morphologiquement grâce à la méthode du profil cultural (Manichon, 1982). Cette méthode permet de prendre en compte la variabilité spatiale de la structure du sol, due au fait que les contraintes mécaniques (passages d'engins, profondeur de travail des outils) et les effets du climat et de la faune ne s'appliquent pas uniformément sur toute la couche de sol arable, créant ainsi des conditions locales particulières de fonctionnement biologique, hydrique et physique (Roger-Estrade *et al.*, 2004). Cette méthode donne à la variabilité spatiale des états structuraux un rôle déterminant pour l'analyse de l'histoire des contraintes subies par le sol (Manichon et Roger-Estrade, 1990).

La description du profil cultural repose sur un double partitionnement de la face à observer (*figure 1*): une partition latérale qui rend compte de l'effet des passages de roues et donc des contraintes locales de tassement, et une partition verticale qui met en évidence la succession des horizons anthropiques plus ou moins importants selon l'itinéraire technique et le type d'outil utilisé (Gautronneau et Manichon, 1987).

L'échantillonnage au sein du profil cultural permet ainsi de relier l'organisation structurale du sol à ses propriétés microbiologiques et d'extrapoler à l'échelle du profil cultural les mesures réalisées. Nous avons ainsi prélevé au sein des trois

horizons de sol définis par la profondeur de travail des outils étudiés (0-7 / 7-17 / 17-30 cm) des mottes de structure différente (Γ porosité visible à l'oeil et Δ pas de porosité visible à l'œil) sur lesquelles sont réalisées des mesures physiques (porosité), chimiques (teneurs en C, N) et microbiologiques. Les mottes Γ ont une porosité supérieure à celle des mottes Δ , elles retiennent plus d'eau aux faibles succions et le taux de saturation en eau de leur porosité est plus faible que les volumes composés de mottes Δ (Boizard *et al.*, 2004; Curmi, 1988).

Deux années de mesures ont été réalisées afin d'analyser les résultats obtenus avec cette méthode d'échantillonnage, en mars 2006 et 2007. Nous présenterons dans cet article les résultats obtenus en 2006. L'échantillonnage a été réalisé début mars 2006, soit 11 mois après les opérations de travail du sol et 5 mois après la récolte du maïs. Pour chaque horizon décrit, une trentaine de mottes Γ et Δ (de 10 à 20 cm³) ont été prélevées et conservées en l'état. Une dizaine de mottes a été séchée à l'air libre pour déterminer leur porosité et le reste a été conservé à l'état frais + 4 °C pour les mesures chimiques et microbiologiques quantitatives. Pour les analyses microbiologiques qualitatives (structure des communautés microbiennes), les échantillons ont été tamisés à 2 mm et conservés à -20 °C.

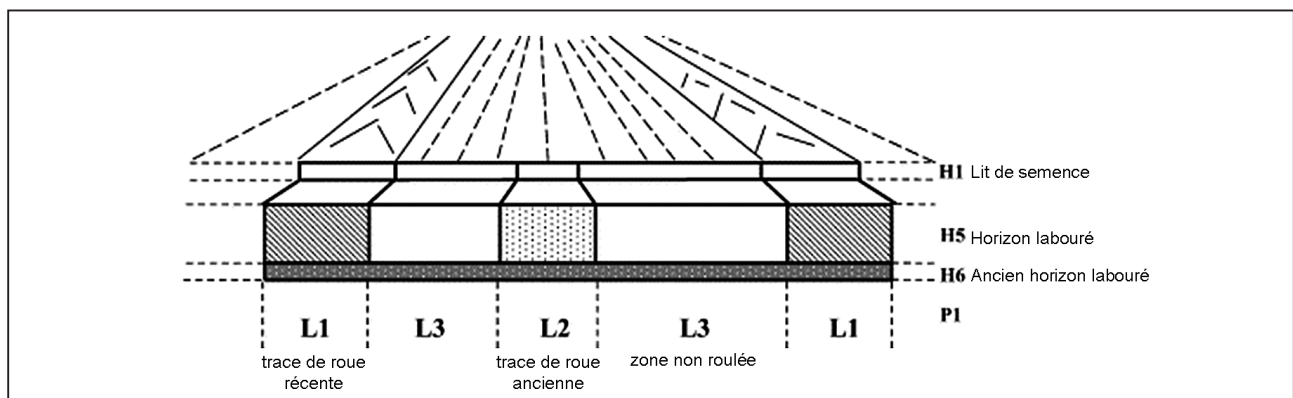
Mesures microbiennes

La biomasse microbienne du sol (BM)

La BM du sol a été mesurée par la méthode dite de « fumigation-extraction » (Chaussod *et al.*, 1988; Wu *et al.*, 1990). Les mottes prélevées au champ sont déstructurées à la main juste avant le début de la mesure et les résidus grossiers de MO sont enlevés. Les échantillons de sol sont divisés en deux lots de 4 répétitions de 20 g (équivalent sol sec): un lot témoin et un lot fumigé. L'échantillon fumigé est traité par des vapeurs de chloroforme (CHCl₃) pendant 16 heures dans un dessiccateur sous vide et le carbone organique soluble est extrait par

Figure 1 - Principe du partitionnement horizontal et vertical d'un profil cultural (d'après Roger-Estrade *et al.*, 2004).

