

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ADN:</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ADNr:</b>	Acide désoxyribonucléique ribosomique
<b>BET:</b>	Bromure d'éthidium
<b>BSA:</b>	Bovine Serum Albumin
<b>C:</b>	Carbone
<b>CO<sub>2</sub>:</b>	dioxyde de carbone
<b>dNTP:</b>	désoxyribonucléosides triphosphate
<b>EDTA:</b>	Ethylène Diamine-Tetraacétique Acid
<b>g:</b>	gramme
<b>ha:</b>	hectare
<b>h:</b>	heure
<b>J:</b>	Jachère à <i>Aristida rufescens</i>
<b>K:</b>	Potassium
<b>Kg:</b>	Kilogramme
<b>Km:</b>	Kilomètre
<b>Km<sup>2</sup>:</b>	Kilomètre carré
<b>LB:</b>	Labour
<b>Cm:</b>	centimètre
<b>m:</b>	mètre
<b>mg:</b>	milligramme
<b>mM:</b>	millimolaire
<b>min:</b>	minute
<b>MO:</b>	Matière Organique
<b>MOP:</b>	Matière organique particulaire
<b>MOS:</b>	Matière organique des sols
<b>N:</b>	Azote
<b>NH<sub>3</sub>:</b>	Ammoniac
<b>NO<sub>3</sub><sup>-</sup>:</b>	ion nitrate
<b>pb:</b>	paires de bases
<b>PCR :</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>pH:</b>	potentiel hydrogène
<b>MOP:</b>	matière organique particulaire
<b>qsp:</b>	quantité suffisante pour
<b>s:</b>	seconde
<b>SCV:</b>	Système semis direct sur couverture végétale
<b>SD:</b>	Semis direct sur résidus de récolte
<b>SDD:</b>	Semis direct sur couverture vive de <i>Desmodium uncinatum</i>
<b>SDK:</b>	Semis direct sur couverture vive de Kikuyu
<b>SO<sub>4</sub><sup>-</sup>:</b>	ion sulfate
<b>TBE:</b>	Tris borate EDTA
<b>UV:</b>	Ultra-Violet
<b>µm:</b>	micromètre
<b>µl:</b>	microlitre
<b>µg:</b>	microgramme
<b>%:</b>	pourcentage
<b>°C:</b>	degré Celsius

## LISTE DES ILLUSTRATIONS

### Figures :

**Figure 1 :** Schéma du protocole de fractionnement granulométrique

**Figure 2 :** La réaction en chaîne par polymérisation.

**Figure 3 :** Différentes étapes du cycle thermique de la PCR pour l'amplification de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales.

**Figure 4 :** Description schématique de l'électrophorèse en gradient de gel de dénaturation (DGGE).

**Figure 5:** Teneurs en C (Fig 5A) et N totaux (Fig 5B) dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000$   $\mu\text{m}$  des sols sous les situations de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB) et semis direct sur résidus de récolte (SD).

**Figure 6:** Activité de la  $\beta$ -glucosidase dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000$   $\mu\text{m}$  des sols sous jachère (J), labour (LB) et semis direct (SD). □  $\mu\text{m}$  des so

**Figure 7:** Activité de la phosphatase acide dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000$   $\mu\text{m}$  des sols des situations de jachère (J), labour (LB) et semis direct (SD).

**Figure 8 :** Profils DGGE de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales dans les fractions de sol 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000$   $\mu\text{m}$  des situations de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB) et de semis direct sur résidus de récolte (SD).

**Figure 9:** Dendrogramme de similarité (UPGMA) obtenus à partir des profils DGGE dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  (Fig 9A) et  $> 2000$   $\mu\text{m}$  (Fig 9B) des sols de jachère (J), de labour (LB) et semis direct (SD).

**Figure 10:** Teneurs en C (Fig 10A) et N (Fig 10B) totaux dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000$   $\mu\text{m}$  des sols de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD).

**Figure 11:** Activité  $\beta$ -glucosidase dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000$   $\mu\text{m}$  des sols de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD).

**Figure 12:** Activité phosphatase acide dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000$   $\mu\text{m}$  des sols de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), et de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD).

**Figure 13:** Profils DGGE de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales des sols des situations labour (LB), semis direct sur résidus de récoltes (SD), semis direct sur couverture de kikuyu (SDK), semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD), jachère à *Aristida rufescens* (J) pour les échantillons de sol de la fraction 2-50  $\mu\text{m}$  et un échantillon de sol témoin de la fraction  $> 2000$   $\mu\text{m}$  (F $> 2000$   $\mu\text{m}$ ).

**Figure 14:** Dendrogramme de similarité (UPGMA) obtenus à partir des profils DGGE des différentes situations de jachère à *Aristida rufescens* (Jach), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD) des sols de la fraction 2-50  $\mu\text{m}$  et un échantillon de sol témoin de la fraction  $> 2000$   $\mu\text{m}$ .

**Figure 15:** Profils DGGE de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales des situations de labour (LB), de semis direct sur résidus de récoltes (SD), de semis direct sur couverture de kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium*

*uncinatum* (SDD), de jachère (J) à *Aristida rufescens* pour les sols de la fraction >2000 µm et un échantillon de sol témoin de la fraction 2-50 µm (F2-50 µm).

**Figure 16:** Dendrogramme de similarité (UPGMA) obtenus à partir des profils DGGE des différentes situations de jachère à *Aristida rufescens* (Jach), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD) des sols de la fraction >2000 µm.

## Tableaux

**Tableau 1 :** Récapitulatif du dispositif de Bemasoandro.

**Tableau 2 :** Récapitulatif du dispositif d'Andranomanelatra.

## Table des matières

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE .....	6
1. Le sol.....	7
1.1. Les constituants du sol .....	7
1.1.1. La fraction minérale .....	7
1.1.2. La fraction organique .....	7
1.1.2.1. Le compartiment organique inerte .....	7
1.1.2.2. La fraction organique vivante .....	8
1.2. L'organisation du sol.....	10
1.2.1. La texture.....	10
1.2.2. La structure.....	11
1.2.2.1 - Les agrégats : biotopes hétérogènes.....	11
1.2.2.2 - Les micro-agrégats .....	12
1.2.2.3 - Les macro-agrégats .....	13
1.2.3. La porosité.....	13
2. Activités enzymatiques .....	14
2.1. La $\beta$ -glucosidase.....	14
2.2. La phosphatase .....	15
3. Les modes de gestion des terres .....	15
3.1. Le labour .....	15
3.2. Le semis direct sur couverture végétale (SCV).....	16
3.2.1. Les principaux systèmes SCV .....	16
3.2.2. Les avantages des SCV .....	17
3.2.2.1. Les SCV: source de MO.....	17
3.2.2.2. SCV et protection des sols. ....	17
3.2.2.3. SCV et stockage du C.....	18
3.2.2.4. SCV et adventices .....	19
CHAPITRE 2: MATERIEL ET METHODES .....	20
1. MATERIEL.....	21
1.1. Présentation des sites d'étude.....	21
1.1.1. Le dispositif de Bemasoandro .....	21
1.1.2. Le dispositif d'Andranomanelatra.....	22
1.2. L'échantillonnage.....	23
2. METHODES .....	23
2.1. Fractionnement physique du sol.....	23
2.2. Dosage du carbone total et de l'azote total .....	25
2.3. Détermination des activités enzymatiques .....	25
2.3.1. Activité de la $\beta$ -glucosidase .....	26
2.3.2. Activité de la phosphatase acide .....	26
2.4. Structure génétique des communautés bactériennes totales.....	27
2.4.1. Extraction de l'ADN total du sol.....	27
2.4.2. PCR-DGGE.....	27
2.4.2.1. La PCR (réaction en chaîne par polymérisation) .....	28
2.4.2.2. La DGGE (Gel Electrophorèse en gradient de dénaturation) .....	30
2.5. Analyses statistiques .....	31
CHAPITRE 3 : RESULTATS.....	32
A. Site de Bemasoandro .....	33
1. Teneurs en C et N totaux du sol .....	33
2. Activités enzymatiques .....	34

2. 1. Activité de la $\beta$ -glucosidase .....	34
2. 2. Activité de la phosphatase acide .....	35
3. Structure génétique des communautés bactériennes totales.....	35
B. Site d'Andranomanelatra.....	38
1. Teneurs en C et N totaux du sol .....	38
2. Activités enzymatiques .....	39
2. 1. Activité $\beta$ -glucosidase .....	39
2. 2. Activité phosphatase acide .....	40
3. Structure génétique des communautés bactériennes totales.....	41
CHAPITRE 4: DISCUSSION.....	46
1. Effets des modes de gestion du sol sur les teneurs en C et N totaux. ....	47
2. Effets des modes de gestion du sol sur les activités enzymatiques.....	49
3. Effets des modes de gestion du sol sur la structure génétique des communautés bactériennes totales. ....	50
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	53
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	56
ANNEXES .....	63

# **INTRODUCTION**

Dans les sols, sous le vocable de "matière organique du sol" (MOS), on rassemble un continuum de formes vivantes et mortes allant du résidu végétal, animal ou microbien frais aux substances humiques associées ou juxtaposées à des particules minérales. Cette matière organique joue un rôle fondamental dans le fonctionnement des écosystèmes terrestres et dans la productivité végétale. Elle participe à la fertilité des sols par ses effets sur la structure et par la fourniture d'éléments minéraux indispensables à la nutrition et la croissance des plantes. La matière organique constitue également une source de nutriments et/ou d'énergie pour les organismes vivants du sol. C'est un déterminant principal de l'activité biologique dans l'écosystème édaphique.

Les sols tropicaux sont, pour l'essentiel, caractérisés par une dégradation progressive, c'est le cas des sols ferrallitiques argileux des tanety sur les Hautes Terres de Madagascar. Les causes majeures de cette dégradation sont principalement liées à la baisse de leur réserve organique. Dans ces sols, le labour intensif entraîne une minéralisation rapide des stocks organiques et expose le sol nu. Cette surexploitation des terres favorise l'érosion hydrique qui entraîne une perte importante de terres arables, de matière organique et de nutriments. Ce phénomène conduit inexorablement à une baisse de la fertilité et des rendements agricoles. Face à cette situation, l'élaboration de stratégies adaptées pour assurer une bonne protection des sols et augmenter la rentabilité agricole s'avère indispensable.

C'est ainsi que de nouvelles alternatives de modes de gestion des sols sont en expérimentation depuis une dizaine d'années dans la région d'Antsirabe sur les Hautes Terres à Madagascar. Il s'agit des systèmes de semis direct sur couverture végétale permanente (SCV) qui visent la régénération et le maintien de la fertilité des sols par un apport continu en matière organique. Dans ces systèmes le travail du sol est réduit et une couverture morte ou vivante est maintenue en permanence. Les semis sont réalisés directement dans la couverture après ouverture d'un petit trou ou sillon.

Les systèmes de semis direct sur couverture végétale permanente offrent de multiples avantages notamment :

- apport continu de matières organiques
- contrôle de l'érosion des sols
- contrôle des adventices
- réduction des pertes en eau et en éléments minéraux .
- réduction des émissions de gaz à effet de serre (CO<sub>2</sub>) par la séquestration du C dans les agrégats (Wright et al., 2005) etc.

L'action de la couverture permanente du sol favorise l'accumulation du carbone, la formation des agrégats et améliore la porosité des sols (Schutter et Dick., 2002). La protection des sols contre l'érosion se fait par une production de biomasse aérienne à partir des résidus de récolte et/ou à partir de la biomasse annuelle de couverture associées à leurs systèmes racinaires. Elle se fait également par la protection des agrégats de surface contre les effets déstructurant des gouttes de pluies (Perret, 1992).

Les SCV interviennent dans les activités biologiques dans lesquelles sont impliquées les communautés microbiennes. Cependant, peu d'études permettent d'intégrer dans une approche hiérarchique en classe d'agrégats l'impact de ces modes d'usage des terres sur l'activité et la structure génétique des communautés bactériennes des sols. Il apparaît donc indispensable d'entreprendre des études permettant une meilleure compréhension du fonctionnement microbiologique des sols en particulier celle des microorganismes dans les agrégats des sols sous SCV.

Les microorganismes des sols, par l'intermédiaire de leurs activités enzymatiques jouent un rôle majeur dans les processus de décomposition des résidus organiques et dans les cycles biogéochimiques. Des études de Dick (1994) ont montré que les enzymes des sols sont sensibles aux perturbations. Les mesures des activités enzymatiques peuvent être utilisées pour évaluer la qualité des sols et la durabilité des écosystèmes agricoles.

Les pratiques agricoles modifient les activités, et la structure génétique des microorganismes du sol. Or les communautés microbiennes, composantes essentielles de la stabilité des écosystèmes, peuvent être considérées comme un indicateur du statut biologique des sols. Mais l'évaluation du rôle de ces communautés microbiennes dans le fonctionnement global du sol présente une difficulté majeure liée à leur distribution très hétérogène. L'amélioration d'une production agricole durable passe par une meilleure compréhension de la dynamique spatio-temporelle de la matière organique et des acteurs impliqués dans sa décomposition et de leur environnement.

Le sol est un milieu complexe qui comprend une mosaïque de micro-environnements hétérogènes qui représentent une variété d'habitats. Les microorganismes qui colonisent le sol ne se répartissent donc pas au hasard. Ils sont intimement associés aux unités structurales du sol appelées agrégats ou habitats microbiens. La colonisation se fait à la fois selon leur taille, leur métabolisme, et selon l'organisation des particules minérales et organiques et les vides associés. Cette distribution organisée des microorganismes dans le sol traduit une relation étroite entre la dynamique structurale des sols et celle des microorganismes associés. La localisation des microorganismes dans les habitats microbiens, dépend de leur résistance aux

différentes contraintes environnementales (Chotte et al., 1998). Des travaux de Torsvik et Ovreas (2002) montrent que plus 80% des populations bactériennes totales sont préférentiellement localisés dans les micropores qui se trouvent dans les micro-agrégats 2-20  $\mu\text{m}$ . Cet agrégat limoneux offre des conditions favorables à la croissance et à l'activité microbienne avec la disponibilité de l'eau et des substrats, la diffusion des gaz et une bonne protection contre les prédateurs.

Par ailleurs, des travaux conduits par Chotte et al., (2002) montrent que l'impact des pratiques de jachère sur de la diversité génétique des communautés microbiennes est plus variable au niveau du macro-agrégat  $> 2000 \mu\text{m}$ . L'allongement de la période de jachère est favorable à la formation de cet habitat  $> 2000 \mu\text{m}$  qui héberge des microorganismes dont l'activité contribue au fonctionnement microbiologique du sol. La poursuite de la recherche sur les modes de gestion qui favorisent sur de courtes périodes la formation du macro-agrégat  $> 2000 \mu\text{m}$  et la mise en œuvre d'itinéraires techniques lors de la phase de culture qui perturbent le moins possible ces habitats sont recommandés (Ndour et al., 2003). Les deux fractions (2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$ ) sont très sensibles par rapport aux itinéraires techniques liés aux modes de gestion des sols.

Ces différents résultats soulignent l'étroitesse des relations entre l'organisation physique du sol et la localisation des communautés microbiennes.

**L'objectif** de cette étude est de déterminer l'impact des modes de gestion de systèmes de semis direct sur couverture végétale permanente (SCV) sur l'activité et la structure génétique des communautés bactériennes dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$  des sols. L'objectif finalisé est d'identifier parmi ces différentes pratiques de gestion des sols, celles qui permettent non seulement de maintenir la fertilité des sols mais également de lutter contre la dégradation et la vulnérabilité de ceux-ci face aux conditions et changements climatiques.

Pour atteindre notre objectif deux hypothèses sont posées :

- 1 - les modes de gestion (semis direct sur couverture végétale, labour et jachère) modifient l'activité et la structure génétique des communautés bactériennes dans le sol des habitats 2-50  $\mu\text{m}$  et  $>2000 \mu\text{m}$ .
- 2 - le semis direct augmente la microflore associée aux agrégats 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$  et favorise l'activité enzymatique.

Ce mémoire s'articule autour de quatre chapitres.

- 1 - Le premier chapitre est consacré à une synthèse bibliographique.
- 2 - Le deuxième chapitre porte sur le matériel et les méthodes.

- 3 - Le troisième chapitre présente les résultats de nos travaux,
- 4 - le dernier chapitre est consacré à la discussion.

## **CHAPITRE 1 : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **1. Le sol**

Le sol représente la couche superficielle meuble de la croûte terrestre à l'interface entre la lithosphère et l'atmosphère. C'est un milieu vivant qui renferme une grande diversité d'organismes et constitue le support des activités humaines. Il représente pour les organismes qui y vivent un milieu très complexe et très hétérogène. Il est constitué d'une phase solide dominante formée de particules de tailles et de natures variables (particules minérales et organiques), d'une phase aqueuse et d'une phase gazeuse. Le mode de disposition de ces différentes particules forme des vides où pores. Ce milieu minéral poreux est une voie de circulation des phases liquides et gazeuses du sol.

### **1.1. Les constituants du sol**

#### **1.1.1. La fraction minérale**

C'est la fraction qui représente en proportion 93 à 95% du poids total du sol. Elle est formée d'éléments minéraux de diverses tailles issus de l'altération d'une roche-mère sous-jacente. Ces éléments minéraux de formes et de diamètres différents définissent par leur prépondérance, la nature texturale d'un sol. Ainsi, on distingue les cailloux ou blocs à éléments de tailles supérieures à 2 mm, les sables à éléments de tailles comprises entre 2 mm et 50  $\mu\text{m}$ , les limons entre 50  $\mu\text{m}$  et 2  $\mu\text{m}$  et les argiles formés d'éléments dont la taille est inférieure ou égale à 2  $\mu\text{m}$ .

#### **1.1.2. La fraction organique**

La fraction organique comprend l'ensemble des substances biologiques d'origine animale et végétale que l'on retrouve dans le sol. On peut distinguer deux fractions : une fraction organique vivante et une fraction organique inerte (Theng, 1987).

##### **1.1.2.1. Le compartiment organique inerte**

Ce compartiment est défini par divers stades de décomposition de la matière organique. Les débris végétaux (feuilles et rameaux morts) et animaux (excréments, cadavres etc.) de toute nature qui arrivent au sol constituent la fraction organique inerte. Ces débris qui représentent une source importante de matière organique sont plus ou moins rapidement décomposés dès leur retour au sol sous l'influence de l'activité biologique. Parmi ces débris, la litière constitue une importante masse végétale qui recouvre le sol minéral. Dans les premières étapes de sa décomposition, la litière donne naissance d'une part, à des éléments minéraux solubles ou gazeux, tels que,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{SO}_4^-$  etc. (c'est la minéralisation). D'autre part, cette litière donne des composés amorphes (fraction organo-argileuse) qui peuvent contracter des

liaisons avec la fraction minérale chimiquement active du sol (argiles) pour former le complexe argilo-humique. Cette matière organique dont la minéralisation est plus lente constitue l'humus. L'humus est relativement plus stable et plus résistant à la biodégradation que la matière organique fraîche. L'humification désigne l'ensemble des processus de transformation de la matière organique fraîche en humus.

#### **1.1.2.2. La fraction organique vivante**

La fraction organique vivante comprend les organismes vivants dans le sol. Il s'agit d'abord de la faune constituée par la macrofaune et la microfaune du sol, les organismes microscopiques ou micro-organismes, et enfin les organes souterrains des plantes. Dans cette revue, nous parlerons uniquement des microorganismes.

##### **a) Les microorganismes**

Les microorganismes du sol sont les acteurs principaux des processus de décomposition de la matière organique du sol et du recyclage des nutriments. Ils sont principalement représentés par les bactéries et les champignons, qui assurent des fonctions essentielles pour la nutrition minérale des plantes.

##### **- Les Bactéries**

Ce sont des organismes procaryotes unicellulaires à paroi rigide et de diverses formes. L'un des aspects écologiques les plus saillants chez les bactéries est leur caractère ubiquiste (Horner-Devine et al., 2003). Les bactéries sont présentes dans le sol en proportions variables. Elles apprécient les milieux à pH neutre ou alcalin, riches en azote, et à une température variant entre 20 et 40°C (bactéries mésophiles). Cependant, *Thermus aquaticus*, une bactérie des eaux thermales reconnue pour sa contribution à la Taq polymérase en biologie moléculaire, a son optimum de croissance à une température variant entre 70 et 79°C, une gamme de température létale pour les plantes et les animaux (Brock et Freeze., 1969).

Les bactéries sont abondantes dans la rhizosphère des graminées et des légumineuses et possèdent une grande diversité spécifique et fonctionnelle. Certaines sont capables d'utiliser le carbone sous forme minérale CO<sub>2</sub> comme substrat énergétique. Ce sont les bactéries autotrophes. D'autres ont besoin d'une source de carbone organique pour leur métabolisme énergétique et leur croissance. Ce sont les bactéries hétérotrophes. On trouve également parmi les bactéries, des organismes saprophytes qui vivent aux dépens de la nécromasse. Les hétérotrophes et les saprophytes sont les plus nombreuses dans le sol.

Certains groupes de bactéries du genre *Rhizobium* sont capables d'entrer en symbiose avec les plantes de la superfamille des Légumineuses pour la fixation biologique de l'azote. Cette

symbiose est d'une importance agronomique considérable. Elle permet de subvenir aux besoins des plantes pour la nutrition azotée ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) et de réduire la fertilisation chimique azotée.

