



**HAL**  
open science

**Mesure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés.  
III.-Approche cinétique et estimation simplifiée de l'azote  
facilement minéralisable.**

Bernard Nicolardot, Rémi Chaussod

► **To cite this version:**

Bernard Nicolardot, Rémi Chaussod. Mesure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés. III.-Approche cinétique et estimation simplifiée de l'azote facilement minéralisable.. *Revue d'Ecologie et de Biologie du Sol*, 1986, 23 (3), pp.233-247. <hal-01863957>

**HAL Id: hal-01863957**

**<https://institut-agro-dijon.hal.science/hal-01863957v1>**

Submitted on 29 Aug 2018

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

## Mesure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés

### III. — Approche cinétique et estimation simplifiée de l'azote facilement minéralisable

PAR

B. NICOLARDOT et R. CHAUSSOD

*I.N.R.A. Laboratoire de Microbiologie des Sols - B.P. 1540 - 17, rue Sully  
21034 Dijon Cedex - France*

**Synopsis:** In five different soils, the mineralization rate coefficients are roughly the same for the « easily mineralizable » Carbon and Nitrogen compartments. The kinetic approach proposed for C-biomass measurements is therefore relevant also for N-biomass.

**Keywords:** Soil microbial biomass - C-biomass - N-biomass - kinetic - analysis - methodology.

#### INTRODUCTION

La biomasse microbienne représente en moyenne 1 à 4 % du carbone organique du sol et 2 à 6 % de l'azote total (WEBLEY et JONES, 1971 ; ANDERSON et DOMSCH, 1980 ; ADAMS et LAUGHLIN, 1981). Ce compartiment dont la taille peut varier au cours du temps est susceptible de libérer des éléments nutritifs utilisables par les plantes, notamment de l'azote minéral (Mc GILL *et al.*, 1975 ; AMBROZOVA, 1976 ; SPARLING *et al.*, 1983 ; LETHBRIDGE et DAVIDSON, 1983 ; MARUMOTO *et al.*, 1982 ; MARUMOTO, 1984). Point de passage obligatoire pour l'azote lors des processus de minéralisation — réorganisation, la biomasse microbienne est donc un élément intéressant qui peut être pris en compte lors des études faisant intervenir une modélisation des cycles du carbone et de l'azote dans les sols.

Reçu le 5-12-85.

Accepté le 20-3-86.

La technique de fumigation des sols au chloroforme proposée par JENKINSON et POWLSON (1976) a été largement utilisée pour accéder au carbone de la biomasse microbienne : le carbone provenant de la décomposition des corps microbiens tués par le chloroforme et qui est minéralisé sous forme de gaz carbonique ( $F_c$ ) est proportionnel, à un coefficient  $K_c$  près, au carbone de la biomasse présent avant le traitement ( $C\text{-biomasse} = F_c/K_c$ ).

De façon analogue, JENKINSON et LADD (1981) montrent que l'accès à l'azote microbien (N-biomasse) peut être obtenu d'après le « flush » de minéralisation d'azote qui suit le traitement au chloroforme, en estimant l'azote des corps microbiens qui a été minéralisé au cours de l'incubation ( $F_N$ ), l'azote de la biomasse étant ensuite connu à un coefficient  $K_N$  près ( $N\text{-biomasse} = F_N/K_N$ ).

Si la mesure du  $C\text{-CO}_2$  dégagé pendant l'incubation d'un sol paraît relativement aisée, à l'inverse l'azote minéral produit dans ce sol continue d'intervenir dans les processus de transformation de l'azote et est donc susceptible d'être réorganisé. C'est également le cas dans les sols traités au chloroforme (VORONEY et PAUL, 1984 ; SHEN *et al.*, 1984). Par ailleurs, la détermination du coefficient de proportionnalité  $K_N$  est relativement délicate (VORONEY et PAUL, 1984 ; MARUMOTO *et al.*, 1982, 1984 ; NICOLARDOT *et al.*, 1986).

Malgré ces problèmes méthodologiques de nombreux auteurs ont tenté d'estimer l'azote de la biomasse microbienne à partir des quantités d'azote minéral total ou d'ammonium libérées après fumigation (AYANABA *et al.*, 1976 ; AMATO et LADD, 1980 ; MARUMOTO *et al.*, 1982 ; ROSS *et al.*, 1980 ; LADD *et al.*, 1981).

En règle générale, les incubations sont effectuées à 25° C pendant 20 jours, la quantité  $F_N$  étant calculée par différence entre les quantités d'azote produites dans le traitement fumigé durant les premiers jours ( $F_{0-10}$ ) et celles libérées dans le sol non traité entre 10 et 20 jours ( $T_{10-20}$ ). Ce mode de calcul permettrait ainsi de s'affranchir des quantités d'azote minéral provenant de la minéralisation de la matière organique non microbienne du sol. Néanmoins, VORONEY et PAUL (1984) montrent que la valeur de N-biomasse est dépendante de la correction effectuée.

La détermination précise de la fraction minéralisable de l'azote ( $F_N$ ) constitue donc un préalable à l'utilisation de la technique de fumigation chloroforme pour estimer l'azote de la biomasse microbienne.