Figure 1 - Principle of the horizontal and vertical stratification of the observation face of a soil pit (from Roger-Estrade *et al.*, 2004).



agitation dans 100 mL d'une solution de K_2SO_4 (0,05 N). Le carbone organique du surnageant est dosé par oxydation au peroxydisulfate de potassium ($K_2S_2O_8$) sous rayonnement UV (Dorhman DC 80). La différence de carbone organique soluble entre les échantillons fumigés et non fumigés correspond à la quantité de carbone extractible d'origine microbienne. Cette quantité est directement proportionnelle à la biomasse microbienne (mgC/kg): C extractible / 0,38.

Minéralisation potentielle du carbone (Cmin)

Le Cmin est mesuré lors d'une incubation de 28 jours à 28 °C. Pour cette détermination les mottes Γ et Δ ne sont pas déstructurées. Des mottes de 20 g environ, avec 4 répétitions par traitement, sont incubées dans un bocal hermétique de 0,5 L avec une fiole à scintillation contenant 10 ml de soude (NaOH à 0,25 N) afin de doser le CO_2 piégé et un peu d'eau distillée pour éviter le dessèchement de l'échantillon. La fiole est récupérée après 14 jours d'incubation et remplacée par une autre qui sera récupérée à 28 jours afin de doser le CO_2 piégé.

Analyse de la structure des communautés microbiennes par T-RFLP

La méthode de T-RFLP (Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism) permet de comparer la structure des communautés bactériennes (Liu *et al.*, 1997). Elle peut traiter un grand nombre d'échantillons et autorise la comparaison d'échantillons issus d'électrophorèses différentes grâce à l'utilisation d'un standard interne dans chaque échantillon (Janvier, 2007). Cette méthode repose sur l'extraction directe de l'ADN du sol qui est ensuite amplifié par PCR (Polymerase Chain Reaction) à l'aide d'amorces spécifiques des communautés bactériennes (ADNr 16S). Les fragments d'ADN amplifiés subissent ensuite une digestion enzymatique et les fragments

terminaux ainsi obtenus sont séparés par électrophorèse, ce qui permet de révéler le polymorphisme de longueur des fragments de restriction terminaux.

L'ADN total du sol est extrait selon une méthode proposée par Martin-Laurent *et al.* (2001) et modifiée par Edel-Hermann *et al.* (2004). L'ADN génomique total est extrait à partir de 1 g de sol (3 extractions indépendantes par échantillon de sol sont réalisées) et est conservé à -20 °C. L'ADNr 16S des communautés bactériennes est amplifié par PCR avec l'amorce 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3' ; marquée par un fluorochrome) et par l'amorce 1392R (5'-ACGGGCGGTGTGTACA-3'). Toutes les réactions de PCR sont réalisées dans un thermocycleur avec le programme suivant : 3 minutes x 94 °C ; 30 cycles 94 °C x une minute ; 57 °C x une minute ; 72 °C x une minute et 72 °C x 10 minutes.

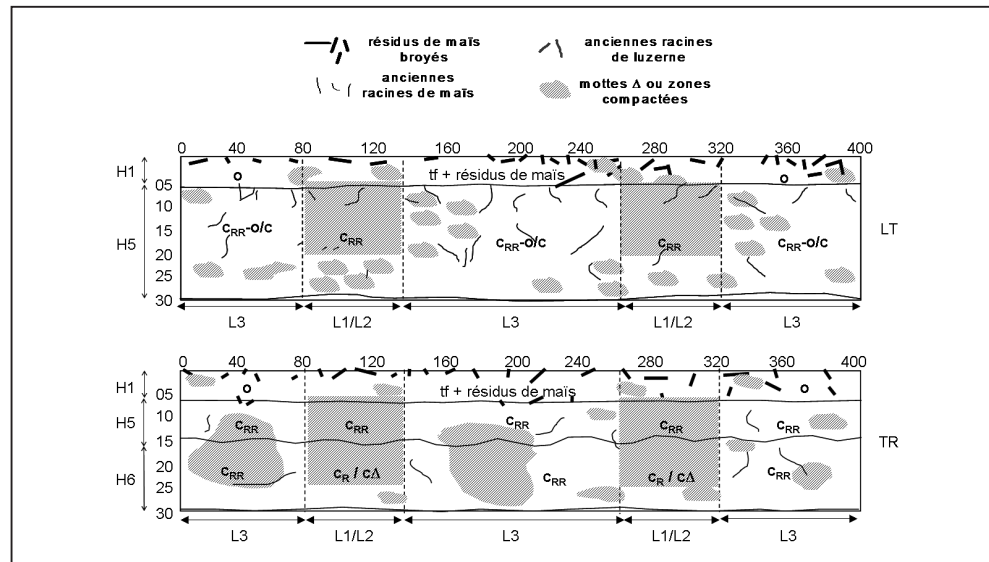
Après digestion par une enzyme de restriction (*HaeIII*) des produits PCR purifiés, les fragments terminaux sont séparés par électrophorèse dans un séquenceur automatique à capillaire (CEQ 2000 XL, Beckman Coulter). La taille des fragments de restriction terminaux séparés (TRF) et l'intensité des pics correspondants sont calculés à partir du logiciel CEQ 8000 (genetic analysis system version 9.0, Beckman Coulter). Afin de différencier le bruit de fond des pics réellement présents dans l'échantillon, on ne retient pour l'analyse que les pics dont la pente à leur base est supérieure ou égale à 5 % et dont la hauteur supérieure ou égale à 2 % de la hauteur du pic le plus important.