D'autres groupes bactériens comme les actinomycètes (Eubactéries gram +, High G-C) possèdent des filaments ramifiés et émettent des conidies (Davet, 1996). Ils sont proches de certains champignons avec lesquels ils partagent quelques caractères (filaments et conidies). Cependant leur filament ramifié présente un diamètre plus petit que celui des champignons (0,5 à 1  $\mu\text{m}$ ). Ces microorganismes ont généralement les exigences des bactéries aérobies (pH voisin de la neutralité, bonne oxygénation). Les actinomycètes participent activement à l'humification en s'attaquant à la lignine composé biochimique récalcitrant. Mais surtout, ils sont capables de s'attaquer aux humus pour qu'ils libèrent à la fois l'azote qu'ils contiennent, mais aussi les éléments échangeables qu'ils avaient fortement adsorbé.

Certains actinomycètes vivent en symbiose avec des espèces végétales de la famille des Casuarinacées (Davet, 1996). Cette symbiose actinorhizienne est définie comme étant l'association entre environ 260 espèces d'Angiospermes et les bactéries fixatrices d'azote du genre *Frankia* qui aboutit à la formation de nodules au niveau du système racinaire de la plante hôte (Dommergues et al., 1998). Des genres comme *Streptomyces* et *Nocardia* sont aussi fréquemment rencontrés dans le sol et sont particulièrement aptes à décomposer les composés récalcitrants.

Par ailleurs les bactéries participent à la structuration du sol par la sécrétion de polysaccharides qui lient les particules minérales et contribuent à la stabilité des micro-agrégats.

#### **- Les champignons**

Ce sont des organismes eucaryotes hétérotrophes stricts. Ils sont généralement filamenteux (Champignons supérieurs : Ascomycètes, les Basidiomycètes etc.), mais peuvent être unicellulaires (levures, moisissures). Ils supportent les milieux à pH acide et pauvres en oxygène. La plupart des levures sont saprophytes et vivent aux dépens de la nécromasse. Les champignons participent activement à la structuration du sol en assurant la stabilité des macro-agrégats (Gupta et Germida, 1988; Tisdall 1994; Bossuyt et al., 2001). Ils interviennent également dans la décomposition de la matière organique et sont particulièrement aptes à la dégradation de composés biochimiques récalcitrants à faible teneur en azote (ratio C/N élevé). Les champignons ont la capacité d'entrer en symbiose avec les racines des plantes pour former des mycorhizes (Read, 1991). Cette symbiose est cosmopolite et permet l'amélioration de la nutrition hydrique et phosphatée des plantes.

## **1. 2. L'organisation du sol**

L'organisation des constituants du sol est fonction de la taille des particules minérales et organiques et des contraintes physiques subies par le sol. Trois principaux éléments sont habituellement retenus pour décrire les propriétés physiques d'un sol. Il s'agit de la texture, de la structure et de la porosité.

### **1. 2. 1. La texture**

La texture d'un sol ou sa composition granulométrique est la caractéristique qui fait référence à la taille des éléments minéraux qui la compose. La texture peut être définie par la proportion de chaque classe de grosseur des particules minérales élémentaires du sol. Les éléments constitutifs intervenant dans la définition de la texture d'un sol sont les sables, les limons, et les argiles. La proportion relative de chacun de ces trois éléments permet de définir la nature du sol.

La texture est définie par un nom lorsqu'un seul des éléments est nettement dominant. On parle dans ce cas de texture argileuse, limoneuse, ou sableuse. La texture peut être définie par deux noms quand un élément ne domine pas de façon très nette; elle est ainsi nommée par les deux éléments les plus importants. Dans ce cas, on parle par exemple de texture argilo-limoneux, argilo-sableux, limono-sableux etc. Le premier constituant nommé indique le caractère le plus marqué.

La texture peut avoir une influence importante sur l'agrégation du sol. Dans les sols à texture sableuse, le contenu en carbone organique du sol influence la structure, puisque le sable n'est pas une fraction chimiquement active. Contrairement aux sols sableux, les sols argileux en particulier le type d'argile jouent un rôle très important dans la formation des agrégats. Les propriétés et la nature des argiles en font un élément important de la structure du sol (Oades, 1993). Les argiles ont une grande propriété électrostatique et une capacité de se gonfler en présence d'eau. Cette plasticité des particules d'argiles leur confère une capacité de rétention d'eau élevée. Leur charge négative leur permet de nouer des liaisons chimiques avec les cations comme les ions magnésium, fer, calcium, etc. Ils peuvent constituer par là une réserve importante en éléments minéraux en assurant la régulation et l'approvisionnement de la phase liquide du sol. Une augmentation de la concentration en argile est souvent associée à une augmentation de la stabilité du carbone organique du sol.

### **1. 2 .2 . La structure**

La structure et la porosité, contrairement à la texture qui ne se modifie pas facilement, sont des éléments dynamiques des propriétés physiques d'un sol. La structure traduit le mode d'assemblage des particules solides (sables et limons) avec les agents liants organiques ou minéraux (humus et argiles).

La structure d'un sol fait référence à la taille, à la forme et à l'arrangement des particules minérales élémentaires, à la continuité des vides ou pores, à la capacité à retenir et à transmettre les substances organiques et inorganiques, et à supporter la vigueur et le développement des racines (Lal et al., 1991). Les substances humiques peuvent se lier à la fraction minérale du sol pour former des complexes et des agrégats qui caractérisent la structure du sol. Les agrégats constituent les éléments structuraux de base du sol. Ils résultent de l'association entre les particules de sables et des limons avec les ciments minéraux et les liants organiques. L'agrégation des particules du sol ainsi que l'incorporation de la matière organique résultent à la fois de phénomènes biotiques et physico-chimiques. Des facteurs biotiques comme les exsudats des racines des plantes, l'action des vers de terres, ou les hyphes des champignons jouent un rôle prépondérant dans la structuration du sol en particulier dans la formation des agrégats. Ainsi la formation de la structure d'un sol est due principalement à l'agrégation des particules par les vers de terres et la création de pores par les réseaux formés par les racines et les hyphes des champignons. Ces agrégats ont une certaine résistance physique aux agressions mécaniques naturelles (érosion, gouttes de pluies etc.) ou artificielles (actions anthropiques comme les pratiques agricoles). La capacité d'un sol à résister à ces agressions constitue la stabilité structurale. Cette stabilité des agrégats est importante sur les processus qui maintiennent une agriculture durable par la formation de réservoirs de nutriments. Une bonne structure d'un sol traduit une porosité élevée et des agrégats grumeleux, ce qui améliore les réserves en eau, l'aération et la perméabilité, l'enracinement et la résistance aux agressions. La structure peut être un indicateur de l'état de santé d'un sol. La détérioration de la structure est un symptôme de dégradation d'un sol. La stabilité des agrégats est souvent utilisée comme un indicateur de la structure du sol (Six *et al*, 2000). Les pratiques agricoles inadaptées et la baisse du stock de matière organique suite à une minéralisation accrue sont à l'origine de la déstructuration des sols.

#### **1. 2 .2 1 - Les agrégats : biotopes hétérogènes**

De nombreux microorganismes comme les bactéries vivent dans le sol au sein d'unités structurales appelées agrégats ou habitats microbiens. Plusieurs définitions sont proposées pour décrire la notion d'habitat microbien. Pour Odum (1971), l'habitat microbien constitue

l'adresse des microorganismes. Les agrégats sont des niches écologiques dont les propriétés physiques et chimiques contribuent à l'hétérogénéité de la distribution spatiale des microorganismes dans le sol (Schutter et Dick, 2002).

Les agrégats sont des particules secondaires formées à travers la combinaison de particules minérales avec des substances organiques et inorganiques. L'agrégation est un processus complexe et dynamique qui résulte de l'interaction de plusieurs facteurs tels l'environnement, la gestion du sol, l'influence des plantes, les propriétés physiques du sol comme sa composition minéralogique, à la concentration en carbone organique du sol, les processus de pédogenèse, l'activité microbienne, les réserves en nutriments, l'humidité (Kay, 1998; Six et al., 2004). Les agrégats se forment d'abord à la suite de processus physiques puis l'activité biologique et les réactions chimiques assurent sa stabilisation.

Ils sont souvent groupés par taille et on peut distinguer les micro-agrégats (<250  $\mu\text{m}$ ) des macro-agrégats (> 250  $\mu\text{m}$ ) (Tisdall et Oades, 1982). Les différents groupes peuvent être distingués par la convenance des agents liants mais aussi par la distribution du carbone et de l'azote (Bronick et Lal, 2005). Guckert et al., 1975 ont montré qu'un marquage du glucose au  $^{14}\text{C}$  permet de montrer que les composés responsables de l'accroissement du taux d'agrégats stables sont essentiellement des chaînes de polysaccharides néo-synthétisés par les microorganismes. Un effet stabilisateur équivalent est observé si l'on ajoute seulement au sol des polysaccharides extraits des cultures bactériennes. Les bactéries et les algues unicellulaires sont entourées de capsule épaisse constituée de glycoprotéines et de polysaccharides. Le rôle de ces polymères dans la constitution et la stabilité des micro-agrégats est largement confirmé alors que ce sont les champignons et les racines des végétaux sont des acteurs principaux dans la stabilité des macro-agrégats.

### **1. 2 .2.2 - Les micro-agrégats**

Les micro-agrégats sont constitués essentiellement de particules de sable fin, de limon fin et grossier, de particules d'argiles et de matières organiques. L'action conjuguée des ciments minéraux et des liants organiques assure une cohésion de ces microstructures et leur confèrent une résistance en présence d'eau (Davet, 1996). Les ciments minéraux sont constitués principalement par les argiles et les hydroxydes métalliques. Les argiles ont de grandes propriétés électrostatiques et peuvent contracter des liaisons chimiques complexes avec des ions comme le calcium ou le fer et les substances humiques pour former des composés stables. Les liants qui comprennent des produits de nature essentiellement polysaccharidique, directement liés à la présence des racines et des microorganismes (Davet, 1996), jouent un rôle majeur dans la liaison des unités structurales du sol. Les substances

humiques peuvent elles aussi provenir des exsudats des racines des plantes qui libèrent des polysaccharides, mais aussi des microorganismes. Il peut s'agit des capsules des bactéries du mucus des algues ou des champignons.

### **1. 2 .2.3 - Les macro-agrégats**

Les macro-agrégats se forment par la réunion de plusieurs micro-agrégats (Wei *et al.*, 2006). Leur formation est souvent liée en partie à des actions mécaniques comme le tassement, la mobilité des organismes (celle des vers de terres par exemples), le mouvement des racines des plantes et surtout les hyphes des champignons. Ces derniers jouent un rôle important dans la formation et la stabilisation des macro-agrégats (Gupta et Germida, 1988; Tisdall 1994). Les hyphes des champignons produisent des polysaccharides extracellulaires qui se lient aux micro-agrégats pour former des macro-agrégats. Certaines études (Miller et Jastrow., 1990; Tisdall., 1994) montrent que la stabilité des macro-agrégats dans plusieurs types de sol est liée à la taille des hyphes des champignons. La suppression de la croissance des champignons par l'addition de fongicides conduit à une réduction de la formation des macro-agrégats (Bossuyt et al., 2001). La formation de ces macro-agrégats est donc positivement corrélée à l'activité fongique (Bossuyt et al., 2001).

#### **1.2.3. La porosité**

La porosité est la quantité de vides qui résulte de l'empilement des particules de sol dans les agrégats, et celui des agrégats dans le sol. C'est la fraction du volume de sol qui n'est pas occupé par la matière solide. Elle dépend du mode d'arrangement des constituants solides du sol et de leur nature. La porosité est une propriété physique très importante. Elle contrôle la circulation des fluides et des gaz dans le sol et exerce ainsi une influence sur l'activité biologique.

L'organisation des espaces vides dans le sol définit des pores de diamètre différent qui peuvent être répartis en trois groupes. Les macropores dont le diamètre est compris entre 200  $\mu\text{m}$  et 6  $\mu\text{m}$ ), les micropores de diamètre compris entre 6  $\mu\text{m}$  et 0,2  $\mu\text{m}$  et la porosité matricielle formée de pores très fins de diamètre inférieur à 0,2  $\mu\text{m}$  (Callot et al., 1982).

La macroporosité caractérise les pores les plus gros dans lesquels l'eau circule librement sous l'effet de la gravité. Elle résulte de l'activité biologique et des mouvements internes liés au gonflement et à la dessiccation du sol. Elle ne retient pas l'eau sauf dans le cas des sols hydromorphes et permet les échanges gazeux. Contrairement à la macroporosité, la microporosité retient l'essentiel de la réserve en eau utilisable par les plantes. Ses pores sont accessibles aux bactéries et peuvent permettre la pénétration des poils absorbants. La phase

liquide retenue dans la microporosité contient l'essentiel des solutés provenant des phénomènes de dissolution ou d'échanges avec les éléments de la phase solide environnante. La porosité matricielle est difficilement exploitable par les racines. Dans ce cas l'extraction de l'eau ne peut se faire que par succions inférieures à – 15 bars (Callot et al., 1982).

## **2. Activités enzymatiques**

Les activités enzymatiques jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement biochimique des sols. Elles participent à la formation et à la dégradation de la matière organique, au cycle des nutriments et à la décomposition des composés xénobiotiques (Martinez et al., 2007). Des études ont montré que les enzymes des sols sont sensibles aux perturbations (Dick, 1994) et peuvent être utilisées comme indicateur de la qualité des sols (Roldan et al., 2004). L'étude des activités enzymatiques nous permet également de mieux comprendre le fonctionnement biochimique des écosystèmes édaphiques. En effet, les microorganismes sont responsables d'innombrables processus qui se produisent dans le sol. Ils constituent les principales sources d'enzymes retrouvées dans le sol (Tabatabai., 1994). Les enzymes peuvent également provenir des plantes et des animaux. Au cours de notre étude, les mesures de deux activités enzymatiques ont été déterminées : la  $\beta$ -glucosidase et la phosphatase acide.

### **2. 1. La $\beta$ -glucosidase**

La  $\beta$ -glucosidase fait partie du groupe des enzymes extracellulaires qui interviennent dans le cycle du carbone. Elle joue un rôle clé dans la dégradation des hydrates de Carbone ayant des liaisons  $\beta$ -glucosides pour la production du glucose qui est la source principale d'énergie pour les microorganismes hétérotrophes (Deng et Tabatabai., 1996 ; Martinez et al., 2006). La  $\beta$ -glucosidase est retrouvée dans le sol et provient de l'activité des bactéries, des champignons et des plantes. Elle intervient dans la dernière étape qui limite la dégradation de la cellulose. La mesure de l'activité de cette enzyme dans le sol peut fournir des informations sur l'état de la décomposition de la matière organique. Plusieurs études montrent que l'activité  $\beta$ -glucosidase est très sensible aux modes de gestion des terres (Dick et al., 1996 ; Dick et Tabatabai., 1999; Madejon et al., 2001) et constitue un indicateur précoce de changements dans la qualité des sols (Ndiaye et al., 2000).

## **2. 2. La phosphatase**

Des études (Eivazi et Tabatabai 1977; Dick et Tabatabai, 1984) montrent que deux activités phosphomonoestérases peuvent être retrouvées dans le sol, l'une dite acide (pH optimum 6,5) et l'autre alcaline (pH optimum 11). Le type d'activité enzymatique existant ou prédominant et sa distribution sont déterminés par le pH du sol (Eivazi et Tabatabai 1977; Dick et Tabatabai., 1984; Dick et al., 2000). Le pH peut avoir une influence sur la concentration des activateurs ou des inhibiteurs des enzymes dans le sol. Il peut également agir sur la concentration effective des substrats enzymatiques.

Les phosphomonoestérases (phosphatases acide et alcaline) sont des enzymes extracellulaires qui jouent un rôle important dans le cycle du phosphore. Les activités phosphatases acides sont largement retrouvées dans le sol, elles catalysent le clivage hydrolytique des esters d'acides phosphoriques ( $H_3PO_4$ ) et libèrent du phosphore disponible pour les plantes à partir du phosphore organique. La phosphatase acide est un bon indicateur de changements dans la quantité et dans la qualité du substrat phosphaté et du statut biologique du sol. Elle est principalement produite par les microorganismes (les champignons, certaines bactéries) et les plantes supérieures.

## **3. Les modes de gestion des terres**

Les modes de gestion du sol peuvent être définis comme étant l'ensemble des travaux du sol, des pratiques culturales, des traitements de fertilisation, d'amendement du sol et d'autres interventions visant à accroître la production végétale (Brady, 1974). Les modes de gestion du sol qui influencent la répartition et l'incorporation des résidus organiques peuvent profiter ou nuire aux organismes qui y vivent. Ces derniers jouent un rôle important dans le recyclage des éléments minéraux indispensables à la nutrition minérale des plantes.

### **3. 1. Le labour**

Le labour est un système conventionnel de culture basé sur le travail du sol dont l'objectif est d'assurer un lit meuble pour l'enracinement des plantes, d'aérer le sol, et d'éliminer les adventices. Le labour même s'il améliore temporairement l'infiltration, expose le sol à nu à l'agressivité des pluies et réduit la stabilité et la cohésion des macro-agrégats. Il facilite l'incorporation de la matière organique dans les horizons profonds et accélère sa minéralisation. Les perturbations liées à ce mode de gestion et l'aération du sol qu'il engendre ont une influence sur l'activité biologique dans le sol. Le labour entraîne une minéralisation

rapide de la matière organique et provoque une déprotection physique du carbone dans les macro-agrégats (Balesdent et al., 2000).

### **3. 2. Le semis direct sur couverture végétale (SCV)**

Le semis direct sur couverture végétale est un système conservatoire de gestion des sols et des cultures dans lequel la semence est placée directement dans le sol qui n'est "jamais travaillé". Seul un petit trou ou sillon est ouvert, de profondeur et de largeur suffisantes avec des outils spécialement conçus à cet effet pour garantir une bonne couverture et un bon contact de la semence avec le sol (Seguy et al., 2001). Le semis direct recouvre un grand nombre de pratiques agricoles qui prônent le non-labour, la pratique du "Mulch" végétal et des successions ou rotations culturales en associations avec les plantes de couverture.

#### **3. 2. 1. Les principaux systèmes SCV**

L'agriculture de conservation comprend plusieurs systèmes de semis direct sur couverture végétale (SCV). Des auteurs distinguent trois grands types de SCV (Séguy et Bouzinac., 1996) :

- 1- des systèmes à couverture morte (SCVm),
- 2 - des systèmes à couverture vive (SCVv)
- 3 - et des systèmes mixtes.

Les systèmes de semis direct sous couverture morte ont été les premiers à être adoptés pour lutter contre l'érosion et la dégradation des sols. Par la suite des systèmes de semis direct sous couverture vive ont été proposés pour faire face à des situations où les résidus de récoltes disparaissaient rapidement suite à une minéralisation rapide de la matière organique ou dans les régions où le bétail est en pâturage.

1 - Dans les systèmes à couverture morte (SCVm), la couverture du sol est assurée par les résidus de récoltes ou par une culture de renfort qui peut fournir une importante quantité de masse végétale. L'origine du paillage est variable et peut provenir de la culture principale, il peut être importé d'une autre parcelle ou provenir d'une culture secondaire qui est soit implantée avant ou après la culture principale. La plante de couverture est desséchée aux herbicides avant l'implantation de la culture commerciale.

2 - Dans le système à couverture vive (SCVv), la plante de couverture peut-être soit une graminée fourragère pérenne ou une légumineuse. Pour éviter la compétition entre la culture commerciale et la plante de couverture, cette dernière est desséchée avec l'usage d'herbicides spécifiques. Dans ce système, le choix de la plante de couverture est important. Il prend en compte le type de système racinaire et la puissance de l'espèce non

seulement pour sa contribution à l'enrichissement en matière organique du sol, mais aussi pour sa capacité à faire remonter et à recycler les éléments minéraux. Cette fonction particulièrement recherchée est appelée "pompes biologiques" (Séguy et al., 2001) et peut permettre de restaurer la fertilité des sols pauvres et d'améliorer leur rendement.

3 - Les systèmes mixtes comportent des successions annuelles d'une culture principale avec une seconde culture avec un minimum d'intrant associée à une espèce fourragère. Les cultures sont récoltées à la saison des pluies et la culture fourragère permet une production animale en saison sèche.

### **3. 2. 2. Les avantages des SCV**

#### **3. 2. 2. 1. Les SCV: source de MO**

Les SCV sont une source importante de matière organique des sols. La restitution se fait à partir des résidus de récolte des cultures, de la biomasse aérienne et racinaire des plantes de couverture associées aux résidus organiques des cultures. La matière organique provient également des exsudats des racines des plantes et de la masse des organismes morts dans le sol. Ces systèmes SCV, en augmentant ainsi la teneur en matière organique, permettent la restauration de la fertilité des sols (Séguy et al., 2001; Six et al., 2002) et l'accroissement de la teneur en éléments nutritifs notamment l'azote (Donias, 2001). Les apports de fumier, indispensables en sol nu, peuvent être réduits (Michellon, et al., 1996) ainsi que les fumures minérales. Les légumineuses de couverture constituent une importante source d'azote pour les cultures associées et permettent de réduire la fertilisation azotée.

Les résidus de récoltes, ou la plante de couverture, favorisent l'activité macro et microbiologique du sol (Kushwaha et al., 2000). La matière organique, et les organismes qui s'en nourrissent contribuent à améliorer la capacité de rétention d'eau et à accroître la présence de substances nutritives. Ils participent à la protection du sol contre l'érosion.

#### **3. 2. 2. 2. SCV et protection des sols.**

La couverture permanente du sol par les SCV assure une protection directe du sol contre l'érosion et réduit de manière significative les pertes en matière organique. Ces systèmes améliorent la stabilité structurale du sol et la porosité et entraînent ainsi une augmentation du niveau d'infiltration de l'eau (Scopel et al., 2005). Cette augmentation de l'infiltration se traduit par une réduction du ruissellement qui enlève à l'eau sa fonction de transport des particules minérales. Ceci contribue à diminuer considérablement les pertes en

sol et en éléments nutritifs. Les SCV permettent donc une meilleure valorisation des ressources hydriques en assurant une bonne conservation de l'eau.