Lors d'études précédentes (CHAUSSOD et NICOLARDOT, 1982 ; CHAUSSOD *et al.*, 1986), nous avons montré que la minéralisation du carbone dans les sols fumigés peut être interprétée comme étant la résultante de la décomposition de deux compartiments dont l'un, le plus rapidement décomposé, est assimilé à la fraction minéralisable de la biomasse microbienne.

Cette même approche peut être utilisée pour l'azote. Elle présenterait l'avantage de permettre l'accès relativement précis à la quantité  $F_N$  et à sa vitesse de minéralisation ; cela rendrait également possible la comparaison entre les cinétiques de minéralisation du carbone et de l'azote.

Au cours de ce présent travail, nous avons donc recherché à analyser comparativement les cinétiques de minéralisation de l'azote et du carbone dans les sols fumigés ou non dans le but de :

- déterminer précisément la fraction minéralisable de l'azote de la biomasse microbienne ( $F_N$ ),
- proposer un mode de calcul simple pour  $F_N$ , utilisable lors des mesures de biomasse en routine.

## I. — MATÉRIELS ET MÉTHODES

### A) Les sols.

Les 5 sols étudiés constituent un échantillonnage des types de sols rencontrés dans la région de Bourgogne (CHRÉTIEN, 1976). Ces sols prélevés en sortie d'hiver dans l'horizon de surface (0-15 cm) ont été tamisés à 4,5 mm et stockés à l'état frais à 8° C. Le tableau I donne leurs principales caractéristiques physico-chimiques.

TAB. I

Caractéristiques physiques et chimiques des sols étudiés

N°	Sols Appellation <sup>a</sup>	Granulométrie % <sup>b</sup>					C %	N %	C/N	pH eau	CaCO <sub>3</sub> %	Humidité équiva- lente à 1 000 g en %
		Ar- gile	Limons fins	Limons grossiers	Sables fins	Sables grossiers						
1	Sol superficiel hu- mifère calcaire	40,9	41,4	4,7	6,0	7,0	47,3	5,7	8,3	7,9	30,5	36,9
2	Sol sableux sur arène granitique	14,7	10,5	1,1	13,6	60,1	15,6	1,63	9,6	5,3	0	14,2
3	Sol brun calcaïque	35,7	31,2	18,7	12,2	2,2	11,5	1,38	8,3	7,4	1,5	25,8
5	Sol brun calcaire superficiel	51,6	25,0	16,8	4,8	1,8	21,7	2,49	8,7	7,5	4	27,4
7	Sol sableux à hy- dromorphie de nappe	10,4	8,4	2,6	16,9	61,7	9,1	0,84	10,8	7,3	0	10,2

a) In CHRÉTIEN (1976).

b) % et ‰ de terre sèche.

### B) Traitements.

Les expérimentations menées sur ces sols frais ont mis en œuvre des échantillons équivalents à 40 g de sol sec, à raison de 4 répétitions par traitement. Pour chaque sol 2 séries de traitements ont été mis en place :

- le sol non traité au chloroforme (sol témoin),
- le sol traité au chloroforme (sol fumigé) selon le protocole décrit antérieurement (CHAUSSOD et NICOLARDOT, 1982).

### C) Incubations - prélèvements.

Les échantillons de sol ont été mis à incuber dans des flacons à plasma de 575 ml. Leur humidité a été ajustée entre 80 et 120 % de l'humidité équivalente suivant le type de sol. Ces valeurs se situent dans les zones d'humidité qui correspondent aux activités optimales de minéralisation du carbone et de l'azote de chacun de ces sols (NICOLARDOT, 1983).

Les fioles ont été incubées à l'obscurité et à 28° C ( $\pm 0,5^\circ$  C). Le piégeage du CO<sub>2</sub> a été assuré par 10 ml de soude 0,25 N, les pièges étant renouvelés régulièrement.

Pour chaque date de prélèvement, l'azote minéral a été extrait par KCl N (rapport sol/solution = 1/5 ; agitation 1 heure à 20° C). Après décantation des solutions, une aliquote du surnageant a été filtrée sur filtre WHATMAN n° 40 et stockée à -20° C avant analyse.

Les extractions d'azote minéral ont été effectuées après 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 14, 21 et 28 jours d'incubation pour les sols fumigés et seulement après 0, 3, 7, 14 et 28 jours pour les sols témoins non traités.

### D) Analyses chimiques.

Le dosage du CO<sub>2</sub> piégé par la soude a été effectué par colorimétrie en flux continu (Technicon) dont le principe a été décrit antérieurement (NICOLARDOT *et al.*, 1984).

— Les nitrates contenus dans les extraits KCl ont été dosés par colorimétrie en flux continu avec la méthode de GRIESS-ILOSVAY selon une technique voisine de celle décrite par DORICH et NELSON (1984).

— L'ammonium a été mesuré également par colorimétrie en flux continu selon le principe de BERTHELOT à l'aide d'une adaptation de la technique proposée par CROOKE et SIMPSON (1971). Le choix de cette technique et en particulier des réactifs (nitroprussiate, dichloroisocyanurate et salicylate de sodium) a eu pour résultat de limiter les interférences dues à la présence de carbone organique soluble dans les extraits KCl, carbone libéré par le traitement au chloroforme des sols (NICOLARDOT, données non publiées).

### E) Analyse des cinétiques.

L'analyse des cinétiques de minéralisation a été effectuée avec les modèles mathématiques décrits précédemment (CHAUSSOD et NICOLARDOT, 1982).