Analyses statistiques

Les analyses statistiques pour les mesures microbiologiques quantitatives ont été réalisées à partir du logiciel *StatView*. Le test statistique utilisé est celui de PLSD de Fisher ("least significant difference method"). Il est utilisé pour tester l'hypothèse nulle

Figure 2 - Représentation schématique des profils culturaux des modalités LT (labour traditionnel) et TR (travail réduit) observés en mars 2006.

Figure 2 - Schematic representation of soil profiles of traditional mouldboard ploughing (LT) and reduced tillage (TR) described on march 2006.



que toutes les moyennes de la population sont égales. Le seuil de significativité de ce test est de 5 %.

L'analyse de la structure des communautés microbiennes est réalisée à partir des fragments séparés entre 60 et 640 pb. L'intensité de fluorescence de chaque pic est divisée par la fluorescence totale de l'échantillon analysé. Les données de T-RFLP sont arrangées dans une matrice d'intensités relatives contenant en lignes les échantillons à analyser (traitements) et en colonnes les classes de taille de fragments (Janvier, 2007) afin de réaliser une analyse en composantes principales (ACP) avec le logiciel ADE-4 (Thioulouse *et al.*, 1997). La significativité des structures graphiques révélées par l'ACP est testée par la procédure de Monte-Carlo (1 000 permutations aléatoires). Lorsque les tests de permutation mettent en évidence une structure significative, des ACP inter-classes peuvent être réalisées (Culhane *et al.*, 2002). L'ACP est alors réalisée en prenant en compte l'échantillon « moyen » de chaque classe qui est alors projeté sur le plan factoriel. Cette représentation permet d'améliorer la visualisation graphique des effets observés.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Profils culturels observés en mars 2006

L'horizon H1 a été créé par le passage du cultivateur après la récolte du maïs. Cet horizon est riche en résidus de culture broyés (cannes de maïs) et en terre fine (*figure 2*). La structure des horizons H5 de LT n'a pas subi de contraintes fortes depuis le labour. Elle est légèrement prise en masse sous l'action du climat. La structure en L3 (hors passage de roues) est ouverte à tendance continue (o/c), voire continue avec de nombreux plans de fragmentations (c_{RR}). Sous les passages de roues (L1/L2), la structure est plus « rappuyée » et est de type c_{RR} . La structure de l'horizon H5 de la modalité TR est assez semblable à celle de LT : elle est également de type c_{RR} . L'horizon non fragmenté et anciennement labouré (H6) de TR présente une structure continue avec de nombreux plans de fragmentation (c_{RR}) en L3. Sous les passages de roues (L1/L2), la structure du sol prend en masse progressivement. Elle est continue avec peu de plans de fragmentation (c_R) voire plus dégradée (c_A).

En retournant la couche de sol, le LT enfouit les résidus de culture de manière homogène sur la couche de sol labourée (0-30 cm). Le TR en revanche enfouit partiellement les résidus de culture sur 0-17 cm de profondeur et les concentre principalement sur l'horizon 0-7 cm. Les zones compactées sont majoritairement localisées sous les passages de roues des engins agricoles (L1/L2) (*figure 2*). Par ailleurs, la répartition des zones compactées au sein du profil cultural est légèrement différente entre LT et TR. Des mottes compactées se retrouvent hors passage de roues dans le labour, en raison du retournement du sol. Le chisel (TR) a une action plus limitée sur le déplacement

et la fragmentation de ces zones compactées que la charrue (LT), c'est-à-dire que les mottes Δ restent majoritairement localisées sous les passages de roues des engins agricoles et qu'on observe une prise en masse progressive de l'horizon H6 qui n'est plus fragmenté mécaniquement.

Répartition des teneurs en C et N dans le profil cultural

Les différents types de motte ont des teneurs en C et N similaires. On a présenté dans le *tableau* les teneurs en C et N moyennes des différentes mottes par horizon et par traitement.

Après une année d'application des traitements de travail du sol, les teneurs en C et N ne se différencient pas entre les traitements ($p > 0.05$). En revanche on observe un début de stratification verticale des teneurs en C de la modalité TR avec une baisse de la teneur en C organique au sein de l'horizon 17-30 cm, horizon qui n'est plus travaillé et où aucun résidu de culture n'est enfoui. Ces résultats mettent en évidence une stratification verticale progressive des pools de C et N lorsque la profondeur de travail des outils est relevée, ce qui confirme les observations de Mc Carthy *et al.* (1998) dans un dispositif expérimental récent (3 ans de différenciation des traitements).