### 3. 2. 2. 3. SCV et stockage du C

Le stockage et la libération du C par le sol présentent à la fois un enjeu agronomique et environnemental considérable. En fonction des modes de gestion adoptés, le sol peut agir comme une source de dioxyde de carbone atmosphérique, (Sà et al., 2004). Du point de vue agricole, le sol devient une source de CO<sub>2</sub> pour l'atmosphère quand les pertes par oxydation sont supérieures aux apports de carbone. Les modes de gestion qui emploient le travail du sol comme le labour entraîne les plus fortes pertes (Balesdent et al, 2000).

Le sol se comporte comme un puits de CO<sub>2</sub> atmosphérique quand les entrées de C sont plus élevées que les pertes par oxydation. Pour que le C soit stocké durablement dans le sol, il faut qu'il soit protégé de la minéralisation microbienne. Six et al (2002) distinguent trois principaux mécanismes de stabilisation du C dans le sol : une stabilisation physique, une stabilisation physico-chimique, et enfin une stabilisation biochimique.

- *La stabilisation physique* est liée à un emprisonnement du C dans les agrégats stables. Dans les systèmes de culture sous SCV la fracture systématique des agrégats est fortement réduite ou restreinte à la ligne de semis. Ce qui permet aux agents d'agrégation de fonctionner sans perturbations majeures. Ce mécanisme favorise une protection physique de la matière organique qui, en se comportant comme agent de liaisons entre les micro-agrégats, contribue à la formation des macro-agrégats (Six et al., 2002).

- *La stabilisation physico-chimique* résulte de l'association du C et N des matières organiques avec les particules minérales chimiquement actives du sol (particules d'argiles et de limons). Les agrégats contenant du Fe<sup>3+</sup> et Al<sup>3+</sup> et ayant une capacité d'échange cationique (CEC) élevée tendent à augmenter l'incorporation du carbone organique dans le sol (Bronick et Lal, 2005). Plusieurs études rapportent les relations entre les particules d'argiles et de limons et la préservation du C et N des matières organiques (Feller et Beare, 1997 ; Hassing, 1997). La nature des argiles (smectites, kaolinites, haloysites, goetites, hématites) peut avoir une influence sur la stabilité du C et de N dans le sol. Ces particules possèdent des propriétés électrostatiques et une CEC différentes qui leur permet de contracter des liaisons chimiques avec les cations provenant de la dégradation de la matière organique. Il s'agit essentiellement des hydroxydes métalliques (fer, aluminium) du Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> etc. La précipitation des oxy-hydroxydes (Fe<sup>3+</sup>, Al<sup>3+</sup>) des phosphates, et des carbonates augmente l'agrégation (Six et al., 2004 ; Bronick et Lal, 2005).

- *La stabilisation biochimique* est liée à la récalcitrance des composés organiques déterminée par leur qualité. La récalcitrance des substances humiques est liée à leur résistance chimique à la biodégradation et à leur association avec la matrice du sol (Bronick et Lal, 2005). La nature des résidus organiques joue un rôle important dans la séquestration du C et N dans les agrégats (Potter et al., 1998). Sall et al (2004) trouvent que les résidus riches en lignine et en polyphénols favorisent l'immobilisation de l'azote par complexation dans le sol. Ce qui milite en faveur d'une stabilisation à long terme de la matière organique dans les agrégats.

#### **3. 2. 2. 4. SCV et adventices**

Avec la présence d'une couverture végétale, morte ou vivante, la prolifération des adventices est réduite à cause des effets physiques (réduction de la luminosité) et/ou chimiques (effets allélopathiques) des plantes de couvertures. En effet, les études de Tsanuo et al. (2003) montrent que la présence d'isoflavones dans les exsudats racinaires de *Desmodium uncinatum* inhibe la germination des graines de *Striga hermonthica* parasite des graminées .

## **CHAPITRE 2: MATERIEL ET METHODES**

## 1. MATERIEL

### 1. 1. Présentation des sites d'étude

L'étude est menée à **Madagascar** dans la région d'**Antsirabe** (19°52' S, 47°04' E) située à 168 Km au Sud de la capitale Antananarivo sur les Hautes Terres Centrales Malgaches. Cette région a une altitude qui varie entre 1300 et 1600 m avec une densité de 65,8 habitants-km<sup>2</sup>. Le climat est de type subtropical d'altitude caractérisé par deux saisons contrastées :

- une saison froide et sèche de 5 mois (Mai à Septembre) avec une pluviométrie mensuelle inférieure à 30 mm et une température mensuelle inférieure 14°C.
- une saison chaude et humide de 7 mois (Octobre à Avril) avec une pluviométrie mensuelle supérieure à 50 mm et une température mensuelle supérieure à 19°C.

Deux sites d'expérimentations ont été étudiés : le site de Bemasoandro et celui d'Andranomanelatra situés respectivement à 12, et 17 km au Nord de la région d'Antsirabe. Ces sites ont été mis en place par l'ONG TAFE (Terre et développement) avec l'appui technique du CIRAD (Centre de coopération International de Recherche Agronomique pour le Développement).

Les dispositifs de Bemasoandro et d'Andranomanelatra sont complètement randomisés et comprennent chacun trois répétitions (nommées a, b, c) par traitement avec des parcelles élémentaires de 20 m<sup>2</sup>.

#### 1.1.1. Le dispositif de Bemasoandro

Le site de Bemasoandro est localisé à 1500 m d'altitude sur les hautes terres centrales malgaches. Le sol est ferrallitique argileux sur dépôt fluviaux-lacustre. Le pH du sol est acide, voisin de 5.

Les modes de gestion des terres étudiés dans ce dispositif comportent trois systèmes associant des rotations de culture.

1 - un système de labour (LB) qui comprend une culture de riz (*Oryza sativa*) en rotation annuelle avec une culture de soja (*Glycine max*). Dans ce système, les résidus de récolte sont exportés de la parcelle expérimentale à la fin de chaque culture.

2 - un système de semis direct (SD) qui comprend une culture de riz (*Oryza sativa*) en rotation annuelle avec une culture de soja (*Glycine max*). Les résidus de récolte sont laissés sur la parcelle expérimentale pour couvrir le sol.

3 - Un système de jachère à *Aristida rufescens* (J) localement appelée “bozaka”.

Pour les systèmes de labour et de semis direct, un niveau F1 de fertilisation est apporté. Il correspond à un apport de fumier de bovin à raison de 2t/ha/an et de l’engrais minéral N, P, K à raison de 30, 30, 40 kg/ha/an respectivement.

Les systèmes de labour et de semis direct ont été mis en place en 1997 et 1998, le système jachère en 1994 (Tableau 1).

**Tableau 1** : Récapitulatif du dispositif de Bemasoandro

Date de mise en place	Situations ou mode de gestion des terres étudiés	Systèmes de culture et niveau de fertilisation	Nombre de répétitions
Depuis 1994	Jachère naturelle à bozaka (J)	Jachère à <i>Aristida rufescens</i> (F0)	3
Depuis 1997-1998	Labour (LB)	Rotation riz-soja (F1)	3
	Semis direct sur résidus de récolte (SD)	Rotation riz-soja (F1)	3

### 1.1.2. Le dispositif d’Andranomanelatra

Le dispositif d’Andranomanelatra est localisé à 1500 m d’altitude sur les hautes terres centrales malgaches. Le sol est ferrallitique argileux sur dépôt fluviaux-lacustre. Le pH du sol est acide (pH voisin de 5).

Les modes de gestion des terres étudiés dans ce dispositif comportent cinq systèmes :

1 - un système de labour (LB) qui comprend une culture de maïs (*Zea mays*) en rotation avec une culture de soja (*Glycine max*). Les résidus de récolte sont exportés de la parcelle expérimentale à la fin de chaque culture.

2 - un système de semis direct sur résidus de récolte (SD) qui comprend une culture de maïs (*Zea mays*) en rotation annuelle avec une culture de soja (*Glycine max*). Les résidus de récolte sont laissés sur la parcelle expérimentale pour couvrir le sol.

3 - un système de semis direct sur couverture vive (SDK) composé d’une culture de haricot (*Phaseolus vulgaris*) en rotation avec une culture de soja (*Glycine max*). Le sol est recouvert en permanence par une graminée localement appelé Kikuyu (*Pennisetum clandestinum*). Les résidus de récolte sont laissés sur la parcelle expérimentale.

4 - un système de semis direct sur couverture vive (SDD) composé d’une monoculture de maïs (*Zea mays*) en rotation. Le sol est recouvert en permanence par une légumineuse *Desmodium uncinatum*. Les résidus de récolte sont laissés sur la parcelle expérimentale.

5 - un système de jachère (J) à *Aristida rufescens* localement appelée bozaka.

Un niveau F1 de fertilisation est appliqué aux systèmes de culture de labour et de semis direct . Il correspond à un apport de fumier de bovins à raison de 2t/ha/an et de l’engrais minéral sous forme de N, P, K. Le soja et le haricot sont fertilisés chimiquement à raison 30, 30, 40 kg/ha/an de N, P, K et le maïs à 70, 30 et 40 kg/ha/an de N, P, K respectivement. Les systèmes de cultures de labour et de semis direct sur couverture morte ou vivante ont été mis en place en 1995 et la jachère à *Aristida rufescens* en 1994 (Tableau 2)

**Tableau 2** : Récapitulatif du dispositif d’Andranomanelatra

Date de mise en place	Situations ou mode de gestion des terres étudiés	Systèmes de culture et niveau de fertilisation	Nombre de répétitions
Depuis 1994	Jachère naturelle à bozaka (J)	Jachère à <i>Aristida rufescens</i> (FO)	3
Depuis 1995	Labour (LB)	Rotation maïs-soja (F1)	3
	Semis direct sur résidus de récolte (SD)	Rotation maïs-soja (F1)	3
Depuis 1995	Semis direct sur couverture vive de kikuyu (SDK)	Rotation haricot-soja (F1)	3
	Semis direct sur couverture vive de <i>Desmodium uncinatum</i> (SDD)	Rotation maïs-maïs (F1)	3

Le niveau F0 de fertilisation appliqué à la jachère à *Aristida rufescens* (bozaka) ne correspond à aucun apport de fertilisation dans les deux dispositifs expérimentaux.

## 1. 2. L'échantillonnage

L'échantillonnage de sol a été réalisé en mars 2003 dans l'horizon de sol 0-5 cm. Le prélèvement a été effectué grâce à un cylindre métallique de 5 cm de diamètre et 5 cm de hauteur. Les sols ont été séchés à l'air libre avant leur stockage. Les échantillons prélevés ont subi un fractionnement granulométrique par la méthode de Chotte et al. (1994) pour séparer les habitats microbiens en classes d'agrégats.

## 2. METHODES

### 2. 1. Fractionnement physique du sol

Le fractionnement granulométrique, utilisée pour caractériser les habitats microbiens, est un moyen d'appréhender l'hétérogénéité de la distribution spatiale des microorganismes

dans le sol. Elle permet ainsi de mieux comprendre les interactions entre les microorganismes et celles des microorganismes avec leur environnement.

Après une semaine d'incubation et une rehumectation à 100% de leur capacité de rétention, les sols ont été fractionnés en utilisant la méthode de Chotte et al. (1994) afin d'isoler les habitats microbiens des sols.

Le principe du fractionnement est l'utilisation d'une faible énergie (méthode dite douce) de dispersion afin de limiter la désagrégation et la dispersion des colloïdes organo-minéraux. En effet, selon Chotte et al., (1992), l'utilisation d'une énergie importante (méthode agressive) ne permet pas de conserver l'intégrité des habitats microbiens. Cinq principales classes d'agrégats ont été retenues à la suite du fractionnement physique :

- la fraction  $> 2000 \mu\text{m}$ ,
- la fraction  $50\text{-}2000 \mu\text{m}$ ,
- les résidus végétaux  $> 200 \mu\text{m}$ ,
- la fraction  $2\text{-}50 \mu\text{m}$ ,
- la fraction  $0\text{-}2 \mu\text{m}$ .

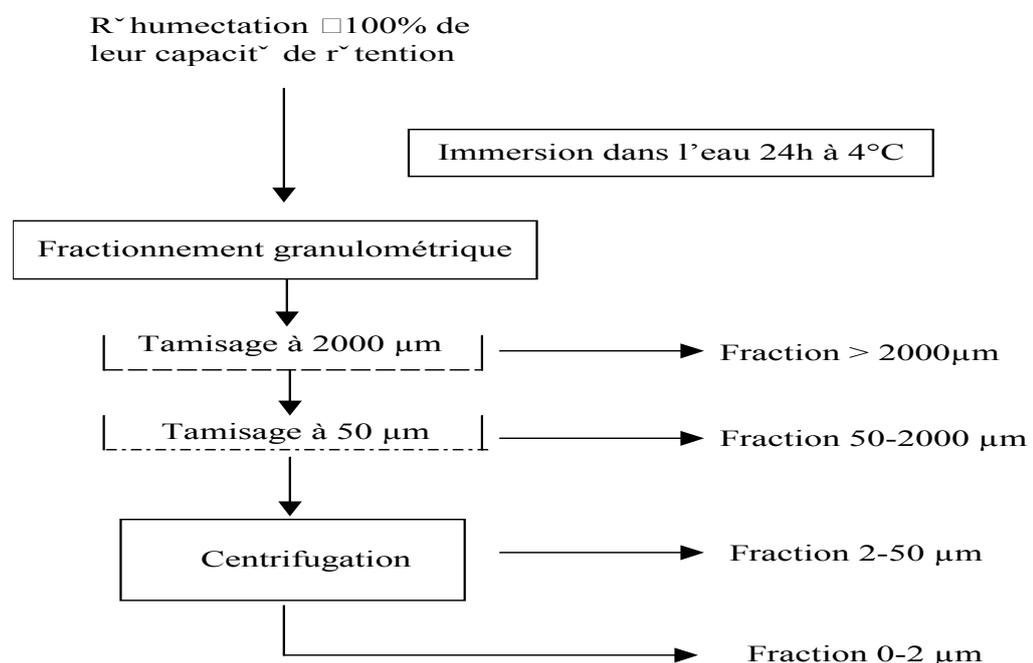


Figure 1: Schéma du protocole de fractionnement granulométrique du sol

Le sol est préalablement immergé dans l'eau distillée stérile pendant 24 h à 4°C afin de dissocier les structures les plus faiblement liées. Les racines et la fraction  $>2000 \mu\text{m}$  sont récupérées sur un tamis après dissection manuelle du sol et rinçage à l'eau distillée sous jet de

pissette jusqu'à ce que l'eau qui s'écoule du tamis soit claire, ce qui signifie que les agrégats retenus sont stables.

La fraction 50-2000  $\mu\text{m}$  est isolée par tamisage. Les fractions fines 0-2  $\mu\text{m}$  et 2-50  $\mu\text{m}$  sont récupérées par sédimentation à la suite de centrifugations. Après une première étape de centrifugation le culot constituant la fraction 2-50  $\mu\text{m}$  est dispersé puis centrifugé à nouveau pendant 8 mn à 10°C (90 g) jusqu'à l'obtention d'un surnageant limpide à la suite de 8 rinçages. La fraction 0-2  $\mu\text{m}$  contenue dans le surnageant est floculée par centrifugation pendant 10 mn à 10°C (à 2700 g).

Chaque fraction est récupérée dans un bécher préalablement taré et une étape d'élimination de l'eau résiduelle par succion capillaire avec du papier-filtre est nécessaire. Les fractions, débarrassées de leur eau, sont ensuite conservées à 4°C.

## **2. 2. Dosage du carbone total et de l'azote total**

Le principe du dosage est basé sur une oxydation catalytique à l'aide d'un analyseur élémentaire (LAMA : laboratoire des Moyens Analytiques US 122, Centre IRD-Bel-Air).

La procédure adoptée comprend un séchage des échantillons de sol durant une nuit à l'étuve à 105°C. Il s'en suit une étape de refroidissement pendant 1h au dessiccateur. Les analyses sont effectuées à partir de l'appareil CHN (CHNSO EA 1112 Thermofinnigan Series, France). Cet appareil est équipé d'un brûleur, des nacelles en étain et d'un détecteur à conductibilité thermique. L'étain assure l'élimination de la matière organique par augmentation de la température jusqu'à 1800°C. Ce qui permet l'obtention du carbone et de l'azote. Ces deux composés passent successivement dans le catalyseur d'oxydation (900°C) et dans la colonne de réduction (750°C). Le carbone se transforme en dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) et l'azote en azote moléculaire ( $\text{N}_2$ ). La séparation des deux composés est faite par chromatographie en phase gazeuse utilisant l'hélium comme gaz vecteur qui accélère l'extraction des gaz ( $\text{CO}_2$  et  $\text{N}_2$ ). Dans le chromatographe, les différents constituants gazeux sont séparés par le détecteur à conductibilité thermique.

Les résultats sont exprimés en mg C/g de fraction de sol sec pour le carbone total et en mg N/g de fraction de sol sec pour l'azote total.

## **2. 3. Détermination des activités enzymatiques**

Les deux principales enzymes étudiées sont la  $\beta$ -glucosidase (Annexe 1) et la phosphatase acide (Annexe 2).

Le principe de la mesure de l'activité de ces deux enzymes est basé sur la détermination de l'intensité colorimétrique qui résulte de la libération du *para*-nitrophénol. Le *para*-nitrophénol est obtenu après incubation d'une quantité de sol en présence de substrat et de tampon. Les incubations sont également effectuées en présence de témoin enzyme et de témoin substrat. Le témoin substrat permet de vérifier qu'il ne doit pas y avoir de réaction d'hydrolyse chimique lorsque le tampon et le substrat sont mélangés en l'absence du sol. Le témoin enzyme permet de montrer qu'en l'absence de substrat, la coloration obtenue ne dérive pas uniquement du produit libéré par l'activité enzymatique mais d'autres réactions supplémentaires qui peuvent être liées aux composés humiques présents dans le sol.

L'activité enzymatique est calculée à partir de la densité optique lue au spectrophotomètre.

### **2. 3. 1. Activité de la $\beta$ -glucosidase**

L'activité de la  $\beta$ -glucosidase a été mesurée en incubant 100 mg de sol pendant 2h à 37°C, avec 100  $\mu$ l de *para*-nitrophényl  $\beta$ -D-glucopyranoside 5mM (Sigma) et 400  $\mu$ l de tampon citrate phosphate (Mac Ilvain) à pH 5.8 (Hayano, 1973). La réaction est arrêtée en alcalinisant le milieu avec 3 ml de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 0.2%. Le *para*-nitrophénol libéré par l'activité de la  $\beta$ -glucosidase a été mesuré au spectrophotomètre (spectronic 401) à la longueur d'onde de 400 nm après 15 min de stabilisation à la température ambiante. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g pNP/g}$  de fraction de sol/h.

### **2. 3. 2. Activité de la phosphatase acide**

L'activité de la phosphatase acide a été mesurée en incubant 100 mg de sol pendant 1 h à 37°C avec 100  $\mu$ l *para*-nitrophenyl phosphate et 400  $\mu$ l de tampon citrate phosphate (Mac Ilvain) à pH 5.8 (Tabatabai et Bremner, 1969). La réaction est arrêtée en alcalinisant le milieu avec 400  $\mu$ l de NaOH et 100  $\mu$ l de  $\text{CaCl}_2$ . Le  $\text{CaCl}_2$  permet de complexer les substances humiques qui sont présentes dans le milieu réactionnel. Le NaOH permet de rendre le milieu basique afin d'obtenir la coloration jaune correspondant à la libération du *para*-nitrophenol. La densité optique est lue au spectrophotomètre (spectronic 401) à la longueur d'onde de 400 nm. Les résultats sont exprimés en  $\text{mg pNP/g}$  de fraction de sol /h.

## **2. 4. Structure génétique des communautés bactériennes totales.**

### **2. 4. 1. Extraction de l'ADN total du sol.**

L'ADN total a été extrait des fractions du sol en utilisant la méthode de lyse physique adoptée par Porteus et al. (1997) avec cependant quelques modifications. C'est une procédure simple adaptée aux échantillons de sol (Annexe 3).

Des aliquotes de 0.5 g de sol broyés ont été mis en présence de billes de zirconium stériles et mélangés avec 1 ml de tampon de lyse (NaCl 0.25 M et EDTA 0.1 M, pH8) filtré et stérilisé. Le mélange est homogénéisé à l'aide de l'agitateur BeadBeater à une vitesse de 25 tours/s (Reatsch) pendant 2 mn, suivi d'une incubation de 2 mn à 65°C au bain-Marie. Ces deux étapes sont réalisées 2 fois. Les échantillons sont ensuite centrifugés à 13000g pendant 15 mn à 4°C. Le surnageant est récupéré et l'ADN est précipité à l'aide du polyéthylène glycol 8000 (40 %) et de l'acétate de potassium pendant 2 h à -20°C. Il s'en suit une nouvelle étape de centrifugation à 13000 g pendant 15 mn à 4°C. Le culot est récupéré et suspendu dans 600 µl de CTAB 2 % (1.4 M NaCl, 0.1 M EDTA, 2 % CTAB) et incubé pendant 15 mn à 68°C. Le mélange est homogénéisé par retournement manuel toutes les 2 mn jusqu'à ce que le culot soit entièrement dissout. Après ajout de 600 µl de chloroforme au culot, le mélange est centrifugé à la température ambiante pendant 10 mn à 13000 g. Le culot est suspendu à nouveau dans 450 µl d'acétate d'ammonium (2.5 M) et 1 ml d'éthanol 95° puis précipité à -20°C pendant 15 mn. Le mélange est centrifugé à 13000 g pendant 15 mn à 4°C. La phase supérieure qui contient l'ADN est remise dans 600 µl d'isopropanol et précipitée à -20°C pendant 15 mn par centrifugation à 13000g pendant 15 mn à 4°C.