Il s'agit du modèle 1 (régression asymptotique) où les décompositions du comparant microbien et non microbien du sol sont assimilées à des cinétiques de minéralisation d'ordre 1 et 0 :

$$y = b(1 - e^{-k_b t}) + ct$$

où y est la quantité de C-CO<sub>2</sub> ou d'azote minéral produit à l'instant t, b la fraction minéralisable du carbone (F<sub>C</sub>) ou de l'azote (F<sub>N</sub>) microbien, k<sub>b</sub> sa vitesse de minéralisation et c la constante de vitesse de minéralisation du compartiment non microbien.

Quant au modèle 2 (double exponentielle) où les compartiments facilement minéralisables microbien et non microbien se décomposent selon des cinétiques de minéralisation d'ordre 1 :

$$y = a(1 - e^{-k_a t}) + b(1 - e^{-k_b t})$$

il avait été abandonné à la suite des études sur le carbone (CHAUSSOD et NICOLARDOT, 1982). En ce qui concerne l'azote, il n'améliore pas en réalité le coefficient de détermination (r<sup>2</sup>) et apporte peu d'informations supplémentaires sur les paramètres b et k<sub>b</sub>. D'un autre côté, la précision sur les paramètres a et k<sub>a</sub>, respectivement fraction minéralisable non microbienne et sa vitesse de minéralisation, étant très mauvaise nous avons été également conduits à l'écartier de la présentation des résultats de cette étude.

Les calculs mathématiques ont été effectués à l'aide de programmes d'ajustement non linéaire (BACHACOU *et al.*, 1981) sur un ordinateur mini 6 CII-Honeywell Bull. Le programme utilisé (UWHAUS) est basé sur un ajustement transversal. Il considère les valeurs expérimentales mesurées à chaque date comme indépendantes; ceci paraît tout à fait justifié dans le cas de l'azote où les mesures expérimentales à chaque date sont effectuées à partir du sacrifice de fioles d'incubation différentes.

## II. — RÉSULTATS

### A) Minéralisation de l'azote.

#### 1. Teneurs des sols en azote ammoniacal et nitrique.

L'évolution des niveaux d'azote ammoniacal et nitrique des sols traités ou non au chloroforme, qui est présentée dans le tableau II, permet de dégager plusieurs points importants :

— Après traitement au chloroforme, la nitrification semble totalement inhibée, aucune augmentation du stock d'azote nitrique n'étant observée dans les sols fumigés, alors que dans les sols non traités l'azote minéralisé est nitrifié en quasi totalité.

— Dans ces mêmes sols fumigés, on observe parfois une baisse des teneurs en nitrates au cours des trois premiers jours d'incubation, diminution qui peut dans certains cas représenter jusqu'à 15 % de la teneur initiale (sol 7).

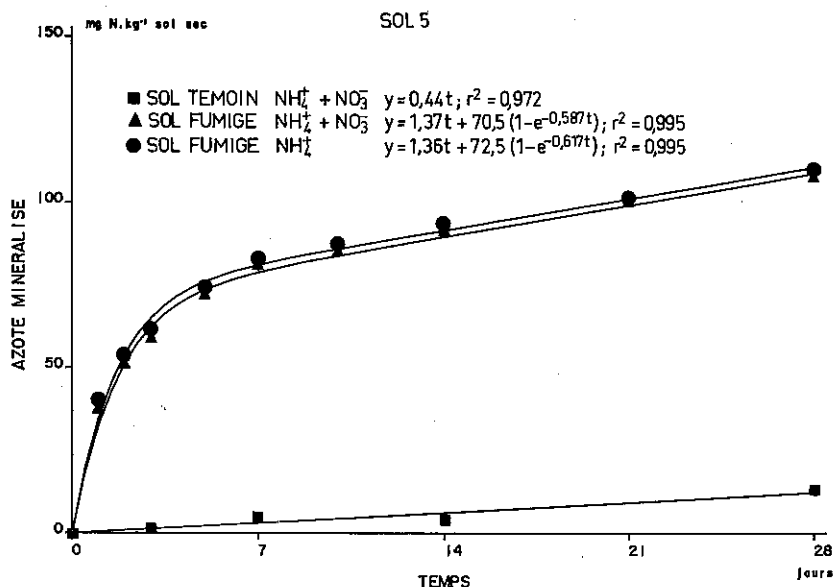


FIG. 1. — Minéralisation de l'azote dans le sol 5.

(Symboles = points expérimentaux ;

Courbes = ajustements aux valeurs expérimentales).

TAB. II

Évolution des teneurs en azote ammoniacal et nitrique dans les sols avec ou sans traitement au chloroforme