Répartition de la biomasse microbienne et du potentiel de minéralisation du C au sein du profil cultural

L'influence simultanée de la répartition des résidus de culture et de la structure du sol sur les paramètres microbiens quantitatifs à l'échelle du profil cultural est illustrée sur la *figure 3* (d'après Vian *et al.*, 2009).

La biomasse microbienne et le potentiel de minéralisation du C sont localisés au sein des couches de sol où les résidus de culture sont enfouis. Ces indicateurs sont donc répartis de façon homogène au sein du profil du LT (couleur homogène sur la *figure 3*) et présentent une stratification verticale en TR (gradient de couleur sur la *figure 3*). Ces résultats confirment ceux de nombreux auteurs qui ont également constaté que la biomasse microbienne et les activités de minéralisation de la matière organique étaient supérieures dans les premiers cm du sol dans les systèmes non labourés et diminuaient en profondeur (Andrade *et al.*, 2003) suivant ainsi la répartition des résidus de culture dans le profil de sol et ce, dès les premières années de différenciation des traitements (McCarty *et al.*, 1998).

La *figure 3* montre également que la biomasse microbienne et l'activité des microorganismes sont réduites au sein des zones compactées dans le profil de sol. Toutefois, l'effet de la structure sur la BM et le Cmin ne se manifeste que dans les horizons d'enfouissement des résidus de culture. Dans les horizons où la quantité de substrats organiques est plus faible, le tassement

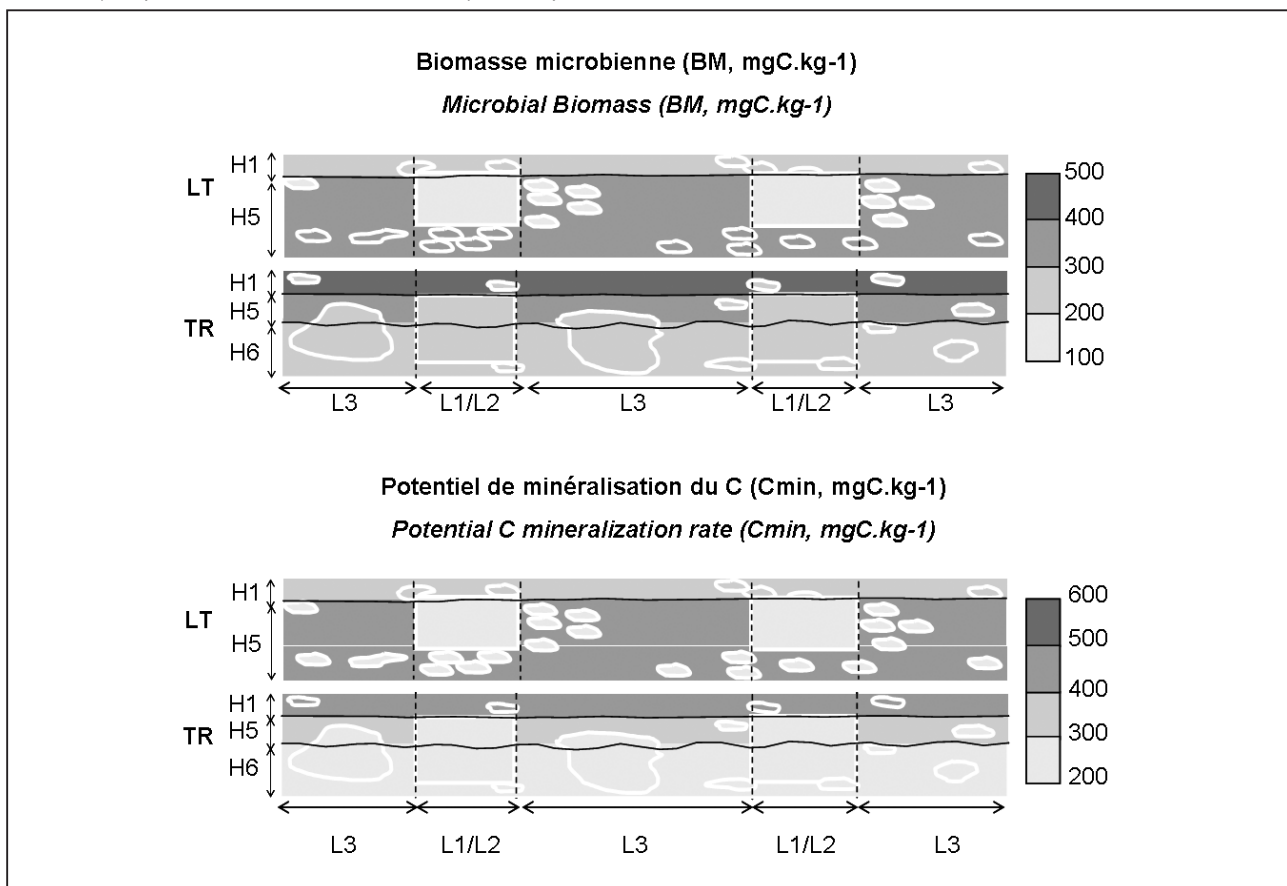
Tableau 1 - Teneurs en C organique et en azote total (g.kg^{-1}) des différents horizons des modalités labour traditionnel (LT) et travail du sol réduit (TR).