Le lavage final est effectué avec 0.5 ml d'éthanol 70°C suivi d'une centrifugation à 13000 g pendant 5 mn à 4°C. A la suite de cette étape l'ADN est séché par évaporation sous vide et conservé à -20°C dans un volume variant entre 10 et 50 µl de TE 1X (Tris-HCl 10M, EDTA 1mM, pH 8,5) en fonction du culot d'ADN.

L'ADN extrait est ensuite quantifié à l'aide des gammes étalons (Annexe 3) afin de mesurer sa concentration dans chaque échantillon. Il est ensuite conservé à -20°C. Cet extrait d'ADN a servi à l'étude de la structure génétique des communautés bactériennes totales par PCR-DGGE dans les sols des fractions 2-50 µm et >2000 µm.

### **2. 4. 2. PCR-DGGE**

La structure des communautés bactériennes totales a été étudiée par la méthode PCR-DGGE (Réaction en Chaîne par Polymérisation - Gel Electrophorèse en Gradient de

Dénaturation). La technique DGGE permet de séparer des fragments d'ADN de même taille mais de composition en bases différentes.

### 2. 4. 2. 1. La PCR (réaction en chaîne par polymérisation)

La PCR (Mullis et al., 1985) est une technique d'amplification in vitro utilisant la Taq-polymérase qui est une enzyme thermostable et des oligonucléotides complémentaires d'un gène cible au sein d'un génome. Le fragment d'ADN ciblé est amplifié de façon exponentielle en plusieurs millions d'exemplaires. Ainsi, au bout de n cycles PCR on obtient  $2^n$  copies (Figure 2).

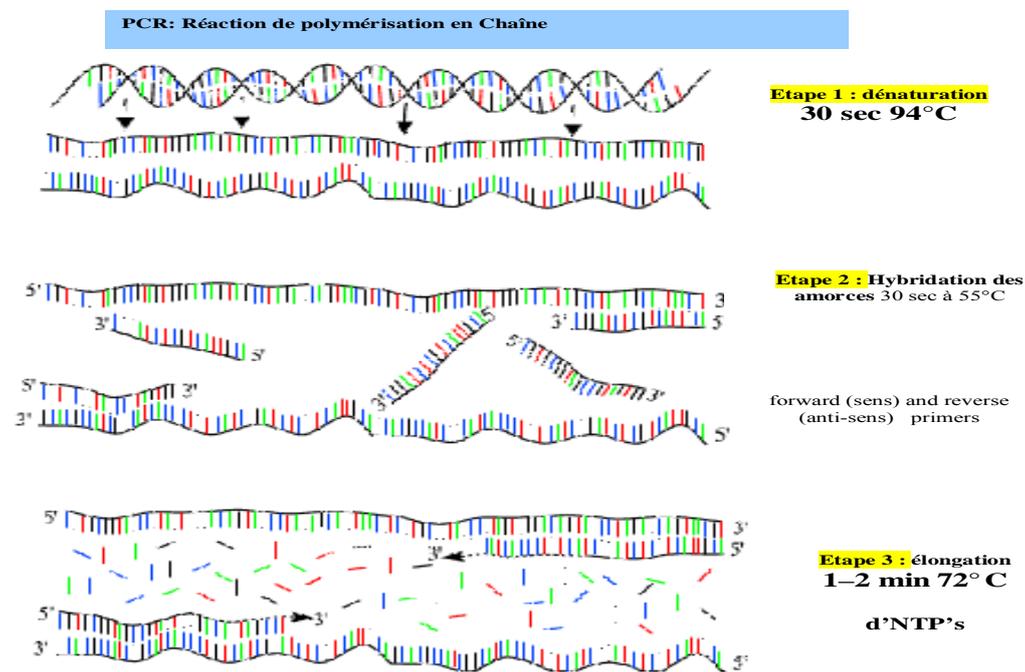


Figure 2 : La réaction en chaîne par polymérisation (PCR).

Dans notre étude, nous avons ciblé la région V3 du gène 16S rDNA en utilisant un couple d'amorces universelles EUB338f (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') muni de GC "Clamp" (Muyzer et al., 1993) et UNIV518r (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') (Ovreas et al., 1997). En effet, la région V<sub>3</sub> de l'ADNr 16S est assez bien conservée chez toutes les bactéries (Muyzer et al., 1993). Néanmoins, elle est suffisamment variable au niveau de sa séquence nucléotidique pour discriminer les individus d'espèces différentes.

#### Composition du mélange réactionnel de la PCR

Pour chaque cycle PCR, le mélange réactionnel de 25 µl est composé de :

- 10 ng d'ADN,
- des amorces EUB338f et UNIV518r à une concentration finale de 0.5 mM,

- Taq Ready-to-Go (Amersham biosciences, USA)

Nous avons utilisé la Touchdown PCR pour l'amplification de l'ADNr 16S des communautés bactériennes. Elle comprend plusieurs cycles de température :

- une première étape de dénaturation de l'ADN de 5 mn à 94°C.
- 20 premiers cycles constitués de :
  - o 30 sec à 94°C (dénaturation)
  - o 30 sec de 65°C à 55°C (hybridation ; la température d'appariement diminue de 0.5°C à chaque cycle jusqu'à atteindre 55°C)
  - o 1 mn à 72°C (élongation ou synthèse)
- 10 derniers cycles
  - o 30 sec à 94°C (dénaturation)
  - o 30 sec à 55°C (hybridation)
  - o 1 min à 72°C (synthèse)
- un dernier cycle de synthèse finale à 72°C pendant 10 mn.

Les fragments d'ADN amplifiés (environ 200 pb) sont visualisés sur un gel d'agarose 2% pendant 35 mn à 100 V. Les gels sont ensuite colorés pendant 30 mn au bromure d'éthidium (1 µg/ml), puis rincés à l'eau déminéralisée et photographiés sous UV à l'aide du logiciel BIO-Capt (Ets Vilber Lourmat).

La figure 3 présente une description schématique des différentes étapes du cycle thermique PCR utilisées lors de l'amplification de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales.

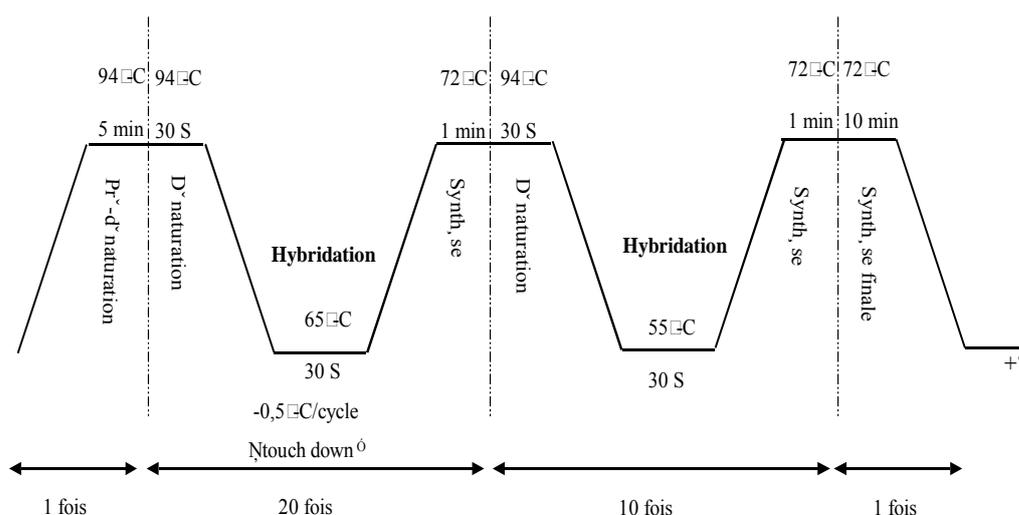


Figure 3 : Différentes étapes du cycle thermique de la PCR pour l'amplification de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales.

### 2. 4. 2. 2. La DGGE (Gel Electrophorèse en gradient de dénaturation)

Les fragments d'ADN obtenus (environ 200 pb) après amplification par PCR sont séparés sur un gel de polyacrylamide à 8% [acrylamide-bisacrylamide 40% (37.5 :1)] avec des gradients de dénaturants chimiques de 45% à 70% (100% dénaturant contient 7 M Urée et 40% formamide). La migration dure 18 h dans une cuve (INGENY phorU) sous une tension de 100V. Elle s'effectue dans un tampon TAE 1X à une température de 60°C. A la fin de la migration, le gel est coloré au SYBR Green (1/20) pendant 20 mn puis rincé à l'eau pendant 5 mn. La visualisation du gel est faite par photographie sous UV à l'aide du logiciel BIO-Capt (Ets Vilber Lourmat).

#### Principe de la DGGE :

La DGGE est une technique d'empreinte génétique qui consiste en une séparation des séquences amplifiées par PCR sur un gel d'acrylamide contenant un gradient linéaire de dénaturants de l'ADN. Il s'agit de dénaturants chimiques (urée et formamide) dont le gradient de concentration utilisé varie en fonction de la taille des amplifiats à séparer. Les variations de séquences entre les différents amplifiats vont influencer leur dénaturation et par conséquent leur distance de migration électrophorétique. Ainsi les séquences d'ADN ayant une plus forte concentration en bases G et C (high G+C avec une triple liaison hydrogène) vont migrer plus loin dans le gel avant d'atteindre leur point de dénaturant. On obtient ainsi des profils complexes représentatifs de la diversité des fragments d'ADN amplifiés. La figure 4 présente une description schématique de la technique DGGE.

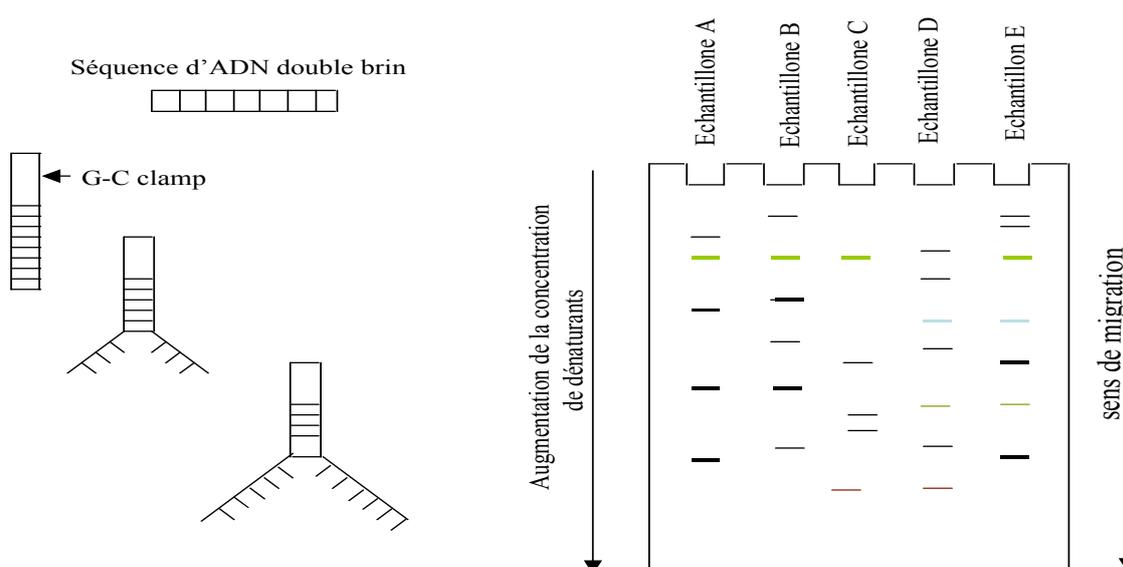


Figure 4 : Description schématique de l'électrophorèse en gradient de gel de dénaturant (DGGE).

## **2. 5. Analyses statistiques**

Nous avons utilisé les méthodes classiques de comparaison des moyennes des traitements (test de Fisher;  $p < 0.05$ ) à partir de l'analyse de la variance superAnova (Version 1.041) pour estimer les variations des paramètres chimiques (C et N totaux) et biochimiques (mesures des activités enzymatiques) dans les sols.

Pour l'analyse des profils DGGE, nous avons utilisé le logiciel TotalLab (TL120, version 2006) pour déterminer les similarités et les distances entre les différents traitements. Ce même logiciel a servi à l'établissement des dendrogrammes de similarité en calculant le coefficient de Dice (intervalle de confiance de 0.05%) avec la méthode de l'algorithme UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Algorithm).

## **CHAPITRE 3 : RESULTATS**

## A. Site de Bemasoandro

### 1. Teneurs en C et N totaux du sol

Les figures 5A et 5B présentent les résultats des teneurs en C et N totaux obtenues dans les différentes fractions (2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$ ) des sols sous les différents modes de gestion pratiqués.

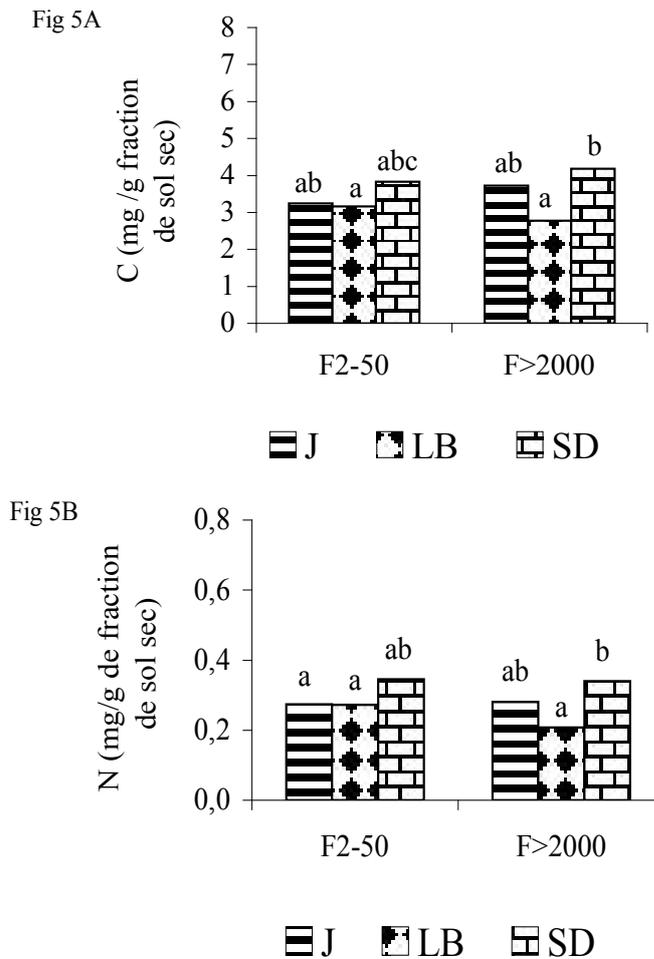


Figure 5 : Teneurs en C total (Fig 5A ) et N total (Fig 5B ) dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$  des sols sous les situations de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB) et semis direct sur résidus de récolte (SD). Pour chaque fraction, les lettres différentes indiquent une différence significative (test de Fischer  $p < 0,05$ ). Chaque histogramme représente la moyenne de trois répétitions.

Dans la fraction  $>2000 \mu\text{m}$ , les résultats indiquent des teneurs en C total et N total significativement plus élevés dans les sols sous semis direct sur résidus de récolte (SD) par rapport au labour (LB).

Quant à la fraction 2-50  $\mu\text{m}$ , les teneurs de ces composés sont équivalentes pour tous les différents modes de gestion des terres.

Dans le site de Bemasoandro, les résultats obtenus sur les teneurs en C et N n'ont pas permis de mettre en évidence des différences significatives entre les impacts des différents modes de gestion des sols dans l'habitat microbien 2-50  $\mu\text{m}$ .

Cependant, dans l'habitat  $>2000 \mu\text{m}$ , le labour (LB) a entraîné une forte diminution des teneurs en C et N totaux par rapport au semis direct sur résidus de récolte (SD). Les variations les plus importantes sont enregistrées pour la fraction  $>2000 \mu\text{m}$  qui constitue l'habitat le plus sensible aux effets des différents modes d'usage des sols sur la teneur de ces composés.

## 2. Activités enzymatiques

### 2. 1. Activité de la $\beta$ -glucosidase

La figure 6 présente les résultats de l'activité de la  $\beta$ -glucosidase dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $>2000 \mu\text{m}$  des sols sous les différents modes de gestion étudiés.

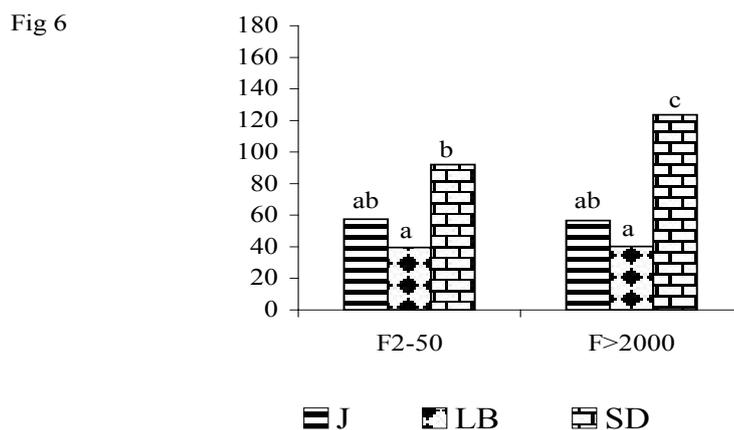


Figure 6 : Activité de la  $\beta$ -glucosidase dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$  des sols sous jachère (J), labour (LB) et semis direct (SD). Pour chaque fraction, les lettres différentes indiquent une différence significative entre les situations ou modes de gestion des sols (test de Fischer  $p < 0,05$ ). Chaque histogramme représente la moyenne de trois répétitions.

Dans les deux fractions, les résultats montrent une forte augmentation de l'activité  $\beta$ -glucosidase dans les sols soumis au semis direct sur résidus de récolte (SD). Le semis direct induit donc un effet positif et significatif sur l'activité de la  $\beta$ -glucosidase par rapport au labour (LB) et à la jachère (J). Cette forte activité  $\beta$ -glucosidase enregistrée par le semis direct montre l'aptitude de ce mode de gestion des sols à reconstituer l'habitat microbien  $> 2000 \mu\text{m}$ .

## 2. 2. Activité de la phosphatase acide

La figure 7 montre les résultats de l'activité de la phosphatase acide également dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$  des sols.

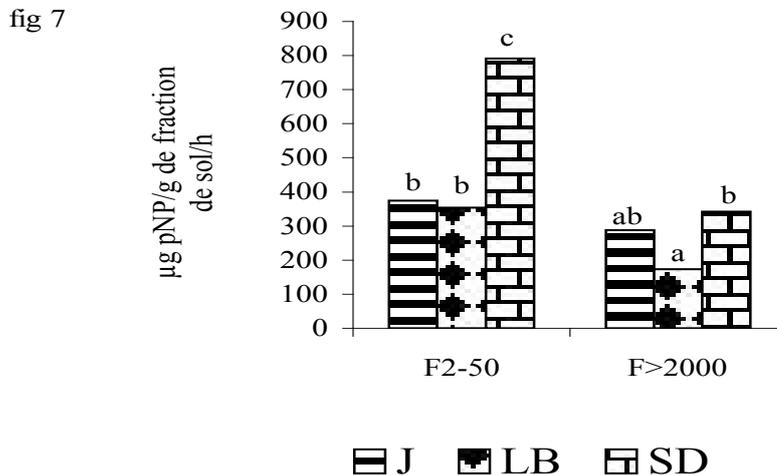


Figure 7: Activité de la phosphatase acide dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$  des sols des situations de jachère (J), labour (LB) et semis direct (SD). Pour chaque fraction, les lettres différentes indiquent une différence significative entre les situations ou modes de gestion des sols (test de Fischer  $p < 0,05$ ). Chaque histogramme représente la moyenne de trois répétitions.

Les résultats indiquent une forte activité phosphatase acide dans la fraction 2-50  $\mu\text{m}$  des sols soumis au semis direct sur résidus de récolte (SD) contrairement aux situations de jachère à *Aristida rufescens* (J) et de labour (LB) qui présentent des activités phosphatases acides équivalentes entre elles. Les résultats ont montré un effet positif significatif du semis direct (SD) sur l'activité de la phosphatase acide dans la fraction 2-50  $\mu\text{m}$ .

Dans la fraction  $> 2000 \mu\text{m}$ , un effet dépressif du labour (LB) sur l'activité phosphatase acide a été enregistré par rapport au semis direct (SD) qui présente une activité plus forte. Mais ce dernier n'est pas significativement différent de celle obtenue pour la jachère *Aristida rufescens* (J).

## 3. Structure génétique des communautés bactériennes totales.

La structure génétique des communautés bactériennes totales dans les sols avec les différents modes d'usage des terres a été étudiée par PCR-DGGE.