Sols	Traitements	Teneur en mg N.kg <sup>-1</sup> sol sec	0 <sup>a</sup>	0 <sup>b</sup>	1	2	3	5	7	10	14	21	28
1	fumigé	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1,0	4,8	40,2	57,7	60,5	70,0	75,5	87,6	92,0	101,2	110,6
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	32,5	31,2	28,1	28,2	28,9	29,0	28,9	29,5	28,0	28,9	27,8
1	témoin	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1,0	—	—	—	1,0	—	0	—	0,5	—	1,7
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	32,5	—	—	—	35,9	—	38,8	—	43,0	—	51,7
2	fumigé	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1,5	3,4	10,7	14,0	17,1	20,8	23,8	24,2	28,3	33,3	38,1
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	16,3	15,9	15,7	15,8	16,1	15,8	15,8	15,5	16,0	15,7	15,6
2	témoin	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1,5	—	—	—	2,2	—	1,8	—	1,6	—	1,4
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	16,3	—	—	—	18,6	—	20,7	—	24,0	—	31,2
3	fumigé	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0	2,9	16,3	27,8	26,9	32,9	35,3	39,1	40,8	46,3	50,0
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7,7	7,7	7,3	7,3	6,9	7,1	7,6	7,3	7,2	7,2	7,6
3	témoin	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0	—	—	—	0	—	1,4	—	0	—	0
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7,7	—	—	—	8,0	—	10,2	—	11,0	—	15,0
5	fumigé	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,4	9,6	40,1	53,5	61,5	74,5	83,3	87,8	93,5	101,8	101,1
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	16,0	15,0	13,6	13,8	13,6	13,7	13,9	13,4	13,9	14,6	13,9
5	témoin	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,4	—	—	—	0,1	—	1,1	—	0	—	0,4
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	16,0	—	—	—	17,6	—	19,6	—	20,6	—	28,9
7	fumigé	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2,3	4,0	9,3	11,2	13,0	15,2	15,9	17,4	18,2	19,2	21,6
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	12,7	12,7	12,6	12,4	11,2	12,7	10,7	11,7	11,1	11,2	11,0
7	témoin	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2,3	—	—	—	1,6	—	2,7	—	2,6	—	1,9
		N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	12,7	—	—	—	13,2	—	12,7	—	16,4	—	21,4

a) Teneurs mesurées avant traitement du sol au chloroforme.

b) Teneurs mesurées juste après traitement du sol au chloroforme.

— Pas de mesure.

— La fumigation au chloroforme entraîne une production importante d'ammonium (« flush » de minéralisation) au cours de l'incubation, les quantités minéralisées étant dans tous les cas supérieures à celles libérées dans les sols non traités. Cette minéralisation supplémentaire après traitement au chloroforme, illustrée par la figure 1 pour le sol 5, provient par hypothèse de la décomposition de la fraction minéralisable des corps microbiens tués par le chloroforme.

— La mesure des teneurs en ammonium des sols avant et après fumigation met en évidence une évolution du sol entre ces deux prélèvements. De

même, il a été parfois possible d'enregistrer une augmentation minime de ces teneurs avant et après les rinçages du sol (alternances vide/pression atmosphérique) qui suivent ce traitement. La durée de fumigation intervient également sur la teneur en ammonium du sol après fumigation. En effet, cette teneur augmente avec la durée de fumigation et, dans certains cas, 10 mg  $\text{N-NH}_4^+ \cdot \text{kg}^{-1}$  sol sec peuvent être libérés après 24 heures de traitement au chloroforme.

## 2. Cinétiques de minéralisation.

L'analyse des cinétiques de minéralisation de l'azote dans les sols après traitement au chloroforme a porté sur la différence entre les teneurs d'azote minéral mesurées aux dates des prélèvements ( $t$ ) et celles du départ de l'incubation ( $t = 0$ ). Pour cette date  $t = 0$  n'ont été prises en considération que les teneurs mesurées avant fumigation. D'un autre côté, le calcul a été effectué à partir des données résultant soit de la somme ( $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$ ), soit des teneurs en ammonium exclusivement.

Les coefficients d'ajustement obtenus avec le modèle 1 sont très bons (Tab. III) quel que soit le mode de calcul envisagé ( $r^2 > 0,98$ ); ces ajuste-

TAB. III

Valeurs des paramètres cinétiques de la minéralisation de l'azote dans les sols fumigés obtenues avec le modèle 1

Mode de calcul <sup>a</sup>	Azote ammoniacal : $\text{NH}_4^+$				Azote minéral total : $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$			
	Sols	$r^2$ b	b (mg N.kg <sup>-1</sup> )	$k_b$ (j <sup>-1</sup> )	c (mg N.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )	$r^2$	b (mg N.kg <sup>-1</sup> )	$k_b$ (j <sup>-1</sup> )
1	0,992	64,4 (2,8) <sup>c</sup>	0,810 (0,110)	1,69 (0,17)	0,992	62,2 (2,9)	0,708 (0,09)	1,60 (0,17)
2	0,997	16,4 (0,7)	0,620 (0,07)	0,72 (0,004)	0,996	16,0 (0,7)	0,598 (0,07)	0,71 (0,04)
3	0,997	30,9 (0,9)	0,656 (0,06)	0,71 (0,05)	0,996	30,4 (1,0)	0,642 (0,006)	0,71 (0,06)
5	0,995	72,5 (2,7)	0,617 (0,06)	1,36 (0,15)	0,995	70,5 (2,7)	0,587 (0,06)	1,37 (0,15)
7	0,993	12,0 (0,5)	0,670 (0,07)	0,25 (0,03)	0,984	10,0 (0,6)	0,881 (0,170)	0,27 (0,04)

- a) Les valeurs de minéralisation prises en considération correspondent aux teneurs  $\text{N-NH}_4^+$  ou ( $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$ ) au temps  $t$  diminuées des teneurs correspondantes avant traitement au chloroforme (tabl. II).
- b) Rappel :  $r^2$ , coefficient de détermination ; c, vitesse de minéralisation du compartiment non microbien ; b et  $k_b$  respectivement fraction minéralisable du compartiment microbien et son coefficient de vitesse de minéralisation.
- c) Écart-type.

ments sont illustrés pour le sol 5 par les courbes de la figure 1. Par ailleurs, la prise en compte des teneurs en nitrates dans le calcul semble avoir peu d'influence sur la valeur des paramètres sauf dans le cas du sol sableux 7. Tout au plus, ce mode de calcul aurait tendance à diminuer les valeurs de  $k_b$  et  $b$ .