Table 1 - Organic C and total nitrogen contents (g.kg^{-1}) of the different soil layers of traditional mouldboard ploughing (LT) and reduced tillage (TR) systems.

	C (g.kg^{-1})		N (g.kg^{-1})		C/N	
	LT	TR	LT	TR	LT	TR
0-7 cm	$11,8 \pm 1,8$	$11,8 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,1$	$10,8 \pm 0,8$	$9,0 \pm 0,5$
7-17 cm	$11,9 \pm 3,9$	$12,1 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,3$	$1,1 \pm 0,2$	$9,4 \pm 0,8$	$11,0 \pm 1,1$
17-30 cm	$11,8 \pm 3,1$	$10,0 \pm 0,1$	$1,1 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,1$	$10,6 \pm 0,2$	$10,3 \pm 1,1$

Figure 3 - Répartition de la biomasse microbienne et du potentiel de minéralisation du C au sein du profil cultural (4 m x 30 cm) : influence de la structure du sol (les zones compactées sont délimitées en blanc) et de la répartition des résidus de culture.

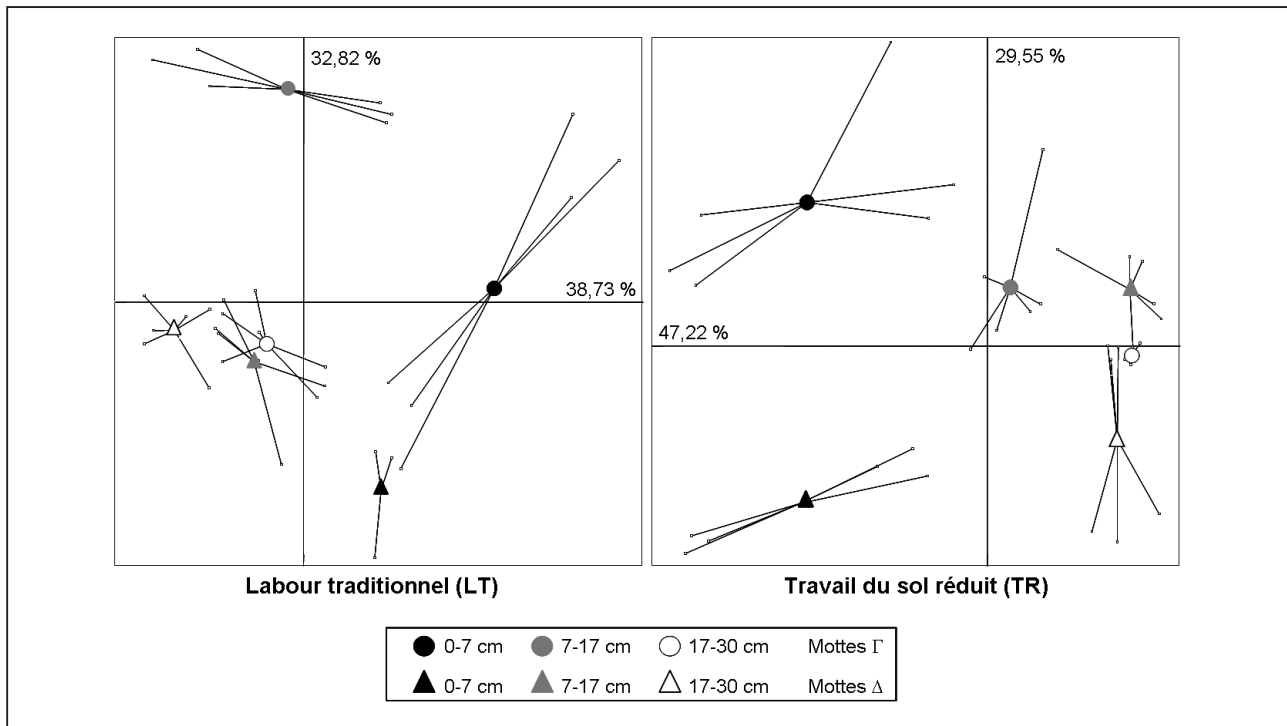
Figure 3 - Distribution of soil microbial biomass and potential C mineralization rate in the soil profile (4 m x 30 cm) : influence of soil structure (compacted zones are outlined in white) and crop residue distribution.



du sol n'a pas d'influence visible sur la minéralisation de C. Le premier facteur limitant l'activité microbienne semble donc être la quantité de substrat disponible, puis le niveau de tassement du sol (mottes Δ) modifie les paramètres microbiens lorsque les microorganismes ont à disposition une quantité suffisante

de MO. Les teneurs en C et N totaux étant identiques au sein des différents types de motte ainsi que la proportion de matière organique particulière (résultats non présentés ici), la diminution de la BM et des activités potentielles au sein des mottes Δ semble donc liée à la structure des mottes plus qu'à la disponibilité des