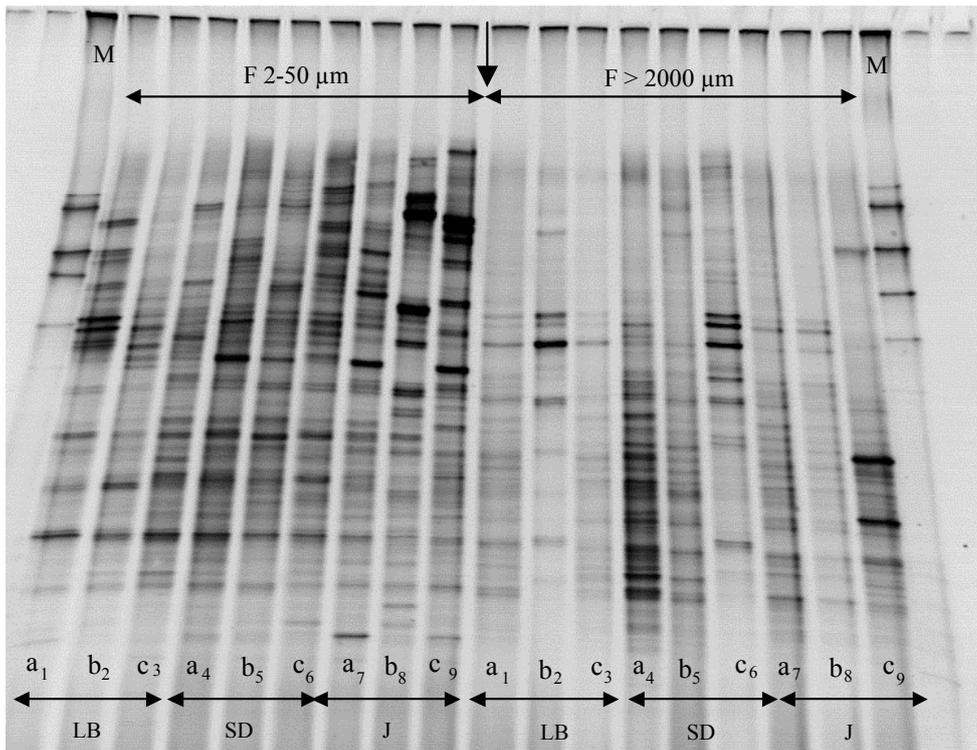


Figure 8 : Profils DGGE de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales dans les fractions de sol 2-50  $\mu\text{m}$  et > 2000  $\mu\text{m}$  de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB) et de semis direct sur résidus de récolte (SD). Les lettres a, b, c indiquent des répétitions, les chiffres affectés indiquent les numéros des pistes DGGE.

L'analyse des profils DGGE (Fig 8) montre que la structure génétique des communautés bactériennes totales est différente suivant le mode de gestion des terres adopté et le type d'habitat considéré. Des bandes communes aux 2 fractions sont identifiées indépendamment des modes de gestion des terres. Ce résultat démontre l'existence de communautés bactériennes stables dans les deux habitats qui n'ont pas subi les impacts des différents modes d'usage des terres.

Une étude approfondie des profils révèle que quel que soit le mode d'usage des terres le micro-agrégat 2-50  $\mu\text{m}$  présente plus de bandes DGGE que le macro-agrégat >2000  $\mu\text{m}$ . Ce résultat montre que l'habitat microbien 2-50  $\mu\text{m}$  abrite plus de communautés bactériennes que le macro-agrégat > 2000  $\mu\text{m}$ .

Les sols labourés (LB) présentent un faible nombre de bandes DGGE dans les deux habitats microbiens (2-50  $\mu\text{m}$  et > 2000  $\mu\text{m}$ ) contrairement aux sols de jachère à *Aristida rufescens* (J) et de semis direct sur résidus de récolte (SD). Ce résultat montre l'effet de réduction importante des communautés bactériennes par le labour. Cet effet du labour (LB) est beaucoup plus sensible dans l'habitat > 2000  $\mu\text{m}$ . Ce résultat fait apparaître une plus

grande vulnérabilité et une sensibilité des communautés bactériennes présentes dans l'habitat > 2000 µm vis-à-vis des modes d'usages des sols.

Nos résultats ont ainsi démontré un impact négatif du labour sur la structure génétique des communautés bactériennes des sols de Bemasoandro.

L'analyse des dendrogrammes de similarité (Fig 9A et Fig 9B) effectuée à partir des profils électrophorétiques permet de distinguer deux niveaux de regroupement des communautés bactériennes en fonction des modes de gestion des terres pour chaque fraction.

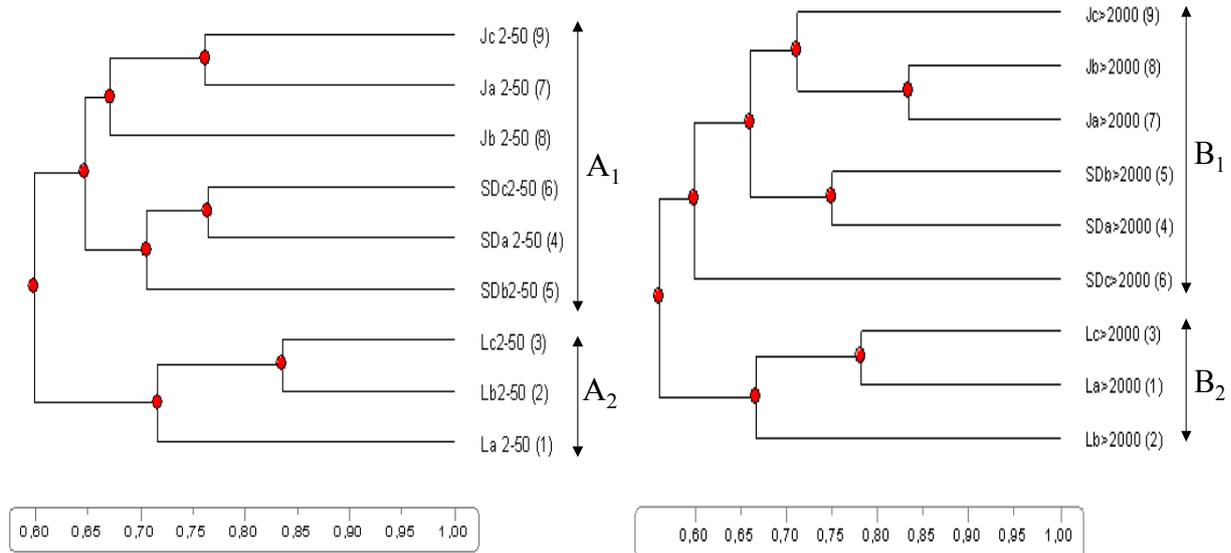


Fig 9A

Fig 9B

Figure 9: Dendrogramme de similarité (UPGMA) obtenus à partir des profils DGGE dans les fractions 2-50 µm (Fig 9A) et > 2000 µm (Fig 9B) des sols de jachère (J), labour (L) et semis direct (SD). Les lettres a, b, c sont des répétitions, les chiffres indiquent les numéros des pistes DGGE.

L'analyse des résultats de la fraction de sol 2-50 µm (Fig 9A) montre la subdivision des communautés microbiennes en 2 clusters (ou regroupements) en fonction des modes de gestions des sols. Le premier cluster (A<sub>1</sub>) regroupe les communautés bactériennes des sols sous jachère à *Aristida rufescens* (J) et semis direct sur résidus de récolte (SD) avec 65% de similarité. Quant aux communautés des sols sous labour (LB), elles forment un cluster (A<sub>2</sub>) isolé qui se distingue du groupe (A<sub>1</sub>). Ces résultats montrent que la jachère et le semis direct ont des impacts similaires sur les communautés bactériennes des sols puisque leurs structures génétiques sont plus proches que celle obtenue avec les sols sous le labour.

Concernant les sols de l'habitat >2000 µm (Fig 9B), le dendrogramme de similarité a montré les mêmes regroupements des communautés bactériennes selon les modes de gestion que ceux obtenus dans la fraction 2-50 µm.

Les dendrogrammes de similarité ont également permis de montrer que l'impact du labour sur les communautés bactériennes se distingue nettement du semis direct (SD) et de la jachère à *Aristida rufescens* (J).

## B. Site d'Andranomanelatra

### 1. Teneurs en C et N totaux du sol

Les figures 10A et 10B présentent les résultats des teneurs en C et N obtenues dans les 2 fractions (2-50  $\mu\text{m}$  et > 2000  $\mu\text{m}$ ) de sols des différents modes de gestion pratiqués.

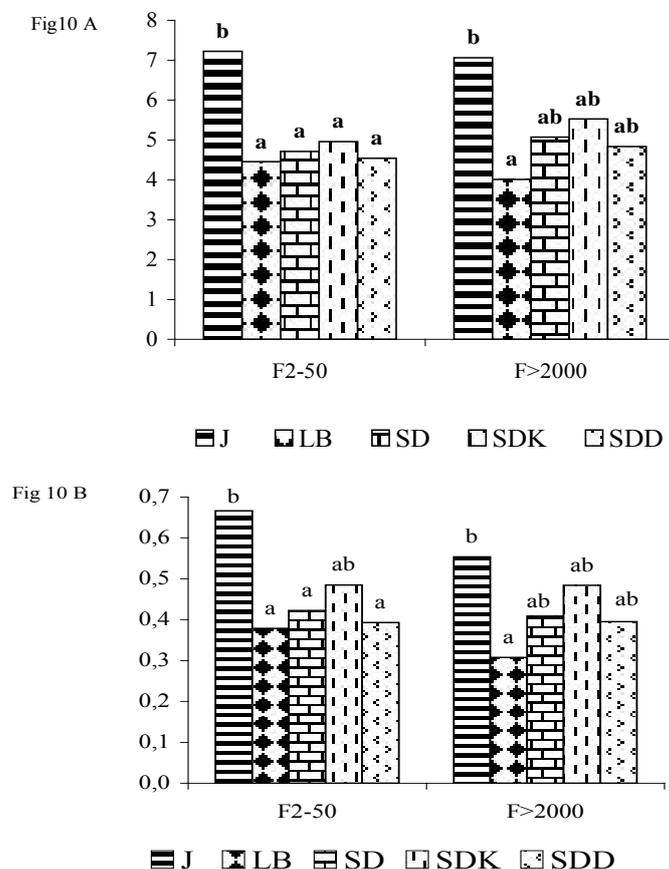


Figure 10 : Teneurs en C total (Fig 10A) et N total (Fig 10B) dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et >2000  $\mu\text{m}$  des sols de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD). Pour chaque fraction, les lettres différentes indiquent une différence significative entre les situations ou modes de gestion des sols (test de Fischer  $p < 0,05$ ). Chaque histogramme représente la moyenne de trois répétitions.

Dans la fraction 2-50  $\mu\text{m}$ , les résultats indiquent que les sols sous jachère à *Aristida rufescens* (J) présentent les teneurs en C total les plus élevées. En effet, les teneurs en C total sont significativement plus élevées dans ce mode de gestion des sols par rapport au labour, au

semis direct sur résidus de récolte (SD), au semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK) et au semis direct sur *Desmodium uncinatum* (SDD) (Fig 10A). Des résultats similaires sont obtenus pour le N total dans la même fraction avec néanmoins une différence non significative entre le semis direct sur Kikuyu (SDK) et la jachère à *Aristida rufescens* (J).

Quant à la fraction > 2000 µm, les résultats ont montré que ce sont les sols de labour qui enregistrent les faibles teneurs en C et N avec des différences significatives par rapport au sol de jachère. Par contre, les résultats n'ont pas montré de différences significatives entre les sols de jachère à *Aristida rufescens* et les sols de semis direct (couverture vive et morte).

## 2. Activités enzymatiques

### 2. 1. Activité β-glucosidase

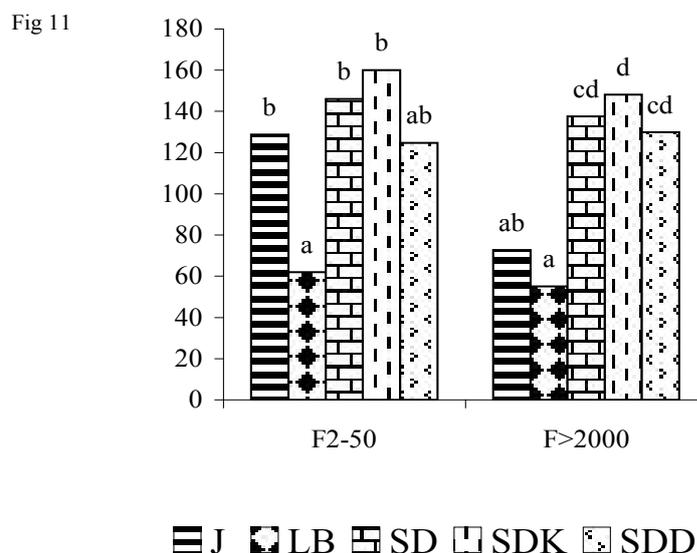


Fig 11 : Activité β-glucosidase dans les fractions 2-50 µm et > 2000 µm des sols de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD). Pour chaque fraction, les lettres différentes indiquent une différence significative entre les situations ou modes de gestion des sols (test de Fischer p<0,05). Chaque histogramme représente la moyenne de trois répétitions.

La figure 11 présente les résultats de l'activité β-glucosidase dans les sols soumis aux différents modes de gestion. Ces résultats montrent que l'activité β-glucosidase est plus importante dans les sols de semis direct sur couverture vive de kikuyu (SDK) au niveau des 2 fractions. Cependant, la différence observée n'est pas significative entre ce dernier et les autres sols soumis également au semis direct (SD, SDD).

Aucune différence n'a été observée dans l'activité β-glucosidase entre les situations de SD, SDD, SDK et celle de jachère à *Aristida rufescens* (J) dans la fraction 2-50 µm. Par

contre dans la fraction  $> 2000 \mu\text{m}$  cette activité  $\beta$ -glucosidase est significativement très faible dans le sol de jachère comparé aux sols soumis aux semis directs (SD, SDD, SDK).

De toutes les situations étudiées, c'est dans le sol de labour que l'activité  $\beta$ -glucosidase est la plus faible quelles que soient les fractions de sol étudiées contrairement aux modes de gestion des sols qui utilisent le semis direct sur couverture végétale (SD, SDK, SDD) qui montrent des aptitudes favorables à l'activité  $\beta$ -glucosidase dans les fractions  $2-50 \mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$  des sols.

## 2. 2. Activité phosphatase acide

Fig 12

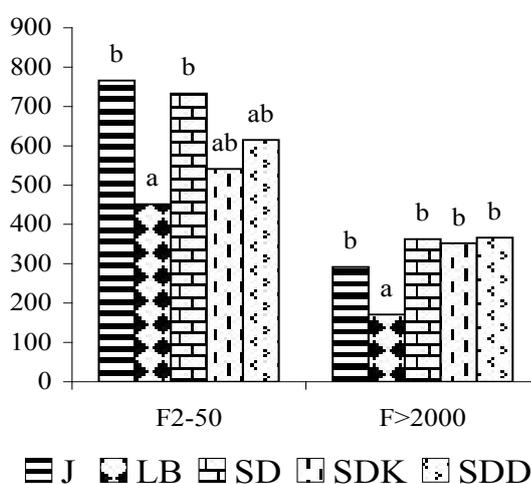


Figure 12 : Activité phosphatase acide dans les fractions  $2-50 \mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$  des sols de jachère à *Aristida rufescens* (J), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), et de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD). Pour chaque fraction, les lettres différentes indiquent une différence significative entre les situations ou modes de gestion des sols (test de Fischer  $p < 0,05$ ). Chaque histogramme représente la moyenne de trois répétitions.

La figure 12 présente les résultats de l'activité phosphatase acide dans les sols soumis aux différents modes de gestion étudiés. Les résultats montrent globalement une plus forte activité phosphatase acide dans la fraction  $2-50 \mu\text{m}$  par rapport à la fraction  $> 2000 \mu\text{m}$  des sols de toutes les situations étudiées.

Dans la fraction  $2-50 \mu\text{m}$ , les résultats indiquent une forte activité phosphatase acide dans les sols de jachère à *Aristida rufescens* (J) et de semis direct (SD, SDK, SDD) par rapport au labour. Aucune différence significative n'est néanmoins observée entre l'activité phosphatase acide dans les sols de jachère et celle des sols soumis au semis direct (SD, SDK, SDD). Des résultats identiques ont été obtenus dans les fractions de sols  $> 2000 \mu\text{m}$ .

La fraction 2-50  $\mu\text{m}$  semble constituer un habitat où l'activité phosphatase acide est plus soutenue quelles que soient les situations étudiées.

### 3. Structure génétique des communautés bactériennes totales.

La figure 13 présente les profils DGGE de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales dans la fraction de sol 2-50 $\mu\text{m}$ .

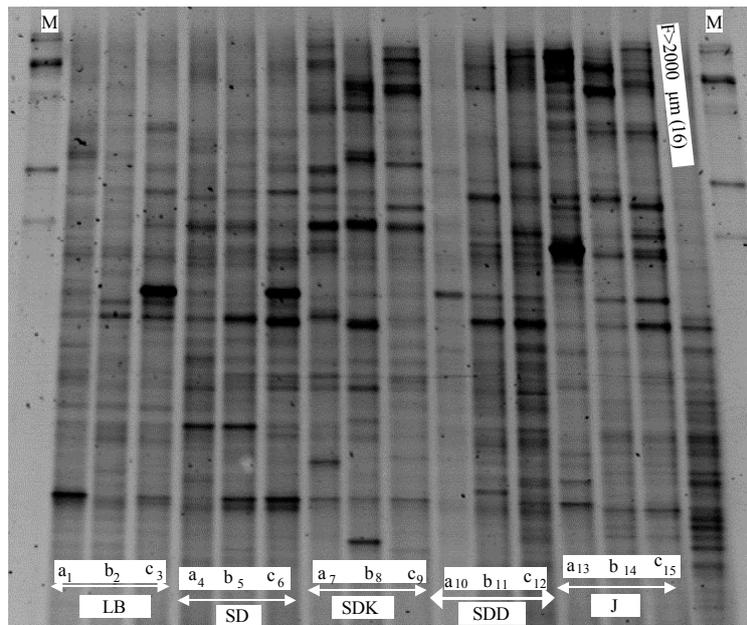


Figure 13 : Profils DGGE de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales de la fraction 2-50  $\mu\text{m}$  des sols de labour (LB), de semis direct sur résidus de récoltes (SD), de semis direct sur couverture de kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD), de jachère à *Aristida rufescens* (J) et d'un échantillon de sol témoin de la fraction > 2000  $\mu\text{m}$ . Les lettres a, b, c indiquent des répétitions, les chiffres affectés indiquent les numéros des pistes DGGE.

Les résultats montrent que tous les profils DGGE sont différents selon les différents modes de gestion des sols. On observe donc une structuration génétique des communautés bactériennes des sols en fonction des différentes situations.

Les profils des sols de jachère (J) et semis direct (SD, SDK, SDD) présentent de nombreuses bandes intenses en haut du gel correspondant à des communautés à faible pourcentage de G+C. Ces bandes sont par contre absentes ou faibles dans les profils DGGE des sols de labour (LB). Le nombre total de bande par profil est plus faible dans les sols de labour que dans les sols SD, SDK, SDD et de jachère. Ce résultat indique l'effet de réduction de la structure génétique qu'exerce le labour sur des communautés bactériennes. De plus, les sols de semis direct (SD, SDK, SDD) et de jachère montrent de nombreuses bandes intenses indiquant la présence de nombreuses communautés dominantes dans ces sols.

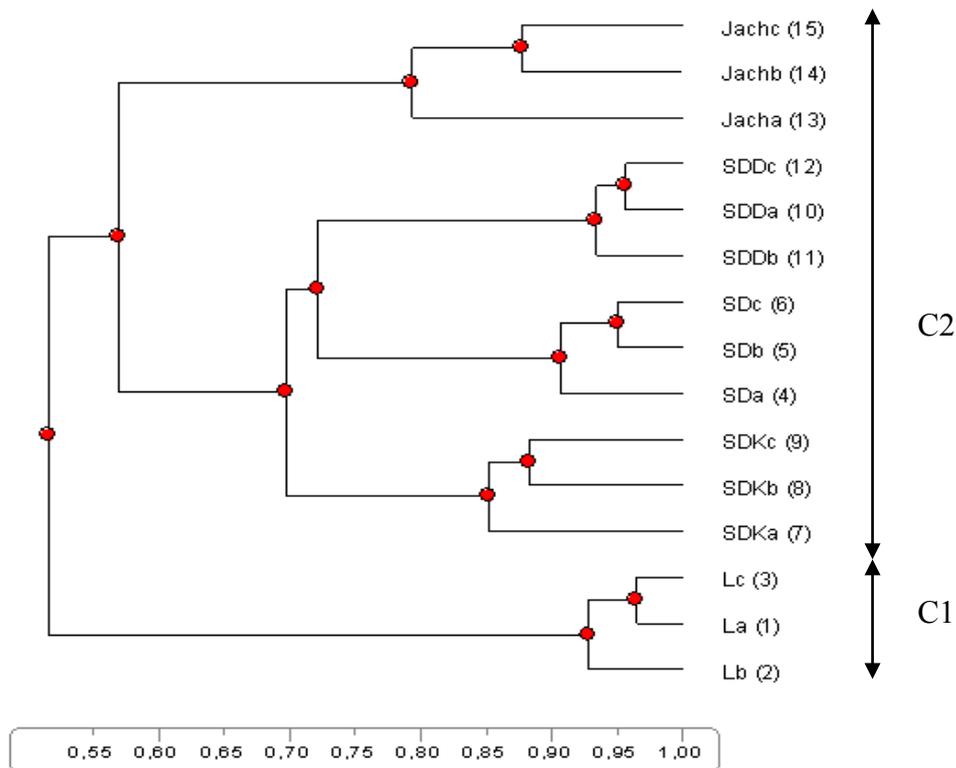


Figure 14 : Dendrogramme de similarité (UPGMA) obtenu à partir des profils DGGE des différentes situations de jachère à *Aristida rufescens* (Jach), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD) des sols de la fraction 2-50  $\mu\text{m}$ . Les lettres a, b, c indiquent des répétitions, les chiffres affectés indiquent les numéros des pistes.