La valeur du paramètre  $b$  (fraction minéralisable de l'azote organique microbien) est comprise entre 12 et 65 mg N.kg<sup>-1</sup> sol sec pour les 5 sols étudiés, les coefficients de variation des estimateurs de ces paramètres étant toujours inférieurs à 5 %.

Les constantes de vitesse  $k_b$  sont quant à elles comprises entre 0,6 et 0,8 j<sup>-1</sup>. Ainsi, 98 à 100 % de l'azote du compartiment  $b$  est minéralisé durant les 7 premiers jours d'incubation.

Enfin, la vitesse de minéralisation du compartiment azote organique non microbien (paramètre  $c$ ) varie entre 0,25 et 1,7 mg N. j<sup>-1</sup> avec des coefficients de variation de l'estimateur de ce paramètre inférieurs à 10 %.

### B) Minéralisation du carbone.

Les valeurs des paramètres cinétiques obtenues par traitement mathématique des données expérimentales des valeurs cumulées de dégagement de gaz carbonique sont présentées dans le tableau IV. Pour ce modèle 1, les coefficients d'ajustement sont très bons ( $r^2 > 0,99$ ). Les valeurs du compartiment minéralisable de la biomasse microbienne (paramètre  $b$ ) sont comprises entre 50 et 320 mg C.kg<sup>-1</sup> sol sec, avec des coefficients de variation dans la plupart des cas inférieurs à 5 %. Les chiffres les plus faibles sont rencontrés pour les sols à texture légère (sol 2 et 7) alors que les sols argileux (1, 5) présentent des valeurs élevées.

TAB. IV

Valeurs des paramètres cinétiques de la minéralisation du carbone dans les sols fumigés obtenues avec le modèle 1

Valeurs entre parenthèses : écart-type associé

Symboles : voir tableau III

Sols	$r^2$	$b$ (mg C.kg <sup>-1</sup> )	$k_b$ (j <sup>-1</sup> )	$c$ (mg C.kg <sup>-1</sup> .j <sup>-1</sup> )
1	0,997	316,5 (11,9)	0,806 (0,09)	16,05 (0,71)
2	0,999	84,7 (5,3)	0,418 (0,06)	7,74 (0,24)
3	0,995	168,3 (8,0)	0,735 (0,10)	8,04 (0,47)
5	0,995	317,9 (13,3)	0,764 (0,10)	11,18 (0,78)
7	0,991	52,5 (5,8)	0,818 (0,28)	5,44 (0,35)

Les constantes de vitesse de minéralisation de ce compartiment (paramètre  $k_b$ ) semblent liées à l'acidité du sol : voisines de 0,7 à 0,8  $j^{-1}$  pour les sols neutres ou légèrement alcalins (1, 3, 5 et 7), les valeurs sont réduites à 0,4  $j^{-1}$  pour le sol acide 3. Dans le premier cas, 99 % du compartiment b est minéralisé en 7 jours d'incubation, alors qu'il est nécessaire d'attendre 10-14 jours pour obtenir une minéralisation comparable dans le sol acide. Ces vitesses de minéralisation sont du même ordre de grandeur que celles obtenues lors de la minéralisation de l'azote microbien.

Enfin, les vitesses de minéralisation du compartiment non microbien (paramètre c) sont comprises entre 5 et 16  $mg C.j^{-1}$  avec un coefficient de variation de l'estimateur de ce paramètre toujours inférieur à 10 %. Leurs valeurs sont ici en moyenne 10 fois supérieures à celles correspondant au compartiment azote organique non microbien.

### III. — DISCUSSION

L'analyse cinétique de la minéralisation du carbone et de l'azote dans les sols fumigés de cette étude confirment les résultats obtenus antérieurement pour le carbone (CHAUSSOD et NICOLARDOT, 1982, 1986).

Seul le modèle 1 permet de prendre en compte avec le maximum de précision les paramètres cinétiques de la minéralisation des deux compartiments que constituent les fractions minéralisables de l'azote et du carbone microbien (paramètres b et  $k_b$ ) et de l'azote et du carbone de la matière organique non vivante (paramètre c). En réalité, une durée d'incubation de 28 jours autorise seulement l'assimilation de la décomposition du compartiment non vivant à une réaction d'ordre zéro.

En ce qui concerne les résultats obtenus par traitement mathématique des données carbone avec le modèle 1, on peut constater que le paramètre b ou fraction minéralisable du carbone microbien représente 0,5 à 1 % du carbone organique total du sol. Par ailleurs, la corrélation entre le paramètre c (vitesse de minéralisation du carbone organique non microbien facilement minéralisable) et la teneur en carbone organique est à la limite de signification au seuil de 1 % ( $r = 0,957$ ).