Figure 4 - Effet de la profondeur de prélèvement et du type de motte sur la structure des communautés bactériennes.
Figure 4 - Influence of soil depth and clod type on bacterial community structure.



substrats entre ces deux zones de prélèvements. Le taux de saturation de la porosité en eau et le risque d'anoxie associé sont plus importants au sein des mottes Δ (Boizard *et al.*, 2004; Curmi *et al.*, 1988). Les microorganismes du sol au sein de ces zones compactées seraient donc confrontés à des conditions anoxiques qui limiteraient leur croissance et diminueraient leur capacité à oxyder la MO du sol (Aon *et al.*, 2001; McGill, 2007). De plus, l'accumulation de CO₂ et la baisse de la concentration en O₂ du fait de l'activité respiratoire des microorganismes inhibent ou ralentissent leur activité. Or, la diffusion de l'O₂ et les échanges gazeux sont déterminés en grande partie par le taux de saturation en eau de la porosité du sol (Sierra et Renault, 1996; Aon *et al.*, 2001). L'accumulation de CO₂ pourrait donc être supérieure au sein des mottes Δ par rapport aux mottes Γ car le renouvellement de l'O₂ et sa diffusion sont favorisés par les vides et les macro-pores (Sierra et Renault, 1996), supérieurs au sein des mottes Γ (Roger-Estrade *et al.*, 2004).

Influence de la profondeur et du type de motte sur la structure des communautés bactériennes

La structure des communautés bactériennes du sol est influencée principalement par le bloc de prélèvement, les tests de permutation révélant une forte influence de ce facteur

($p < 0,001$). Cependant, les facteurs testés, profondeur de prélèvement et type de motte, modifient également la structure des communautés bactériennes de la même manière entre les blocs 1 et 2. Le barycentre des groupes bactériens de la *figure 4* correspond donc au regroupement des blocs 1 et 2.

Les différences de structure des communautés bactériennes entre les blocs de prélèvements pourraient être mises en relation avec les caractéristiques physico-chimiques de la parcelle d'essai. Ce type de sol issu de dépôts d'alluvions présente une hétérogénéité de profondeur du premier horizon pédologique, ce qui peut modifier le régime hydrique du sol et donc influencer les communautés microbiennes. Par ailleurs, la texture du sol varie entre le bloc 1 et le bloc 2, le second bloc ayant une texture moins grossière que le premier (- 7 % de sables grossiers, + 1,2 % d'argile et + 2 % de limons fins). Or, un des premiers déterminants de la variation des communautés microbiennes au sein d'une parcelle est la texture du sol (Wieland *et al.*, 2001). Ces variations expliquent la grande variabilité des communautés pour un horizon de prélèvement et un type de motte donné (*figure 4*).

Le second facteur de modifications des communautés bactériennes du sol est l'horizon de prélèvement. La structure des communautés bactériennes de l'horizon 0-7 cm des modalités LT et TR se différencie nettement sur les plans ACP des autres horizons de prélèvements qui semblent

plus proches. Les communautés bactériennes de l'horizon 0-7 cm sont séparées des autres horizons de prélèvements selon l'axe factoriel 1 pour les deux traitements (Figure 4). Ces changements dans la structure des communautés microbiennes avec la profondeur de prélèvement ont été également observés par plusieurs auteurs. Ils les attribuent aux modifications des caractéristiques physico-chimiques du sol en profondeur: diminution de l'aération du sol, baisse des exsudats racinaires, baisse de la disponibilité en eau et en éléments nutritifs (Fierer *et al.*, 2003; Hansel *et al.*, 2008). Au moment des prélèvements, aucune culture n'était présente sur la parcelle, l'influence du système racinaire et de sa répartition est donc exclue. En revanche, entre l'horizon de surface et les horizons sous-jacents, on observe une augmentation de la masse volumique du sol de 0,2 à 0,3 g.cm⁻³ entre l'horizon 0-7 cm et les horizons inférieurs. Par ailleurs, si les répartitions du C et N totaux sont peu modifiés par les modalités après un an de différenciation, les pools labiles (BM, Cmin) changent selon l'horizon de prélèvement (Figure 3). Les différences de structure du sol et de la répartition des pools labiles de la MO du sol peuvent donc être à l'origine des différences de structure des communautés entre les horizons de prélèvements.