L'analyse de similarité effectuée sur l'ensemble des profils DGGE du gel de la fraction 2-50  $\mu\text{m}$  a montré une nette séparation des profils en 2 clusters. Le premier cluster (C1) est constitué uniquement par les profils des sols de labour (LB) tandis que le 2ème cluster C2 regroupe tous les profils des communautés bactériennes des sols SD, SDD, SDK et Jachère. Ce résultat indique que les profils SD, SDD, SDK et Jachère bien que n'étant pas identiques partagent plus de communautés bactériennes semblables au niveau de leur structuration génétique. On note que les communautés des sols SDK, SD, SDD sont distinctes entre elles et se distinguent également de celles du sol de Jachère au sein du cluster C2.

La figure 15 présente les profils du gel DGGE des échantillons de la fraction  $> 2000 \mu\text{m}$  de sol des différents modes de gestion pratiqués.

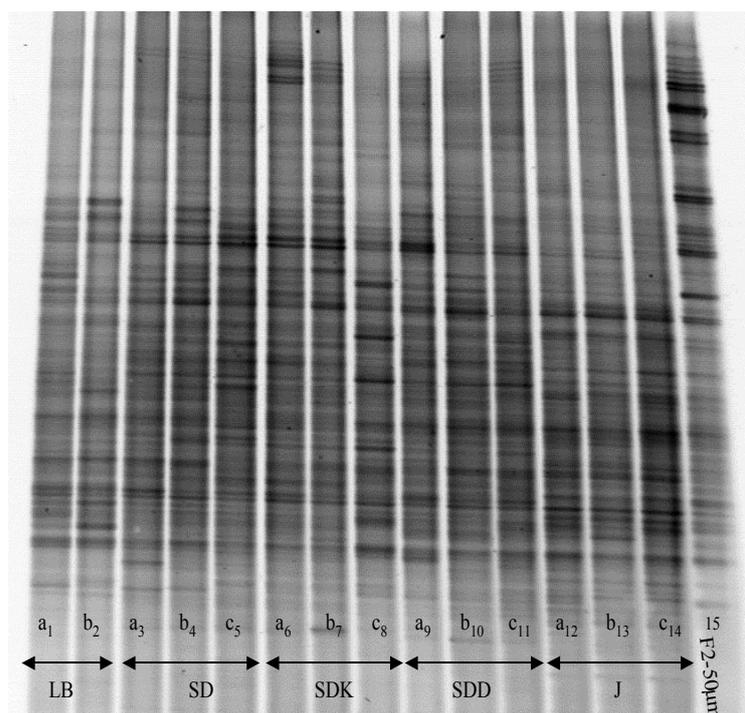


Figure 15 : Profils DGGE de l'ADNr 16S des communautés bactériennes totales des situations de labour (LB), de semis direct sur résidus de récoltes (SD), de semis direct sur couverture de kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD), de jachère (J) à *Aristida rufescens* pour les sols de la fraction >2000 µm et un échantillon de sol témoin de la fraction 2-50 µm (F2-50µm). Les lettres a, b, c indiquent des répétitions, les chiffres affectés indiquent les numéros des pistes.

Les résultats montrent également des profils DGGE différents en fonction des différents modes de gestion du sol. Le nombre total de bandes DGGE est plus important pour les situations de semis direct sous couverture végétale (SD, SDK, SDD) que pour les autres situations (J et LB). En effet, on retrouve de nombreuses bandes correspondant à des communautés à faible pourcentage de G+C dans les sols sous semis direct sur couverture végétale (SD, SDK, SDD) qui sont absentes dans les sols de labour (LB), absentes ou de faibles intensités dans les sols sous jachère (J).

Les profils DGGE des communautés bactériennes des sols de semis direct (SD, SDK, SDD) sont donc plus proches de celles des communautés des sols de jachère (J) que de celles des communautés des sols labourés (LB). Néanmoins, des bandes communes à tous les profils ont été identifiées quel que soit le mode de gestion du sol pratiqué. Ce qui révèle l'existence des communautés bactériennes stables dans la fraction > 2000 µm qui n'ont pas subi les impacts des différents modes d'usage des terres.

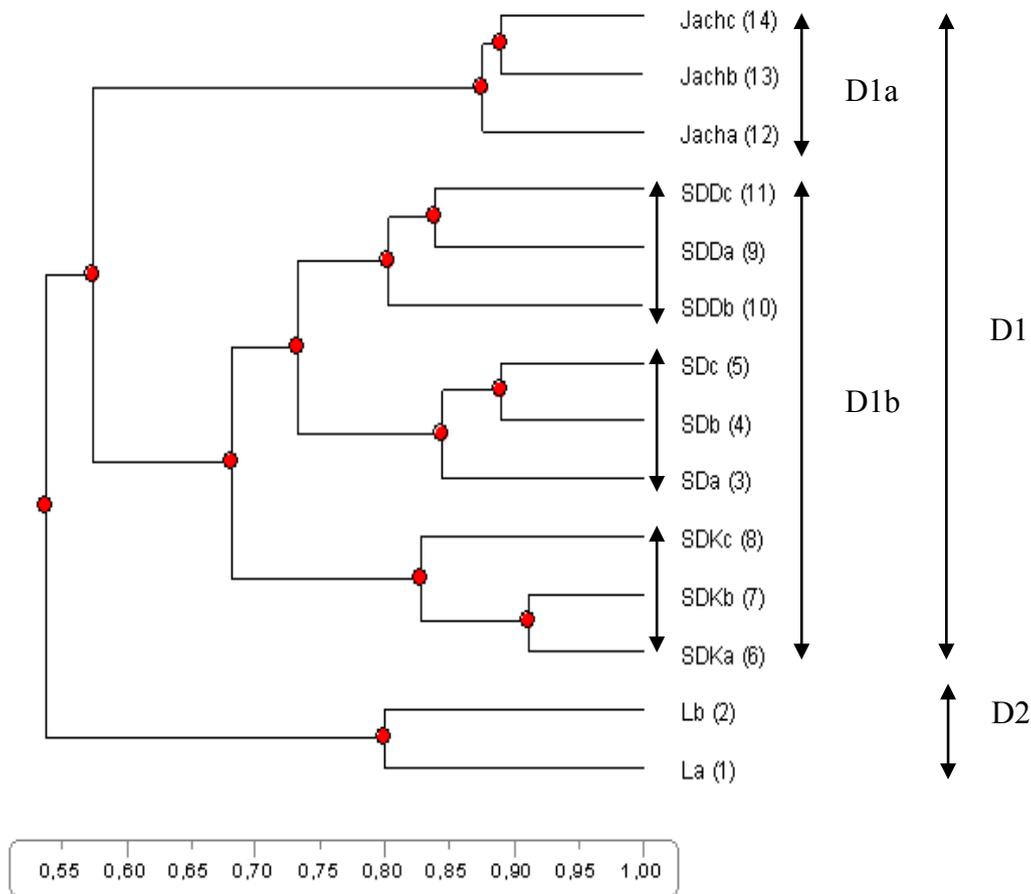


Figure 16: Dendrogramme de similarité (UPGMA) obtenus à partir des profils DGGE des différentes situations de jachère à *Aristida rufescens* (Jach), de labour (LB), de semis direct sur résidus de récolte (SD), de semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK), de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD) des sols de la fraction >2000  $\mu\text{m}$ . Les lettres a, b, c indiquent des répétitions, les chiffres affectés indiquent les numéros des pistes.

L'analyse du dendrogramme de similarité montre une séparation des profils des différents modes de gestion des sols en 2 grands clusters. On distingue un premier cluster (D1) qui est formé par les profils des communautés bactériennes des sols de jachère et de semis direct (SDD, SD, SDK) et un second cluster D2 uniquement constitué par les profils des communautés bactériennes des sols de labour (LB). Une analyse plus approfondie effectuée au sein du cluster D2 fait apparaître d'autres sous groupes. Notamment, le sous-groupe D1a constitué uniquement par les communautés bactériennes des sols de jachère et le sous-groupe D1b formé par les communautés bactériennes des sols de semis direct au sein duquel une différence de similarité est aussi observée entre les différents types de semis direct (SD, SDD, SDK).

Ces différents résultats soulignent l'impact variable que les modes de gestion des sols entraînent sur la structure génétique des communautés bactériennes totales. Les modifications

structurales majeures observées sont caractérisées par la présence ou l'absence, et les variations d'intensité des fragments DGGE sur les gels.

Le mode de gestion labour (LB) a des effets de réduction des communautés microbiennes (réduction du nombre de bandes DGGE dans son profil) contrairement au système de semis direct sur couverture végétale (SD, SDK, SDD).

## **CHAPITRE 4: DISCUSSION**

Dans ce travail, nous avons étudié les activités et la structure des communautés bactériennes dans 2 fractions (2-50  $\mu\text{m}$  et  $>2000 \mu\text{m}$ ) de sols soumis à différents modes de gestion à savoir le semis direct, le labour et la jachère.

Les résultats obtenus nous ont permis d'apprécier l'impact des effets de différentes pratiques culturales sur les microorganismes qui sont souvent utilisés comme indicateurs de la qualité des sols. Ces résultats montrent une variabilité de réponses des communautés microbiennes vis-à-vis des modes d'usage des terres, soulignant les effets de ces différentes perturbations sur le fonctionnement biologique du sol.

### **1. Effets des modes de gestion du sol sur les teneurs en C et N totaux.**

Les systèmes de semis direct sur couverture végétale réduisent significativement les pertes en C par rapport au labour et augmentent la stabilité des agrégats (Razafimbelo, 2005). L'usage du labour favorise l'érosion et la minéralisation qui sont des facteurs majeurs contribuant à une diminution des stocks de matière organique des sols.

Nos résultats montrent que les différences dans les teneurs en C et N totaux entre les systèmes de semis direct à couverture morte (SD) et à couverture vivante (SDK, SDD) ne sont pas significatives. L'ensemble des résultats enregistrés montrent que dans les sols sans labour, les teneurs en C et N séquestrés dans les deux habitats microbiens sont plus élevées. Elles apparaissent généralement similaires à celles de la jachère à *Aristida rufescens* (J). Les modes de gestion des sols ont des effets variables sur les teneurs en C et N totaux dans les agrégats.

Par ailleurs, la variabilité des réponses sur les teneurs en C et N totaux obtenue semble moindre pour le micro-agrégat 2-50  $\mu\text{m}$  par rapport aux macro-agrégats  $> 2000 \mu\text{m}$  dans les différents systèmes de culture. Ainsi, le C et N contenus dans les micro-agrégats 2-50  $\mu\text{m}$  sont mieux protégés et plus stable. La fraction  $> 2000 \mu\text{m}$  est connue par sa sensibilité aux pratiques agricoles (Chasstrusse, 1998 ; Ndour, 2003). Il est important de souligner que dans les sols que nous avons utilisés, il n'existe pas de particules minérales de la taille de cette fraction ( $>2000 \mu\text{m}$ ). Cet habitat microbien est constitué de particules minérales et organiques agrégées. L'instabilité de ce macro-agrégat est liée certainement à la nature des liaisons impliquées dans sa structuration et sa stabilisation (Beare et al., 1994). Dans les systèmes de culture avec labour, les perturbations périodiques dues à l'action mécanique entraînent la désagrégation des macro-agrégats  $> 2000 \mu\text{m}$  et leur confèrent une durée de vie courte. La matière organique (C et N) perdue par la fraction  $> 2000 \mu\text{m}$  lors de ces cycles de perturbations serait reçue au niveau de la fraction 2-50  $\mu\text{m}$  (Chasstrusse, 1998).

La concentration des résidus végétaux dans le sol est plus importante dans les systèmes de cultures avec apport organique (J, SD, SDD, SDK) que ceux qui sont sans restitution de MO (LB). La formation des macro-agrégats relativement stables de la taille de la fraction > 2000  $\mu\text{m}$  s'effectue autour de ces résidus végétaux frais appelés matière organique particulaire (MOP) et à leur dynamique. En effet, ces macro-agrégats dans les systèmes de culture à apport de résidus sont plus riches en C jeune (Puget et al., 2000) liée à l'arrivée des MOP dans le sol. La décomposition des MOP dans les macro-agrégats aboutit à la formation MOP plus fines qui se lie pour former le cœur de nouveaux micro-agrégats internes aux macro-agrégats. Ce qui explique que les macro-agrégats soient plus riches en MO facilement accessible à l'activité minéralisatrice microbienne par rapport aux micro-agrégats libres. Ainsi le C et N contenus dans les micro-agrégats libres sont plus anciens et mieux protégés contre les attaques microbiennes. Six et al., 2002 soulignent que la matière organique particulaire joue un rôle d'agent de liaison entre les micro-agrégats et contribue ainsi à une bonne structuration du sol en favorisant la formation de macro-agrégats. La destruction des macro-agrégats par le biais du labour accélère la dynamique de minéralisation du C et N des MOP fines et entraîne un flux de  $\text{CO}_2$  dans l'atmosphère. Ce qui entraîne un turnover plus élevé des macro-agrégats dans les systèmes de labour par rapport aux systèmes de semis direct avec couverture du sol lié essentiellement à l'effet de la destruction du sol et à la minéralisation. Nos résultats corroborent ceux de Six et al (1999) qui montrent que l'augmentation du turnover des macro-agrégats dans les systèmes de labour est le principal facteur impliqué dans la diminution des stocks de C et N des matières organiques dans le sol.

En ce qui concerne la fertilisation, l'apport ne semble pas avoir d'effets significatifs au niveau des fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et > 2000  $\mu\text{m}$ . En effet, à Andranomanelatra les teneurs en C et N totaux sont plus élevées dans la jachère à *Aristida rufescens* (J) par rapport aux autres systèmes de culture malgré l'absence de fertilisation. Ces résultats corroborent ceux d'autres auteurs (Potter et al., 1998, Rabary et al., 2008) qui montrent que l'apport de fertilisation n'a pas d'effets sur la séquestration du C et N dans le sol. Ceci pourrait s'expliquer également par la qualité biochimique des résidus d'*Aristida rufescens* et à l'absence de travail du sol. Ainsi, nos résultats ont montré que les modes de gestion sans travail ou avec travail réduit du sol assurent une meilleure protection de la MOS liée à une porosité du sol plus faible et une l'absence de déstructuration du sol.

## 2. Effets des modes de gestion du sol sur les activités enzymatiques

Les activités enzymatiques jouent un rôle clé dans le fonctionnement biochimique des sols. Les enzymes du sol interviennent dans la décomposition des composés xénobiotiques et dans le cycle biogéochimique. Les mesures des activités enzymatiques peuvent être utilisées comme indicateur de la qualité des sols dues à l'usage des pratiques agricoles mais aussi pour comprendre le fonctionnement de l'écosystème édaphique.

Les résultats des activités  $\beta$ -glucosidase et phosphatase acide montrent que les modes de gestion des sols modifient les activités enzymatiques dans les agrégats 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$  des sols. Une augmentation significative de l'activité de ces enzymes sous semis direct sur couverture végétale (SD, SDD, SDK) par rapport au labour (LB) est notée. Une corrélation positive et significative existe entre le contenu en C organique des sols et l'activité de la  $\beta$ -glucosidase (Ndour et al., 2001a; Knight et al., 2004). La mise à disposition de substrats carbonés dans les agrégats serait favorable à l'activité de cette enzyme. Ces résultats corroborent ceux observés par d'autres auteurs (Banick et Dick., 1999; Roldan et al., 2003; Balota et al., 2004; Roldan et al., 2005) qui montrent que l'activité  $\beta$ -glucosidase est stimulée par l'apport des résidus végétaux. Les variations dans l'activité  $\beta$ -glucosidase reflètent une modification de la disponibilité des substrats carbonés par les communautés microbiennes dans les différents modes de gestion relatifs aux différents systèmes de culture. Ainsi l'augmentation de l'activité  $\beta$ -glucosidase sous semis direct serait inhérente à une forte disponibilité du substrat dans les agrégats du sol par l'activité des communautés microbiennes.

La qualité des apports organiques (résidus ou produit d'exsudations) constitue l'un des déterminants majeurs qui affecte la composition, et l'activité de la microflore du sol (Ndour et al., 2001a; Nsabimana et al., 2004). Les composés phénoliques comme les tanins (Skerman *et al.*, 1988) et les isoflavones issus des exsudats racinaires de *Desmodium uncinatum* (Tsanuo et al., 2003) ont un effet inhibiteur sur la composition et sur l'activité microbienne (Hattenschwiler et Vitousek 2000). Cependant, en comparant les deux types de semis direct sur couverture vivante de kikuyu (SDK) et de *Desmodium uncinatum* (SDD), nos résultats ne montrent pas une différence significative dans les activités enzymatiques (phosphatase acide et  $\beta$ -glucosidase) dans les fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$ . Néanmoins, sur les mêmes sols constituant notre dispositif d'étude, des travaux de Rabary et al (2008) montrent que la biomasse microbienne et la respiration basale sont significativement plus faibles pour le semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* par rapport à celle sous Kikuyu et sur couverture morte.

Par ailleurs, les résultats que nous avons obtenus pour l'activité phosphatase acide montrent une activité significativement plus élevée dans la fraction 2-50  $\mu\text{m}$  comparée à la fraction  $> 2000 \mu\text{m}$  quelle que soit la pratique culturale. Ces résultats sont en accord avec ceux de Wang et al. (2000) qui trouvent que la concentration du phosphore en solution est plus élevée dans les micro-agrégats que les macro-agrégats. Ce qui est attribuable à l'effet de l'apport de résidus organiques à la surface du sol en qualité et en quantité importantes et aux caractéristiques des micro-agrégats favorables à l'activité des microorganismes. De Prado et al. (1982) ont montré une corrélation positive entre la teneur en matière organique et les activités phosphatasiques. Cependant, il est important de souligner que le phosphore phytodisponible ou la fraction de phosphore totale susceptible d'être absorbée ou prélevée par les organismes vivants (Morel et al., 2001) reste faible dans le sol malgré l'accumulation des résidus végétaux en surface sous semis direct (Roldan et al., 2005). En effet, l'activité phosphatase est corrélée négativement à la disponibilité du P assimilable. La biodisponibilité du phosphore phytodisponible est sous l'influence de la nature des sols. Les travaux de Rabeharisoa (2004) montrent que les sols ferrallitiques des hautes terres de Madagascar sont caractérisés par la présence d'oxydes et d'hydroxydes de fer et d'aluminium. Ces sols ferrallitiques acides se distinguent par une capacité de la phase solide à réagir avec les ions phosphates. En effet, la déficience en phosphore assimilable est un facteur limitant majeur de la productivité des cultures dans les sols tropicaux acides (Johnson et al., 2006) malgré une teneur potentielle en phosphore élevée.

### **3. Effets des modes de gestion du sol sur la structure génétique des communautés bactériennes totales.**

Les microorganismes du sol jouent un rôle important dans la qualité des sols et la productivité des plantes (Hill et al., 2000). Les nouvelles techniques employées en biologie moléculaire pour caractériser les communautés microbiennes sont basées sur l'analyse de l'ADN microbien directement extrait à partir des échantillons environnementaux. L'utilisation de ces techniques permet de s'affranchir des étapes d'isolement et de culture sur milieux sélectifs. De plus, ces derniers sont non-représentatifs de l'ampleur de la diversité réelle des bactéries (Hill et al., 2000).

La DGGE est une technique particulièrement adaptée à la caractérisation de la structure génétique des communautés microbiennes complexes à partir de produits PCR des ADN extraits (Muyzer et al., 1993; Teske et al., 1996; Felske et al., 1998). Elle permet aussi un suivi rapide des changements dynamiques des communautés microbiennes complexes

(Muyzer et al., 1993; Santegoeds et al., 1998). Cependant, il est important de souligner qu'il existe certaines étapes de l'analyse (extraction d'ADN, PCR) qui peuvent être une source de biais (Muyzer et al., 1993; Duineveld et al., 2001; Maarit-Niemi et al., 2001). Plusieurs séquences sont certainement contenues dans une bande unique du profil électrophorétique (Kirk et al., 2004) et inversement, un organisme unique peut être représenté par plusieurs bandes (Jensen et al., 1993).

La technique PCR-DGGE utilisée dans notre étude évalue l'impact des modes de gestion du sol sur la structure génétique des communautés bactériennes totales dans les habitats microbiens 2-50  $\mu\text{m}$  et  $>2000 \mu\text{m}$ .

L'analyse des résultats des profils et des dendrogrammes de similarité montre une différence significative entre les communautés bactériennes des sols sous semis direct (SD, SDD, SDK) et jachère (J) à celle des communautés bactériennes des sols labourés quel que soit l'habitat microbien. Ces résultats sont confortés par ceux de Peixoto et al (2006) qui montrent une différence de population bactériennes en réponses aux différentes pratiques culturales. Les modifications structurales majeures observées sont caractérisées par l'absence de plusieurs bandes DGGE sur les sols labourés. Cet effet est plus apparent au niveau du macro-agrégat  $> 2000 \mu\text{m}$  par rapport au micro-agrégat 2-50  $\mu\text{m}$ .