Pour ce qui concerne l'azote, la problématique est plus complexe :

— Il s'agit tout d'abord de déterminer le point  $t = 0$ .

L'action biocide du chloroforme sur la microflore du sol semble très rapide. Elle se traduit par une libération d'azote organique soluble et d'azote minéral après seulement 2 heures de traitement (WILLIAMS et SPARLING, 1984). La durée de fumigation, mais également celle du cycle de rinçage nécessaire pour éliminer toute trace de chloroforme peut donc influencer sur le niveau d'azote minéral du sol après traitement, surtout dans le cas des sols riches en azote organique. Afin de s'affranchir de ces phénomènes, il paraît préférable de prendre comme valeur initiale du niveau d'azote minéral du sol, les teneurs mesurées juste avant fumigation.

— Un second point est constitué par la prise en compte ou non de la teneur en nitrates au niveau du calcul des paramètres cinétiques. Le traite-

ment au chloroforme entraînant un blocage de la nitrification (SCHLOESING et MUNTZ, 1877 ; KUDEYAROV et JENKINSON, 1976), les teneurs en nitrates du sol ne devraient donc pas intervenir sur la valeur de  $b$ . Toutefois, on constate souvent une baisse de cette teneur au cours des premiers jours d'incubation. Cette diminution pourrait être due soit à une immobilisation d'azote, phénomène constaté pour les formes ammoniacales de l'azote dans les sols fumigés (SHEN *et al.*, 1984) soit au contraire à une dénitrification favorisée par la présence du carbone soluble (BOURGUIGNON, communication personnelle). Si cette baisse est sans incidence sur la valeur de  $b$  pour des sols où ce paramètre est très élevé (sol 1, 5), elle peut par contre conduire à une sous-estimation importante de celui-ci dans le cas où sa valeur est faible (sol 7).

Le paramètre  $b$  calculé en prenant en compte ces deux observations peut être assimilé à un compartiment qui représente 1 à 3 % de l'azote total du sol, chiffres comparables aux résultats de différents auteurs (ROSS *et al.*, 1980 ; ADAMS et LAUGHLIN, 1981). D'un autre côté, la vitesse de minéralisation du compartiment non microbien  $c$  n'est pas corrélée avec la teneur en azote organique du sol.

Par ailleurs les paramètres  $b$  des cinétiques du carbone et de l'azote sont très fortement corrélés entre eux ( $r = 0,99$ ). Le rapport de ces deux grandeurs qui correspond en réalité au rapport Flush carbone/Flush azote ( $F_C/F_N$ ) est en effet compris dans une fourchette de valeurs très étroite (4,4 à 5,4) comme le montre le tableau V. Ces observations constatées à maintes reprises par différents auteurs (ADAMS et LAUGHLIN, 1981 ; AYANABA *et al.*, 1976 ; ROSS *et al.*, 1980) pourraient s'expliquer dans une large mesure par la minéralisation après fumigation de composés à C/N bas et facilement biodégradables tels que des composés cytoplasmiques (HAIDER *et al.*, 1975). Les constantes de vitesses de minéralisation  $k_i$  de ces compartiments carbone et azote sont en règle générale du même ordre de grandeur excepté pour le sol acide 2 où la minéralisation du carbone est significativement plus lente que celle de l'azote.

L'utilisation en routine d'un modèle mathématique pour accéder à la valeur  $b$  (ou  $F_N$ ) n'est pas envisageable compte tenu de la lourdeur expérimentale que constitue cette approche cinétique. Aussi, est-il nécessaire d'opter pour un système de calcul beaucoup plus simple. Le principe de base de la méthode de fumigation au chloroforme (JENKINSON et POWLSON, 1976) consiste à s'affranchir de la minéralisation de la matière organique non microbienne dans le traitement fumigé pendant l'intervalle de mesure considéré, en estimant celle-ci à l'aide d'un témoin.

Le tableau V présente différents modes de calcul possibles en estimant la minéralisation de l'azote organique non vivant dans le sol fumigé ou dans le sol non traité.

Dans le cas où seule la teneur en ammonium est utilisée, le témoin non fumigé ne peut servir à la correction, car l'azote qui se minéralise dans le témoin est totalement nitrifié. Seul le traitement fumigé sert donc à estimer  $F_N$  : dans la première phase de l'incubation, on accède à la somme des minéralisations des compartiments microbien et non microbien. Passé la phase de décomposition de la fraction azote microbien, on peut, sur une durée de temps équivalente, estimer la minéralisation de l'azote organique non vivant.

TAB. V

**Comparaison des résultats obtenus par modélisation  
aux résultats expérimentaux acquis selon différents modes de calcul**

Sols	1	2	3	5	7
<i>Calcul effectué avec <math>NH_4^+</math>:</i>					
$F_N$ (paramètre b).....	64,4	16,4	30,9	72,5	12,0
$(F_{0-7}-F_{7-14})$ .....	58,0	17,8	29,8	72,7	11,3
$(F_{0-14}-F_{14-28})$ .....	72,4	17,0	31,6	76,5	12,5
*C/N fraction facilement minéralisable.....	4,9	5,2	5,4	4,4	4,4
<i>Calcul effectué avec <math>NH_4^+ + NO_3^-</math>:</i>					
$F_N$ (paramètre b).....	62,2	16,0	30,4	70,5	10,0
$(F_{0-7}-T_{0-7})$ .....	65,6	17,1	31,3	76,5	11,8
$(F_{0-7}-T_{7-14})$ .....	66,2	18,7	35,8	80,9	7,8
$(F_{0-14}-T_{0-14})$ .....	76,5	18,7	38,0	86,8	10,3
$(F_{0-28}-T_{0-28})$ .....	85,4	21,1	42,6	94,7	9,3
$(F_{0-7}-F_{7-14})$ .....	55,3	17,1	30,1	70,7	8,9
$(F_{0-14}-F_{14-28})$ .....	68,1	17,1	30,7	74,2	11,0

\* Rapport des valeurs des paramètres b obtenues pour le carbone et pour l'azote (calcul avec  $NH_4^+$ ) qui est égal à  $F_C/F_N$ .