Enfin, la *figure 4* révèle que les communautés bactériennes au sein d'un même horizon sont également influencées par la structure du sol (type de motte). Cette influence apparaît notamment au sein de l'horizon 7-17 cm de la modalité LT et 0-7 et 7-17 cm de la modalité TR. Peu d'études montrent l'influence de la structure du sol sur les communautés microbiennes. Li *et al.* (2004), en mesurant la diversité d'utilisation des substrats des bactéries du sol (Biolog[®]), ne mettent pas en évidence d'effet de la structure du sol sur la diversité fonctionnelle des bactéries. A l'inverse, en étudiant le profil lipidique des communautés microbiennes (PLFA), Rahman *et al.* (2008) montrent que la population des bactéries anaérobies est corrélée positivement à la masse volumique du sol. La T-RFLP ne permet pas d'identifier les espèces bactériennes sensibles au tassement du sol mais cette étude confirme les observations du travail de Rahman *et al.* (2008), à savoir que le niveau de tassement du sol modifierait la structure des communautés bactériennes, soit en raison d'une limitation de l'aération du sol, soit parce que les entrées de C labile diminuent au sein des zones compactées, par exemple *via* une colonisation racinaire moins importante (Cookson *et al.*, 2008; Hansel *et al.*, 2008; Ponder et Tadros, 2002).

CONCLUSION

Les indicateurs microbiens utilisés dans cette étude sont sensibles et discriminants, ils réagissent aux facteurs testés (profondeur d'enfouissement des résidus de culture et structure du sol) et permettent de différencier les modes de travail du sol à court terme, au bout d'une année d'application. Cependant, la

structure des communautés microbiennes, du fait de la grande variabilité spatiale de cet indicateur, reste difficile à utiliser dans un système complexe et hiérarchisé comme une parcelle cultivée. De ce fait, les conclusions sur l'effet de la profondeur d'enfouissement des résidus ainsi que celles de la structure du sol sur les communautés bactériennes doivent être confirmées. En revanche, des indicateurs microbiens quantitatifs, comme la biomasse microbienne ou les activités potentielles de minéralisation du C et N, semblent être pertinents pour l'étude des facteurs testés à cette échelle d'étude, si toutefois l'échantillonnage est adapté.

L'échantillonnage stratifié au sein du profil cultural a en effet permis de rendre compte de l'effet simultané de la localisation des résidus de culture et de la structure du sol sur les microorganismes du sol et de hiérarchiser ces facteurs. Le premier facteur limitant la croissance et l'activité microbienne apparaît ainsi être la quantité de substrat disponible (dû à l'enfouissement des résidus de culture) puis, lorsque cette quantité est suffisante, le second facteur limitant est le niveau de tassement du sol. La stratégie d'échantillonnage adoptée ici permet également de préciser l'effet du mode de travail du sol sur les microorganismes du sol et de relier ces caractéristiques aux techniques culturales mises en œuvre et ce, seulement après un an d'application des traitements. Les prélèvements au champ pour des analyses microbiennes doivent donc être réalisés, dans la mesure du possible, en intégrant l'hétérogénéité spatiale de la structure du sol et des gradients verticaux de matière organique afin d'être le plus précis possible sur l'effet des traitements étudiés.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par l'ADEME et l'ISARA-Lyon dans le cadre d'un cofinancement de thèse. Merci à Monsieur Claude Barbet, agriculteur biologique céréalier à Thil, et à Yvan Gautronneau pour leur contribution à ce travail.