En plus, des différences sont également observées dans la structure des communautés bactériennes dans les sols de jachère, de semis direct sur couverture vive de *Desmodium uncinatum* (SDD) à celle des communautés bactériennes des sols sous semis direct sur couverture vive de Kikuyu (SDK). Ce résultat pourrait s'expliquer par la qualité de la matière organique issue des différentes couvertures végétales et/ou de leurs exsudats racinaires susceptibles d'exercer une influence sur la composition des communautés bactériennes. En effet, les composés phénoliques comme les isoflavones contenus dans les exsudats racinaires de *Desmodium uncinatum* (Tsanuo et al., 2003) sont reconnus pour leur effet inhibiteur sur la croissance microbienne (Hattenschwiler et Vitousek 2000; Nsabimana et al., 2004). Ainsi, on pourrait alors supposer qu'il y a des communautés spécifiques qui seraient éventuellement affectées par la nature de ces composés phénoliques. Ce résultat, conforté par d'autres travaux (Nüsslein et al., 1999; Sall et al., 2004; Richard et al., 2007), montre un changement dans la structure des communautés microbiennes en fonction de la qualité des résidus organiques.

En comparant la structure génétique des communautés bactériennes totales des 2 fractions 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$ , (profil DGGE), on remarque une distinction entre les communautés bactériennes de ces deux types d'habitats microbiens. Ce résultat corrobore d'autres études (Chotte et al., 1993; Ranjard et al., 1997; Ranjard et al., 2000; Sessitch et al.,

2001; Väisänen et al., 2005) qui montrent des différences dans la structure des communautés bactériennes et une répartition différente des microorganismes dans le sol en fonction des classes d'agrégats.

En effet, la dégradation des agents de liaisons des macro-agrégats  $>2000 \mu\text{m}$  par le biais du labour contribue à une modification des caractéristiques de ces habitats microbiens. Ce macro-agrégat  $>2000 \mu\text{m}$  représente un habitat instable (Chastrusse, 1998; Ndour, 2003; Diallo, 2005) et sa déstructuration s'accompagne d'une réduction des activités microbiennes et d'une modification de la diversité (Chotte et al., 2002; Ndour, 2003). La désagrégation de cet habitat microbien s'accompagne d'une libération des particules minérales organiques de taille inférieure. Cette matrice organo-minérale associée aux microorganismes est transférée à la fraction fine du sol. Le micro-agrégat  $2-50 \mu\text{m}$ , du fait du turnover plus faible que celui du macro-agrégat  $> 2000 \mu\text{m}$  (Six et al., 2000), mais également par ses capacités à concentrer et à stabiliser le carbone des matières organiques, représente un habitat privilégié et pérenne pour les bactéries (Chotte et al., 1998; Ndour, 2003; Diallo, 2005 ; Ndour et al., 2008). En plus, Torsvik et Ovreas (2002) montrent que plus de 80% des populations bactériennes totales sont préférentiellement localisées dans les micropores qui se trouvent dans les micro-agrégats  $2-20 \mu\text{m}$ . La porosité de ces micro-agrégats les définit comme des habitats où la prédation est faible avec une humidité du sol relativement stable et une disponibilité en oxygène et en nutriment faibles (Ranjard et al., 2000).

Les caractéristiques de ces différents habitats microbiens favorisent une répartition des populations bactériennes différentes en leur sein. La structure ou la composition des communautés microbiennes est donc significativement affectée par la taille des agrégats (Torsvik et Ovreås, 2002; Ndour et al., 2001b).

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Notre étude a montré que les systèmes de semis direct sur couverture végétale peuvent être considérés comme une alternative dans la perspective de trouver des moyens efficaces pour remédier à la vulnérabilité des sols et pour assurer la restauration et le maintien de la fertilité des sols tropicaux. Le potentiel de ces pratiques agricoles réside dans leur capacité de restitution de la matière organique, et dans la régénération et le maintien de la structure du sol. A travers les résultats de cette étude, on note que les teneurs en C total et N total pour les systèmes de semis direct sur couverture végétale (SD, SDD et SDK) sont semblables à celles qui sont observées dans la jachère à *Aristida rufescens* (J). En plus, les activités microbiennes sont plus soutenues dans les systèmes de semis direct sur couverture permanente du sol comparés à la jachère à *Aristida rufescens* (J).

La réponse des microorganismes face aux variations des modes de gestion des sols dépend aussi bien de la qualité biochimique des résidus, de leur quantité, que du type des habitats microbiens.

En comparant les différents systèmes de semis direct sur couverture végétale, la couverture morte présente des effets stimulateurs sur les propriétés microbiennes du sol. Cependant, elle n'assure pas une couverture permanente du sol. Ses limites sont donc certainement liées à une utilisation concurrentielle de ces paillis de résidus de récolte comme fourrage, à leur exposition au feu et à une vitesse de minéralisation de la matière organique plus importante par rapport aux systèmes de semis direct sur couverture vivante. Ces derniers possèdent un potentiel énorme d'accomplir les fonctions de couverture permanente du sol et de fourrage pour l'alimentation du bétail.

Par contre, dans ces systèmes le choix de la plante de couverture est important. En effet, les résultats montrent que les exsudats racinaires de *Desmodium uncinatum* influencent la composition des communautés bactériennes dans les agrégats. Ainsi le choix de la plante de couverture dans les systèmes de semis direct à couverture vivante exigerait davantage d'étude pour mieux optimiser leur potentiel en tant que moyens à mettre en place pour répondre à la productivité agricole et aux soucis environnementaux.

Nos résultats montrent que les activités enzymatiques et la structure génétique des communautés bactériennes sont les indicateurs sensibles de la qualité des sols dans les modes de gestion relatifs aux systèmes de culture que nous avons étudiés.

Au vue des résultats encourageant obtenus dans notre étude, nous suggérons une application des systèmes SCV dans des régions du Sénégal où les sols sont en proie à une dégradation intense.

Néanmoins les études doivent se poursuivre afin de cerner davantage le fonctionnement microbiologique des sols sous ces différents systèmes SCV. Il faudra envisager plusieurs pistes de recherche pour mieux comprendre le fonctionnement microbiologique des sols dans ces modes de gestion.

- Etudier les amendements organiques ou minéraux qui pourront réduire la capacité d'absorption du phosphore et qui permettront la libération du phosphore biodisponible par diffusion de la phase solide vers la solution du sol pour la nutrition phosphatée des plantes.
- Comprendre l'activité et la structure des communautés fongiques dans les systèmes de SVC
- Déterminer les effets des SCV sur les émissions de  $N_2O$  qui constitue un gaz à effet de serre en étudiant l'activité et la structure génétique des communautés dénitrifiantes à l'origine de ces émissions de  $N_2O$ .

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- Balesdent J., Chenu C., and M. Balabane (2000). Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil Tillage Res.* 53 215-230
- Balota, E. L., Filho, A. C., Andrade, D. S., and R. P. Dick. (2004). Long term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a brazilian oxisol. *Soil and tillage research.* 77 : 137-145.
- Bandick, K. A., and R. P. Dick (1999). Field management effects on soil enzymes activities. Department of Crop and Soil Science, Oregon State University, Corvallis, OR, 97331-7306, USA. *Soil Biologie and Biochemistry*, 31. pp 1471-1479.
- Beare, M.H., Cabrera, M.L., Hendrix, P.F., and D. C. Cileman.(1994). Aggregates-protected and unprotected organic matter pools in conventionnal-tillage and no-tillage soils. *Soil Sci. Soc. Am. J* 58, 787-795.
- Bossuyt, H. Denef, K. Six, J. Frey, S. D. Merckx, R. and K. Paustian (2001). Influence of microbial populations and residue quality on aggregate stability. *Applied Soil Ecology*.16 pp : 195-208
- Brady, N. C (1974). The Nature and Properties of Soil. MacMilln Publishing Co., Inc. New York.
- Brock, T.D. and H. Freeze.(1969). *Thermus aquaticus* Gen N and sp N anonsporulating extreme thermophile. *J. Bacteriol.* 98. 289-297.
- Bronick, C. J., and R. Lal (2005). Soil structure and management : A rewier. *Geoderma* 124 pp 3-22
- Callot, G., Chamayou, H., Maertens, C., and L. Salsac. (1982). Mieux comprendre les interactions sol-racine. Incidence sur la nutrition minérale. *INRA Paris.* 325 pages
- Chastrusse, C. (1998). Localisation et diversité des bactéries cellulolytiques lors d'un cycle de dessiccation/rehumectation. *Diplôme d'Etudes Approfondies spécialité Ecologie Microbienne option Sol et Eau.* 25p. Université Claude Bernard, Lyon. (France).
- Chotte, J.L., Monrozier, L.J., Villemin, G., and F. Toutain. (1992). Effet du mode de dispersion du sol sur la localisation de sa biomasse microbienne cas d'un vertisol. *Cah. Orstom, Ser Pedol.*, Vol XXVII, N° 1, 81-95.
- Chotte, J.L., Monrozier, L.J., Villemin, G., and A. Albrecht. (1993). Soil microhabitat and importance of the fractionation method. In : *Soil organic matter dynamics and sustainabilty of tropical agriculture (Ed Mulongoy K Merckx R)*, Wiley, Leuwen.
- Chotte, J.L. Villemin, G. Guilloiré, P. and L. J. Monrozier. (1994). Morphological aspects of microorganim habitats in a vertisol. In *Soil Micromorphology : Studies in Management and Genesis*, A.J.R Ringroese-Voase and G.S.Humphreys (Eds), Proc. IX Int. Working Meeting on Soil Micromorphology, Townsville, Australia, July 1992. *Developpement in soil Science.* 22, Elsevier, Amsterdam, pp 395-403.
- Chotte, J. L., Ladd, J. N., and M. Amato (1998). Sites of microbial assimilation and turnover of <sup>14</sup>C soluble and particulate substrates decomposing in a clay soil. *Soil biology and Biochemistry*, 30 : 2, 205-218.
- Chotte, J. L., Schwartzmann, A., Bally, R., and J. L. Monrozier. (2002). Changes in bacterial communities and Azospirillum diversity in soil fractions of a tropical soil under 3 or 19 years of natural fallow. *Soil Biologie & Biochemistry* J 34, 1083-1092.
- Davet, P. 1996. Vie microbienne du sol et production végétale. INRA, ed. (Paris). 383 p
- De Prado, R., Tena, Manuel., and J. A. Pinilla, (1982). Relation entre la teneur en matière organique et les activités phosphatasiques de différents sols. *Agronomie*, 2 : 539-544.
- Deng, S. P., and M. A. Tabatabaï. (1996). Effet of tillage and residue management on enzyme activities in soils : II. Glucosidases. *Biol. Fertil. Soils.* 22 : 208-213.
- Diallo, N.H. (2005). Activité et diversité des communautés microbiennes des sols tropicaux : effet des jachère de courte durée sur les habitats microbiens. *Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies, Université Cheikh Anta Diop de Daka.*

- Dick, W. A., and M. A. Tabatabaï (1984). Kinetic parameters of phosphatases in soils and organic matter waste materials. *Soil Science*. 137, 7-15.
- Dick, R. P (1994). Soil Enzyme Activities as Indicators of Soil Quality. In : Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D. F., Stewart, B.A. (Eds), *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. Soil Sci. Soc. Am. Madison, J 677 pp 107-124.*
- Dick, R. P., Breakwell, D. P., and R. F. Turco. (1996). Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators, *Methods for assessing Soil Quality*, Vol. 9. *Soil Science Society of America, Madison, WI pp. 9-17.*
- Dick, A. W., Cheng, L., and P Wang. (2000). Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. *Soil biology and Biochemeistry*. 32 : 1915-1919.
- Dommergues, Y., E. Duhoux et H.G. Diem. 1998. Les arbres fixateurs d'azote caractéristiques fondamentales et rôle dans l'aménagement des écosystèmes méditerranéens et tropicaux, avec référence particulière aux zones subhumides et arides. Editions espaces 34; Montpellier (France).
- Donias, I. (2001). Synthèse bibliographique des SCV. (<http://agroecologie.cirad.fr/>).
- Duineveld, B. M., Kowalchuk, G. A., Keijzer, A., van ELSAS, J. D., and J. A. van VEEN. (2001). Analysis of Bacterial Communities in the Rhizosphere of Chrysanthemum via Denaturing Gradient Gel Electrophoresis of PCR-Amplified 16S rDNA as Well as DNA Fragments Coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 67: . 172-178
- Eivazi, F., Tabatabaï, M. A., 1977. Phosphatase in soils. *Soil Biol. Biochem.* 9, 167-172.
- Feller C. & M.H. Beare. (1997). Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics. *Geoderma* 79: 69-116.
- Felske, A., Akkermans, D. A., and, W. M. D. Vos (1998). Quantification of 16S rRNAs in complex bacterial communities by multiple competitive reserve transcription-PCR in temperature gradient gel electrophoresis fingerprints. *Appl and Environmental Microbiology* 65, 4581-4587.
- Guckert , A., Chone ,T., et F. Jacquin. (1975). Microflore et stabilité structurale des sols. *Rev. Ecol. Biol. Sol.* 12, 211-223
- Gupta, V.S.R., and J. J. Germida. (1988). Distribution of microbial biomass and its activity in different soil aggregate size classes as affected by cultivation. *Soil Biol. Biochemistry* 20 : 777-786.
- Hassing, J. (1997). The capacity of soils to preserve the organic C and N by their association with Clay and silt particles. *Plant and Soil* 191. pp77-87.
- Hättenschwiler, S., and P. M. Vitousek. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *TREE*. 15 : 238-243.
- Hayano, K., (1973). A method for determination of  $\beta$ -glucosidase activity in soil. *Soil. Sci. Plant Nutr.* 19, 103-108
- Hill, G. T., Mitkowski, N. A., Aldrich-Wolfe, L., Emele, L. R., Jurkonie, D. D., Ficke, A., Ramirez, M. S., Lynch, S. T., and E. B. Nelson. (2000). Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology*. 15 : 25-36.
- Horner, Devine, M. C., Carney, M.K., and Brendan J. M. Bohannon. (2003). An ecological perspective on bacterial biodiversity. *Proc. R. Soc. London*. J 271, 113-122.
- Jensen, M., Webster, J., and N. Strauss. (1993). Rapid Identification of Bacteria on the basis of polymerase Chain Reaction-Amplification Ribosomal DNA Spacer polymorphisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 59 : 945952
- Jonhson , E, S., and H. R. Loeppert. (2006). Role of organic acids in phosphate mobilisation from iron oxide. *Soil . Sci. Soc. Am.* J 70 : 222-234.

- Kay, B. D. (1998). Soil structure and organic carbon : a review. In : Lal, R., Kimble, J. M., Follet, R. F., Stewart, B. A. (Eds) Soil Processes and Carbon Cycle. *CRC Press, Boca Raton, FL*, pp. 169-197.
- Kirk, J. L., Beaudette, A. Lee., Miranda Hart., Peter Moutoglis., John, N. Klironomos, Hung Lee., and Jack T Trevors. (2004). Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods* 58 : 169-188.
- Knight, R. T., R. P Dick. (2004). Differentiating microbial and stabilized  $\beta$ -glucosidase activity relative to soil quality. *Soil Biol & Biochemistry*. 36. 2089-2096.
- Kushwaha, C. P., Tripathi, S. K., and K. P. Singh.(2000). Variations in soil microbial biomass and N availability due to residue and tillage management in a dryland rice agroecosystem. *Soil and tillage Research*. 56 : 153-166.
- Madejón, E., Burgos, P., Lopez, R., and F. Cabrera. (2001). Soil enzymatic response to addition to heavy metals with organic residues. *Biology and fertility of soils* 34: 144-150.
- Maarit Niemi, R., Heiskanen, I., Wallenius, K., and K. Lindström (2001). Extraction and purification of DNA in rhizosphere soil samples for PCR-DGGE analysis of bacterial consortia. *Journal of Microbiological Method*. 45 :155-165.
- Martínez, A. V., Cruz, L., Ramírez, S. D., and P. L. Alegria. (2007). Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology*. 35 : 35-45
- Miller, R. M., and J. D. Jastrow. (1990). Hierarchy of root and mycorrhizal fungal interactions with soil aggregation. *Soil . Biol. Biochemistry*. 22 : 579-584.
- Morel, C., Linères Monique, Guivarch, A., Kvarnström, E., Parnaudeau, V., Nicolardot, B., et J. L. Morel. (2001). Phytodisponibilité et valeur fertilisante du phosphore de déchets urbains. *Dossier de l'environnement de L'INRA*. pp35-44.
- Mullis, K. B. and F. A. Faloona. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. *Methods Enzymol*. 155 : 335-350.
- Muyzer, G., De Waal, EC,land AG., Uitterlinden-1993-Profiling of complex microbial populations by de naturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbial* 59 : 695-700.
- Ndiaye, E. L., Sandeno, J. M., McGrath, and R. P. Dick. (2000). Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. *American Journal of Alternative Agriculture*. 15 : 26-36
- Ndour, N.Y. B. Chotte, J.L., Pate, E., Masse, D., and C. Rouland. (2001a). Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions. *Appl. Soil Ecol*. 18, 229-238.
- Ndour . N. Y. B., Achouak, W., Christen, R., Heulin, T., Brauman, A., and J. L. Chotte (2001b). Molecular diversity of microbial community located in different microsites of tropical soil. In Proceedings of 9th International symposium on Microbial Ecology, 26-31 August 2001, The Netherland, p 309.
- Ndour, N. Y. B. (2003). Caractérisation des habitats microbiens d'un sol ferrugineux tropical (Sénégal) : effets des modes de gestion de la jachère et de la culture. *Thèse de Doctorat, Université Cheikh Anta Diop de Dakar. (Sénégal)*.
- Ndour, N. Y. B., Achouak, W., Christen, R., Heulin, T., Brauman, A., and J. L. Chotte (2008). Characteristics of microbial habitats in a tropical soil subject to different fallow management. *Applied Soil Ecology*, 38 : 51-61.
- Nsabimana, D., Haynes, R. J., and F. M. Wallis. (2004). Size, activity and catabolic diversity of the soil microbial biomass as affected by land use. *Appl. Soil Ecol*. 26, 81-92
- Nüsslein, K., and J. M. Tiedje. (1999). Soil Bacterial Community Shift Correlated with Change from Forest to Pasture Vegetation in a Tropical Soil. *Applied and Environmental Microbioloy* . vol. 65 : 3622-3626.

- Oades, J.M. (1993). The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure. *Geoderma* 56, pp. 377–400.
- Odum, E. P., (1971). Fundamentals of ecology, 3<sup>e</sup> ed. *Saunders, Philadelphia, 574p.*
- Øvreas, L, Forney, L, DAAE, FL., and V. Torsvik-1997-Distribution of bacterioplankton in meromictic Lake Saelenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 63 : 3367-3373.
- Peixoto, R. S., Coutinho, H. L. C., Madari, B., Machado, P. L. O. A., Rumjanek, N. G., Van Elsas, J. D., Seldin, L., and A. S. Rosado. (2006). Soil aggregation and bacterial community structure as affected by tillage and cover cropping in the Brazilian Cerrados. *Soil Tillage Research* 90 p 16-28.
- Perret, S (1992). Etude des propriétés physiques, hydriques et mécaniques de sols andiques de la Réunion. Facteurs naturels et anthropiques d'évolution des horizons culturels, implications agronomiques et écologiques. *Thèse de doctorat de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier : 279 p + annexes.*
- Porteous, L. A., Seidler, R. J., and L. S. Watrud. (1997). An improved method for purifying DNA from soil for PCR amplification and molecular ecology applications. *Mol. Ecol.* 6, 787-791.
- Potter, K. N., Torbert, H. A., Jones, O. R., Matocha, J. E., Morrison Jr, J. E., and P. W. Unger. (1998). Distribution and amount of soil organic C in long-term management systems in Texas. *Soil & Tillage Research. Volume 47, Issues 3-4, Pages 309-321.*
- Puget, P., Chenu, C., and J. Balesdent (2000). Dynamics of soil organic matter associated with particle-size fractions of water-stable aggregates. *European Journal of Soil Science*, 51 p595-605.
- Rabary, B. Sall, S. Letourmy, P. Husson, O. Ralambofetra, E. Moussa, N., and J. L. Chotte (2008). Effects of living mulches or residue amendments on soil microbial properties on direct seeded cropping systems of Madagascar. *Appl Soil Ecol. pp 1-8.*
- Razafimbelo, M. T. (2005). Stockage et protection du carbone dans un sol ferrallitique sous semis direct avec couverture végétale des hautes terres malgaches. *Thèse de doctorat, Ecole Nationale Agronomique de Montpellier. France.*
- Rabeharisoa, R. L. (2004). Gestion de la fertilité et de la fertilisation phosphatée des sols ferrallitiques des hautes terres de Madagascar. *Thèse de doctorat d'Etat es Sciences naturelles, Département de Biologie et Ecologie Végétale, Faculté des Sciences, Université D'Antananarivo. (Madagascar)*
- Ranjard, L., Poly, F., Combrisson, J., Richaume, A., Courbière, F., Thioulouse, J., and S. Nazaret. (2000). Heterogeneous cell density and genetic structure of bacterial pools associated with various soil microenvironments as determined by enumeration and DNA fingerprinting approach (RISA). *Microbial Ecology.* 39 : 263-272.
- Read, D.J. (1991). *Frontiers in mycology.* Hawksworth, D.L (ed.), CAB International, Wallingford, England, pp. 101-130.
- Richard, L. W., Casper, B. Brenda., Jackson, K. John., and B. C. Teri. (2007). Soil microbial communities and extracellular enzyme activity in the New Jersey Pinelands. *Soil Biology and Biochemistry.* 39 : 2508-2519.
- Roldán, A., Caravaca, F. Hernández, T. M., García, C., Sánchez-Brito, C., Velásquez, M., and M. Tiscareño. (2003). No-tillage, crop residue additions and legume cover cropping effects on soil quality characteristics under maize in Patzcuaro watershed (Mexico). *Soil & Tillage Research.* 72, 65-73.
- Roldán, A., Salinas-garcía, R. J., Alguacil, M. M., and F. Caravaca. (2005). Changes in soil enzyme activity, fertility, aggregation and C sequestration mediated by conservation tillage practices and water regime in a maize field. *Appl. Soil Ecol.* 30, 11-20.