Les résultats calculés avec les 2 approches possibles ( $F_{0-7} - F_{7-14}$  ;  $F_{0-14} - F_{14-28}$ ) concordent relativement bien avec les valeurs obtenues par modélisation sauf pour le sol 1 où la différence entre valeur obtenue par modélisation et valeur calculée est de l'ordre de 10 %. Lorsque les teneurs en nitrates et ammonium sont prises en compte, et pour les résultats obtenus avec le seul traitement fumigé, l'écart maximum est également de 10 % (sols 1, 7).

En utilisant la correction avec le témoin non fumigé, on obtient des valeurs qui peuvent différer sensiblement selon les cas envisagés et ce d'autant plus que le pas de temps est grand ( $F_{0-14} - T_{0-14}$  ;  $F_{0-28} - T_{0-28}$ ). Dans ce cas, les valeurs trouvées sont surestimées par rapport à  $F_N$ , la correction par le témoin étant insuffisante. En effet, les valeurs des constantes de vitesse du compartiment non microbien obtenues dans les sols fumigés (paramètre c) sont, excepté pour le sol 7, toujours supérieures aux valeurs des constantes de vitesse de minéralisation de la matière organique des sols témoins correspondants, la minéralisation de l'azote dans ce dernier cas étant considérée comme une réaction d'ordre zéro ( $y = ct$ ). Les résultats de ces ajustements dans les sols témoins ne sont reproduits que pour le sol 5 (Fig. 1). Ces différences de pentes entre sols fumigés et non traités peuvent avoir pour origine l'activation de la minéralisation de la matière organique non microbienne dans les sols fumigés. Le compartiment non microbien que nous avons défini dans le modèle de minéralisation de l'azote des sols fumigés, pourrait inclure également une partie du compartiment microbien difficilement minéralisable

qui est constitué des restes de cadavres cellulaires non décomposés lors du flush de minéralisation et dont la minéralisation viendrait s'ajouter à celle de l'azote non vivant *sensu stricto*. Pour des pas de temps plus courts ( $F_{0.7} - T_{0.7}$ ;  $F_{0.7} - T_{7.14}$ ), les chiffres calculés sont relativement proches des valeurs  $F_N$  sauf dans certains cas (sol 7).

En définitive, pour l'azote, quel que soit le système de correction utilisé, les valeurs obtenues ne peuvent être que des valeurs approchées. Néanmoins, l'utilisation du témoin non fumigé est très discutable :

— Souvent, le témoin est perturbé pendant la première partie de l'incubation (JENKINSON et POWLSON, 1976), ces modifications étant dues à une minéralisation importante de la matière organique non vivante entraînée par les différentes opérations de traitement de l'échantillon de sol (POWLSON, 1975), ou à la présence d'une phase de latence qui peut être imputable à l'histoire récente du sol, ou encore à la minéralisation d'une partie de la biomasse microbienne du sol.

— Par ailleurs, la fumigation au chloroforme entraîne un changement quantitatif et qualitatif de la microflore qui se traduit probablement par une activité minéralisatrice du carbone ou de l'azote organique du sol différente dans les sols traités ou non fumigés comme cela a été vu précédemment (Fig. 1) ce qui justifie alors pleinement l'utilisation du seul traitement fumigé pour le calcul de  $F_N$ .

#### IV. — CONCLUSIONS

L'étude cinétique de la minéralisation de l'azote dans les sols fumigés au chloroforme permet de définir un compartiment facilement minéralisable de l'azote organique d'origine microbienne d'une façon analogue à la démarche que nous avons entreprise pour le carbone.

Cette approche cinétique repose sur l'hypothèse que le « flush » de minéralisation d'azote mesuré après traitement provient de la dégradation de deux compartiments dont l'un se minéralise selon une réaction d'ordre un et l'autre d'ordre zéro. Elle permet ainsi d'estimer de façon relativement précise la quantité  $F_N$  en s'affranchissant au maximum de différents facteurs tel que le type de sol par exemple.

Néanmoins, la lourdeur expérimentale de cette approche nous a conduit à proposer une méthode simplifiée de détermination de  $F_N$  qui puisse être utilisable en routine et applicable dans la majorité des cas, étant entendu que l'approche cinétique est beaucoup plus précise et nécessaire dans les cas limites.

Ainsi, le calcul  $F_N$  peut être réalisé de la façon suivante :

— seul le sol fumigé est utilisé pour l'estimation du flush de minéralisation et la correction ;

— le pas de temps nécessaire aux prélèvements peut être dans nos conditions expérimentales (28° C) de l'ordre de la semaine, ou de 14 jours ;

— seule, la détermination des teneurs en azote ammoniacal aux différentes dates de prélèvement est nécessaire.