BIBLIOGRAPHIE

- Andrade D.S., Colozzi-Filho A., Giller K.E., 2003 - The Soil Microbial Community and Soil Tillage, pp. 51-81, In A. El Titi, ed. Soil Tillage in Agroecosystems. CRC Press LLC, Boca Raton.
- Aon M.A., Sarena D.E., Burgos J.L., Cortassa S., 2001 - (Micro) biological, chemical and physical properties of soils subjected to conventional or no-till management: an assessment of their quality status. *Soil & Tillage Research*, 60, pp. 173-186.
- Boizard H., Richard G., Defossez P., Roger-Estrade J., Boiffin J. 2004 - Etude de l'effet à moyen et long terme des systèmes de culture sur la structure d'un sol limoneux-argileux du Nord du Bassin Parisien: les enseignements de l'essai de longue durée d'Estrée-Mons (80). *Etude et Gestion des Sols*, 11, pp. 11-20.
- Chaussod, R., Houot, S., Guiraud, G., et J.M. Hetier. 1988. Size and turn-over of the microbial biomass in agricultural soils: laboratory and field experiments., p. 312-326, In J. Smith, ed. Nitrogen Efficiency in Agricultural Soils. Elsevier Appl. Sci.
- Cookson W.R., Murphy D.V., Roper M.M., 2008 - Characterizing the relationships between soil organic matter components and microbial function and composition along a tillage disturbance gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, 40, pp. 763-777.
- Culhane A.C., Perrière G., Considine E.C., Cotter T.G., Higgins D.G., 2002 - Between group analysis of microarray data. *Bioinformatics*, 18, 1600-1608.
- Curmi P., 1988 - Structure, espace poral du sol et fonctionnement hydrique. Quelques analyses de cas concrets. *Science du Sol*, 26, pp. 203-214.
- Drijber R.A., Doran J.W., Parkhurst A.M., Lyon D.J., 2000 - Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management. *Soil Biology & Biochemistry*, 32, pp. 1419-1430.
- Edel-Hermann V., Dreumont C., Perez-Piqueres A., Steinberg C., 2004 - Terminal restriction fragment length polymorphism analysis of ribosomal RNA genes to assess changes in fungal community structure in soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 47, pp. 397-404.
- Ettema C.H., Wardle D.A., 2002 - Spatial soil ecology. *TRENDS in Ecology & Evolution*, 17, pp. 177-183.
- Fierer N., Schimel J.P., Holden P.A., 2003 - Variations in microbial community composition through two soil depth profiles. *Soil Biology and Biochemistry*, 35, 1, pp. 165-176.
- Gautronneau Y. et Manichon H., 1987 - Guide méthodique du profil cultural, Paris/Lyon.
- Hansel C.M., Fendorf S., Jardine P.M., Francis C.A., 2008 - Changes in bacterial and archaeal community structure and functional diversity along a geochemically variable soil profile. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, pp. 1620-1633.
- Hill G.T., Mitkowski N.A., Aldrich-Wolfe L., Emele L.R., Jurkonie D.D., Ficke A., Maldonado-Ramirez S., Lynch S.T., Nelson E.B., 2000 - Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology*, 15, pp. 25-36.
- Janvier C., 2007 - Recherche d'indicateurs de la santé des sols, PhD thesis, AgroParisTech, Paris.
- Li Q., Allen H.L., Wollum A.G., 2004 - Microbial biomass and bacterial functional diversity in forest soils: effects of organic matter removal, compaction, and vegetation control. *Soil Biology & Biochemistry*, 36, pp.571-570.
- Liu W., Marsh T., Cheng H., Forney, L., 1997 - Characterization of microbial diversity by determining terminal restriction fragment length polymorphisms of genes encoding 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, pp. 4516-4522.
- Manichon H., 1982 - Influence des systèmes de culture sur le profil cultural: élaboration d'une méthode de diagnostic basée sur l'observation morphologique. Thèse, Institut National Agronomique Paris-Grignon, Paris.
- Manichon H., Roger-Estrade J., 1990 - Caractérisation de l'état structural et étude de son évolution à court et moyen terme sous l'action des systèmes de culture, pp. 27-55, In L. Combe and D. Picard, eds. Les systèmes de culture. INRA, Paris.
- Martin-Laurent F., Philippot L., Hallet S., Chaussod R., Germon J.C., Soulas G., Catroux, G., 2001 - DNA Extraction from Soils: Old Bias for New Microbial Diversity Analysis Methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, pp. 2354-2359.
- McCarty G.W., Lyssenko N.N., Starr J.L., 1998 - Short-term changes in soil carbon and nitrogen pools during tillage management transition. *Soil Science Society of America Journal*, 62, pp. 1564-1571.
- McGill W.B., 2007 - The Physiology and Biochemistry of Soil Organisms, pp. 231-256, In E. A. Paul, ed. *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry*, Academic press ed.
- Ponder F., Tadros M., 2002 - Phospholipid fatty acids in forest soil four years after organic matter removal and soil compaction. *Applied Soil Ecology*, 19, pp. 173-182.
- Rahman M.H., Okubo A., Sugiyama S., Mayland H.F., 2008 - Physical, chemical and microbiological properties of an Andisol as related to land use and tillage practice. *Soil and Tillage Research*, 101, 1-2, pp. 10-19.
- Ranjard L., Richaume A., 2001 - Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. *Research in Microbiology*, 152, pp. 707-716.
- Roger-Estrade J., Richard G., Caneill J., Boizard H., Coquet Y., Defossez P., Manichon H., 2004 - Morphological characterisation of soil structure in tilled fields: from a diagnosis method to the modelling of structural changes over time. *Soil & Tillage Research*, 79, pp. 33-49.
- Sierra J., et Renault, P., 1996 - Respiratory activity and oxygen distribution in natural aggregates in relation to anaerobiosis. *Soil Science Society of America Journal* 60:1428-1438.
- Thioulouse J., Chessel D., Dolédec S., Olivier J.M., 1997 - ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing*, 7, pp. 75-83.
- Vian J.F., 2009 - Comparaison de différentes techniques de travail du sol en agriculture biologique: effet de la structure du sol et de la localisation des résidus sur les microorganismes du sol et leurs activités de minéralisation du carbone et de l'azote. PhD thesis, AgroParisTech, Paris.
- Vian J.F., Peigné J., Chaussod R., Roger-Estrade, J. 2009 - Effects of four tillage systems on soil structure and soil microbial biomass in organic farming. *Soil Use and Management*, 25, pp. 1-10.
- Voroney R.P., 2007 - The soil habitat, pp. 24-49, In E. A. Paul, ed. *Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry*, Academic press ed.
- Wieland G., Neumann R., Backhaus H., 2001 - Variation of Microbial Communities in Soil, Rhizosphere, and Rhizoplane in Response to Crop Species, Soil Type, and Crop Development. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67, pp. 5849-5854.
- Wu J., Joergensen R.G., Pommerening B., Chaussod R., Brookes P.C., 1990 - Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction: an automated procedure. *Soil Biology & Biochemistry*, 22, pp. 1167-1169.