- Sá, J. C. M., Cerri, C. C., Piccolo, C. Marisa, Feigi, E. B., Buckner, J., Fornari, A., Sá, M. F. M., Seguy, L., Bouzinac, S., Venzke-Filho, P. S., Poullet, V., and S. M. Neto, (2004). Le semis direct comme base de système de production visant la sequestration du carbone. *Revista plantio Direto*. 84 : pp 45-61.
- Sall, S.N., (2004). Importance des relations «Résidus Végétaux-communautés microbiennes» sur les processus de décomposition dans un sol ferrugineux tropical (Sénégal) : effet de la disponibilité de l'azote. *Thèse de doctorat de l'université de Paris XII*.
- Santegoeds, C. M., Ferdelman, T. G., Muyzer, G., and D. de Beer. (1998). Structural and functional dynamics of sulfate-reducing populations in bacterial biofilms. *Appl Environ Microbiol*. 64 : 3731-3739
- Schutter, M.E., and R.P. Dick. (2002). Microbial community profiles and activities among aggregates of winter fallow and cover-cropped soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66 : 142-153.
- Scopel, E., Douzet, J-M., Da Silva, F. A. M., Cardoso. A. N., Moreira, J. A. A., Findeling. A., et M. Bernoux. (2005). Impacts des systèmes de culture en semis direct avec couverture végétale (SCV) sur la dynamique de l'eau, de l'azote minéral et du carbone du sol dans le cerrados brésiliens. *Cahier Agriculture vol. 14* : 74-75.
- Séguy, L., S, Bouzinac., S. Trentini, A., et N. A. Cortes. (1996). L'agriculture brésilienne des fronts pionniers. *Agriculture et Développement* 12, 2-61.
- Séguy, L. S, Bouzinac, et A. C. S. Maronnezi. (2001). Un dossier du semis direct : Systèmes de culture et dynamique de la matière organique. Cirad-ca-Agronote Pesquisas-groupe maeda-ong Tafa/Fofifa/anae, 202p. <http://agroécologie.cirad.fr>.
- Sessitsch, A., Weilharter, A., Gerzabek, H. M., Kirchmann, O., and E. Kandeler. (2001). Microbial Population Structures in Soil Particles Size Fractions of a Long-Term Fertilizer field Experiment. *Applied and Environmental Microbiologie. Vol 67* : p 4215-4224
- Skerman, P.J., Cameron, D.G., and F. Riveros. (1998). Tropical Forage Legumes, FAO plant production and Protection series, vol. 2. *Food and Agricultural organisation, Rome, pp 232-236*
- Six, J., Elliott, E.T. and K. Paustian. (1999). Aggregate and soil organic matter dynamics under conventional and no-tillage systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63, pp. 1350–1358.
- Six, J., Elliott, E.T. and K. Paustian. 2000. Soil structure and soil organic matter. II. A normalized stability index and the effect of mineralogy. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, pp. 1042–1049.
- Six, J., Paustian, K., Elliott, E.T. and C. Combrink. (2000). Soil structure and organic matter. I. Distribution of aggregate-size classes and aggregate-associated carbon. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64, pp. 681–689.
- Six, J., Conant, R.T., Paul, E.A. and K. Paustian. (2002). Stabilization mechanisms of soil organic matter: implications for C-saturation of soils. *Plant Soil* 241, pp. 155–176.
- Six, J., Bossuyt, H., Degryze S., K. Deneff. (2004). A historical research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil & tillage research j* :79. pp 7-31.
- Tabatabai, M. A., and J. M. Bremner. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1, 301-307.
- Tabatabai, M. A. (1994). Enzymes. In : Weaver, R.W., Augle, S; Bottomly, P.J., P.J., Berdick, Q.; Smith, S., Tabatabai, A., Wollum, A. (Eds.), *Methods of Soil Analysis. Part 2. Microbiological and Biogeochemical Properties, No. 5. Soil Sci.Soc. Am., Madison, pp 775-883*
- Tabatabai, M. A. (1996). Soil Enzymes. p. 775-833. In D. L. Sparks (ed.) *Methods of Soil Analysis, Part 3. Chemical Methods. SSSA Book Series no.5. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI.*

- Theng G, B. K.G. (1987). Clay-humic interactions and soil aggregate stability. In : P. Rengasamy (ed), Soil structure and aggregate stability. Seminar Proceedinds. Institute of Irrigation and Salinity Research, Tatura, Australia. pp. 32-37.
- Teske, A., Wawer , C., Muiyzer , G., and N. Ramsing (1996). Distribution of sulfate-reducing bacteria in a stratified fjord (Mariager Fjord, denmark) as evaluated by most-probable-number counts and denaturing gradiend gel electrophoresis of PCR –amplified ribosomal DNA fragments. *Appl Environ microbial* 62 : 1405-1415.
- Tisdall, J.M. and J. M. Oades. (1982). Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J. Soil Sci.* 33, pp. 141–163.
- Tisdall, J. M., 1994. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant Soil* 159 : 115-121.
- Torsvik, V., and L. Øvreås. (2002). Microbial diversity and function in soil : from genes to ecosystems. Department of Microbiologie, University of Bergen, Post Box 7800, Norway. *Current Opinion in Microbiologie.* J 5, pp 240-245.
- Tsanuo, K. Muniru., Hassanali, A., Hooper, M. A., Khan, Z., Kaberia, F., Picket, A. J., and L. J. Wadhams. (2003). Isoflavanones from the allelopathic aqueous roots exsudate of *Desmodium uncinatum*. *Phytochemistry.* 64 pp : 265-273.
- Wang, X., Jackman, J. M., Yost. R. S., and B. A. Linqvist. (2000). Predicting Soil Phosporus Buffer Coefficients using potential Sorption Site Density and Soil Aggregation. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64 : 240-246.
- Wei, C. F., Gao, M., Shao, J., Xie, D., and G. Pan (2006). Soil aggregate and its response to land management practices. *China particuology.* 4 : 211-219
- Wright, A. L., and F. M. Hons (2005). Tillage impacts on soil aggregation and carbon and nitrogen sequestration under wheat cropping sequences. Department of Soil and Crop Sciences, Texas A&M University, 2474 TAMU, College station, TX 77843-2474, USA. *Soil and Tillage research.* J 84, pp 67-75.

## **ANNEXES**

## Annexe 1: Mesure de l'activité de la $\beta$ -glucosidase

### 1. Principe

Le principe du dosage de l'activité  $\beta$ -glucosidase est basé sur l'estimation de l'intensité colorimétrique qui résulte de la libération du Para-nitrophénol après incubation d'une quantité de sol en présence de tampon et de substrat.

### 2. Réactifs

#### 2. 1. Tampon Mac Ilvain ou tampon Citrate Phosphate

Il est préparé à partir d'un mélange de 19.7 ml d'une solution A 0.1 M (solution d'acide citrique) avec 30.3 ml d'une solution B 0,2 M (solution de dibasique de sodium phosphate). Le mélange est titré à un pH = 5.8 dans un volume final de 100 ml avec de l'eau déminéralisée. Le tampon Mac Ilvain pH 5.8 est également utilisé pour le dosage de la phosphatase acide. Elle est ensuite conservée à 4 C.

Préparation des solutions:

\**Solution A à 0.1 M*: dissoudre 19.21g d'acide citrique dans 1000 ml d'eau déminéralisée.

\**Solution B à 0.2 M* : dissoudre 53.65g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$  (dibasic sodium phosphate) ou dissoudre 71.7g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4, 12\text{H}_2\text{O}$  dans 1000 ml d'eau déminéralisée.

Préparation du substrat.

Le substrat de la  $\beta$ -glucosidase est le Para-Nitrophényl- $\beta$ -D-Glucopyranoside (Ref sigma N7006). Pour préparer le substrat, on dissout 97 mg de Para-Nitrophényl- $\beta$ -D-Glucopyranoside dans 10 ml d'eau déminéralisée. Il est conservé à  $-20^\circ\text{C}$  dans un flacon fumé ou enveloppe dans un flacon avec du papier aluminium.

#### 2. 2. Solution de carbonate de Sodium $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 0.2%

Cette solution est préparée en dissolvant 200 mg de carbonate de sodium dans 100 ml d'eau déminéralisée. Le volume peut varier en fonction du nombre d'échantillons à doser.

### 3. Dosage

Un (1) témoin substrat : 400  $\mu\text{l}$  de tampon+ 100  $\mu\text{l}$  de substrat

Un (1) témoin enzyme : 400  $\mu\text{l}$  de tampon +100mg de sol+100  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}$  déminéralisée

Trois (3) essais : 400  $\mu\text{l}$  de tampon+100mg de sol+100  $\mu\text{l}$  de substrat

- Vortexer et incuber pendant 2 h à  $37^\circ\text{C}$  sous agitation.

- Centrifuger avant l'arrêt de la réaction avec 3 ml de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

- Vortexer et laisser stabiliser pendant 15 mn à la température ambiante.

Le paranitrophénol libéré par l'activité de la  $\beta$ -glucosidase est mesuré au spectrophotomètre (spectronic 401) à la longueur d'onde de 400 nm après 15 minutes de stabilisation à la température ambiante. La lecture se fait contre un témoin blanc  $\text{H}_2\text{O}$ .

## Annexe 2: Activité de la Phosphatase acide

### 1. Principe

Le principe du dosage repose sur l'estimation de l'intensité de la coloration jaune résultant de la libération du para-nitrophénol après 1 h d'incubation à 37 °C avec du para-nitrophenylphosphate en présence de tampon et de substrat.

### 2. Réactifs

2. 1. Tampon Mac Ilvain ou tampon citrate phosphate (cf activité  $\beta$ -glucosidase)

#### 2. 2. Substrat

Le substrat de la phosphatase acide est le para-nitrophenyl phosphate 5 Mm (PNPP) (réf 104-0 Sigma). Le substrat est préparé à partir de la dissolution de 100 mg PNPP dans 10 ml d'eau déminéralisée. La solution est conservée à  $-20^{\circ}\text{C}$  dans un flacon fumé avant utilisation ou avec du papier aluminium.

#### 2. 3. Chlorure de calcium 0,5 M

Cette solution est préparée par la dissolution de 73,5 g d' hypochlorure de calcium  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dans un litre d'eau déminéralisée.

24 - Hydroxyde de sodium NaOH 0,5 M:

Préparation : Dissoudre 20 g de NaOH dans 1 l d'eau déminéralisée.

Les deux solutions ( $\text{CaCl}_2$  et le NaOH) sont conservées à la température ambiante.

### 3. Dosage

Pour le dosage de la de la phosphatase acide nous avons adoptés la procédure suivante :

Un (1) témoin substrat : 400  $\mu\text{l}$  de tampon+ 100  $\mu\text{l}$  de substrat

Un (1) témoin enzyme : 400  $\mu\text{l}$  de tampon +100mg de sol+100  $\mu\text{l}$   $\text{H}_2\text{O}$  déminéralisée

Trois (3) essais : 400  $\mu\text{l}$  de tampon+100mg de sol+100  $\mu\text{l}$  de PNPP

- Vortexer doucement et incubé pendant 1 h à  $37^{\circ}\text{C}$  sous agitation.

- Ajouter 100  $\mu\text{l}$  de  $\text{CaCl}_2$  agiter et ajouter 400  $\mu\text{l}$  de NaOH pour arrêter la réaction.

- Verser le contenu dans des tubes eppendorfs et Centrifuger pendant 5 mn à 10000 tours.

- Récupérer le surnageant et laisser passer au spectrophotomètre.

Le paranitrophénol libéré par l'activité de la phosphatase acide est mesuré au spectrophotomètre (spectronic 401) à la longueur d'onde de 400 nm. La lecture se fait contre un témoin blanc  $\text{H}_2\text{O}$ . Lire ensuite le témoin substrat, en changeant de cuve lire le témoin enzyme et les essais.

### **Annexe 3 : Extraction d'ADN**

L'extraction de l'ADN total du sol est réalisée sur un échantillon de sol broyé et séché.

Lyse physique : 0,5g de sol est mis en présence de billes de zirconium stériles (0,1 mm) et 1 ml de tampon de lyse (NaCl 0,25 M et EDTA 0,1 M, pH8) filtré et stérilisé. On alterne 2 fois 2 minutes de lyse physique à l'aide de l'agitateur beadbeater (25 tours/sec) et 2 minutes d'incubation au bain-marie à 65°C. L'échantillon est ensuite centrifugé 15 min à 13000 g à 4°C et l'on récupère le surnageant.

Précipitation: L'ADN est précipité avec l'acétate de potassium 5 M (75 µl) auquel on ajoute 250 µl de PEG 8000 à 40%, qui permet d'alourdir l'ADN (les volumes indiqués sont pour 600 µl de surnageant), pendant au moins 1 h à -20°C. L'échantillon est ensuite centrifugé 15 minutes à 4°C à 13000 g.

Purification CTAB: On jette le surnageant et l'on ajoute au culot 600 µl de CTAB 2% (1,4 M NaCl ; 0,1 M EDTA; 2% CTAB). On laisse incuber à 65°C en mélangeant toutes les deux (2) minutes jusqu'à ce que le culot soit entièrement dissout. Le CTAB fait précipiter les polysaccharides.

Extraction: On ajoute 600 µl de chloroforme, après agitation du mélange, on sépare les phases par centrifugation à 13 000g pendant 10 minutes et à température ambiante. Ainsi on distingue une phase aqueuse surnageante contenant les acides nucléiques en solution, une phase organique au fond du tube et à l'interface un "gateau" de protéines précipitées. On recueille la phase aqueuse.

Précipitation: L'ADN est précipité par 600 µl d'isopropanol : on mélange et on laisse incuber 15 min à -20°C. L'échantillon est ensuite centrifugé 15 min à 13 000g.

Pré-purification: On jette le surnageant, le culot est remis en suspension par 450 µl d'acétate d'ammonium (2,5M), et on ajoute 1 ml d'éthanol absolue. On laisse précipiter à 15 min à -20°C puis on centrifuge (15 min à 13 000g).

Lavage: On ajoute 0,5 ml d'éthanol 70°C et l'on centrifuge à nouveau à 13 000g pendant 5 min. On jette le surnageant et on évapore le culot sous vide.

Récupération de l'ADN: L'ADN extrait est resuspendu dans un volume variant entre 10 et 50 µl de tampon TE 1X suivant la taille du culot d'ADN. L'ADN est enfin conservé à -20°C avant toute utilisation

#### ***Quantification de l'ADN.***

Il s'agit de connaître la concentration en ADN dans chaque échantillon, afin de déterminer la même quantité à apporter pour l'amplification par PCR.

Sur un gel d'agarose 2% on fait migrer 5 µl d'échantillon mélangés avec 3 µl de bleu de charge ainsi 10 µl de chacun des gammes-étalons. Les gammes-étalons sont des ADN dont les concentrations sont connues:

G1 : 6,25 ng d'ADN dans 10 µl

G2 : 12,5 ng d'ADN dans 10 µl

G3 : 25 ng d'ADN dans 10 µl

G4 : 50 ng d'ADN dans 10 µl

G5 : 100 ng d'ADN dans 10 µl

G6 : 200 ng d'ADN dans 10 µl

Après coloration au bromure d'éthidium (BET 1µg/ml), la concentration en ADN de nos extraits est ensuite déterminée grâce au logiciel Molecular Analyse.

## Préparation des solutions d'extraction d'ADN

### **Tampon de lyse:** 0.25M NaCl ; 0.1 M EDTA ; pH 8

Peser 1.461 g de NaCl (MM= 58.44) et ajouter 20 ml d'EDTA à pH 8 (ou peser 3.722g d'EDTA et ajuster le pH à 8).

### **CTAB 2%** Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide; 1.4M NaCl; 0.1 M EDTA ; 2% CTAB

Peser 8.18g de NaCl et 3.722 g d'EDTA, faire dissoudre dans de l'eau distillée.

Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée. Filtrer à 0,2 µm. Ajouter 2g de CTAB. Autoclaver  
Conserver à la température ambiante.

### **PEG 8000 à 40%**

Peser 10 g de PEG (PolyEthylene Glycol). Ajouter environ 10 ml d'eau progressivement car le volume augmente quand le CTAB se dissout. Compléter à 25 ml. Conserver à 4°C.

### **Acétate de potassium 5M :**

Peser 49.07g de KAc (MM=98.14); faire dissoudre dans de l'eau distillée. Compléter à 100 ml. Filtrer à 0,2 µm. Conserver à 4°C.

### **Acétate d'ammonium 2,5M :**

Peser 19.27g de NH<sub>4</sub> Ac (MM=77.08), faire dissoudre dans de l'eau distillée. Compléter à 100 ml. Filtrer à 0.2 µm. Conserver à 4°C.

### **TE (Tris-EDTA) 1X :**

Tris-HCl 10 M

EDTA 1 mM

Ajuster le pH à 8,5

EDTA : Ethylene Diamine Tetra Acétique acide

## Autres solutions

### **Bleu de charge 10 X**

Bleu de bromophénol	0,25% (p/v)
Glycérol	30%
EDTA	10 mM
H <sub>2</sub> O	qsp
A utiliser au 1/10 <sup>ème</sup>	

### **Tampon TBE (Tris-borate) 10X**

Tris-base	121 g
Na <sub>2</sub> EDTA, H <sub>2</sub> O	18,51 g
Acide borique	55g
H <sub>2</sub> O	qsp 1 litre
Filter, stériliser à l'autoclave	

**BET (Bromure d'éthidium):** Solution à 1 mg.l<sup>-1</sup>

### **Composition de la Taq ready-to-go pour un volume final de 25 µl**

Taq DNA polymérase	2,5U
DNTP	200 µM
Tris-HCl	10 mM, pH 9
KCl	50 mM
MgCl <sub>2</sub>	1.5 mM
BSA	

**Tampon TAE 50X**

Tris-base	242.2g
Na <sub>2</sub> EDTA (pH8)	18.51g
Acide acétique glacial	57.1 ml
H <sub>2</sub> O	qsp 1 litre

**Solutions pour gel 8% d'acrylamide/Bis-acrylamide 40%**

Réactifs	Dénaturants	
Dradients	45%	70%
acrylamide/bis 40%	20 ml	20 ml
TAE 50 X (ml)	2 ml	2 ml
Formamide (ml)	18 ml	18 ml
Urée (g)	18,9 g	29,4 g
Glycérol	2%	2 %
Qsp H <sub>2</sub> O	100 ml	

## Résumé

Dans le cadre de la lutte contre l'érosion et la dégradation des sols, différents modes de gestion du sol (semis direct sur couverture végétale permanente (SCV), labour et jachère) sont expérimentés sur les hautes terres malgaches. Sur le site de Bemasoandro, les modes de gestion des sols concernent le labour conventionnel dans une rotation de culture riz (*Oryza sativa* L) - soja (*Glycine max* L), le semis direct sur résidus de culture dans une rotation riz-soja et la jachère naturelle à *Aristida rufescens* (Stend). A Andranomanelatra, les modes de gestion des sols portent sur le labour conventionnel dans une rotation de culture maïs (*Zea mays* L)-soja (*Glycine max*), le semis direct sur résidus de récolte dans une rotation de culture maïs-soja, le semis direct sur une couverture vive de Kikuyu (*Pennisetum clandestinum* Hochst. Ex chiov) dans une rotation de culture haricot (*Phaseolus vulgaris* L)-soja (*Glycine max* L), le semis direct sur une couverture vive de *Desmodium uncinatum* (Jacq) dans la rotation maïs-maïs et la jachère naturelle (J) à *Aristida rufescens* (Stend). Les effets de ces modes de gestion sur les propriétés chimiques des sols, l'activité enzymatique et la structure génétique des communautés bactériennes sont déterminés dans les habitats microbiens 2-50  $\mu\text{m}$  et  $> 2000 \mu\text{m}$ . Les résultats révèlent que les teneurs en C et N totaux ainsi que les activités  $\beta$ -glucosidase et phosphatase acide sont significativement plus élevées dans les sols sous semis direct (SD) et jachère que dans les sols labourés (LB). Par contre, aucune différence significative n'est observée entre les modes de gestion de semis direct sur couvertures vives de Kikuyu (SDK) et de *Desmodium uncinatum* (SDD). L'analyse de la structure génétique des communautés bactériennes totales par PCR-DGGE montre une forte réduction des communautés bactériennes dans les 2 habitats microbiens (2-50  $\mu\text{m}$  et  $>2000 \mu\text{m}$ ) des sols labourés contrairement aux sols de jachère et de semis direct (SD, SDD et SDK). La diversité en terme de nombre de bandes DGGE est plus abondante dans le micro-agrégats 2-50  $\mu\text{m}$  par rapport au macro-agrégat  $> 2000 \mu\text{m}$ . Des différences significatives sont observées dans la structure génétique des communautés bactériennes des deux types de couvertures vives dues aux différences de compositions des exsudats racinaires et des matières organiques du sol. Cette étude montre que les semis directs (SCV) constituent un moyen efficace de lutte contre la dégradation des sols mais également une alternative de régénération et de maintien de la fertilité des sols.

**Mots clés :** Mode de gestion des sols, habitats microbiens 2-50  $\mu\text{m}$  et  $>2000 \mu\text{m}$ , semis direct sur couverture végétale (SCV), activité enzymatique, structure génétique des communautés bactériennes, PCR-DGGE.