Enfin, les teneurs en azote du point de départ de l'incubation ( $t = 0$ ), nécessaires aux calculs, doivent être déterminées juste avant fumigation. Dans un souci d'homogénéité avec nos études antérieures mais également de commodité expérimentale, la formule suivante peut être utilisée :

$$\text{N-biomasse} = \frac{F_{0.7} - F_{7.14}}{K_N}$$

$K_N$  représente le coefficient de minéralisation de la biomasse et ne peut être connu que par le suivi de la dégradation de micro-organismes marqués à l'azote 15 en milieu de culture ou *in situ*, ce que nous avons étudié par ailleurs (NICOLARDOT *et al.*, 1986).

#### RÉSUMÉ

Cinq sols cultivés ont été fumigés au chloroforme selon la technique proposée par JENKINSON et POWLSON pour mesurer la biomasse microbienne. Le  $\text{CO}_2$  dégagé et l'azote minéral produit ont été mesurés au cours d'une incubation de 28 jours à 28° C. L'azote minéralisé est supposé provenir de la fraction minéralisable de l'azote microbien et de la fraction minéralisable de l'azote organique non vivant qui se décomposent respectivement selon des cinétiques de réaction d'ordre 1 et 0. La confrontation des données expérimentales à un modèle mathématique  $y = b(1 - e^{-kbt}) + ct$  a permis d'estimer les différents paramètres : Le paramètre  $b$  (fraction minéralisable de la biomasse microbienne) est compris entre 12 et 65  $\text{mg.N.kg}^{-1}$  sol dans le cas de l'azote et 50 à 320  $\text{mg C.kg}^{-1}$  sol pour le carbone. Les coefficients de vitesse de minéralisation ( $k_b$ ) de ces 2 fractions sont sensiblement voisins et compris entre 0,6 et 0,8  $\text{j}^{-1}$ . Les vitesses de minéralisation du compartiment organique non vivant ( $c$ ) sont pour l'azote de 0,25 à 1,7  $\text{mg N.kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$  et pour le carbone de 5 à 16  $\text{mg C.kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$ .

Ces résultats permettent de proposer une méthode simplifiée pour estimer la fraction minéralisable de l'azote microbien nécessaire au calcul de N-biomasse. Dans la plupart des cas, cette fraction peut être estimée en faisant la différence entre les quantités d'azote ammoniacal produites dans le traitement fumigé pendant les 7 premiers jours d'incubation et celles libérées entre 7 et 14 jours.

#### ABSTRACT

#### Measurement of microbial biomass in cultivated soils

##### III Kinetic approach and simplified estimation of easily mineralizable nitrogen

Five different cultivated soils were fumigated with chloroform according to the technique proposed by JENKINSON and POWLSON to measure microbial biomass.  $\text{CO}_2$  evolved and mineral nitrogen released were measured during a 28 days incubation at 28° C.

Mineralized nitrogen was supposed to come from the mineralizable microbial nitrogen fraction and the mineralizable « non living » organic nitrogen fraction assumed to decompose respectively according to 1 or 0 order kinetic reactions. The comparison of the experimental data with a mathematical model  $y = b(1 - e^{-kbt}) + ct$  allowed the estimation of the parameters: the parameter  $b$  (minera-

lizable microbial fraction) is contained between 12-65 mg N.kg<sup>-1</sup> soil for nitrogen and 50-320 mg C.kg<sup>-1</sup> soil for carbon. The mineralization rate constant ( $k_1$ ) of these two fractions are approximately the same and are contained between 0.6 and 0.8 days<sup>-1</sup>. The mineralization rate of the « non living » organic compartment are for nitrogen 0.25 — 1.7 mg N.kg<sup>-1</sup> .day<sup>-1</sup> and 5-16 mg C.kg<sup>-1</sup> .day<sup>-1</sup> for carbon.

These results allowed to propose a simplified method for the estimation of the mineralizable microbial nitrogen fraction which is necessary for the N-biomass calculation.

In the most cases, this fraction can be estimated by the difference between N-NH<sub>4</sub> mineralized in the fumigated sample during the 0-7 day period minus the amount evolved during the 7-14 day period.

#### REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier M<sup>me</sup> M. C. BREUIL pour son aide technique particulièrement efficace.

#### BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS (T. Mc. M.) & LAUGHLIN (R. J.), 1981. — The effects of agronomy on the carbon and nitrogen contained in the soil biomass. *J. Agric. Sci. Camb.*, **97**: 319-327.
- AMATO (M.) & LADD (J. N.), 1980. — Studies on nitrogen immobilization and mineralization in calcareous soils: V formation and distribution of isotope-labelled biomass during decomposition of <sup>14</sup>C- and <sup>15</sup>N-labelled plant material. *Soil Biol. Biochem.*, **12**: 405-411.
- AMBROZOVA (M.), 1979. — Microbial plasma as a potential source of plant nutrition. *Rostlinna Vyroba*, **25**: 333-342.
- ANDERSON (J. P. E.) & DOMSCH (K. H.), 1980. — Quantities of plant nutrients in the microbial biomass of selected soils. *Soil Sci.*, **130**: 211-216.
- AYANABA (A.), TUCKWELL (S. B.) & JENKINSON (D. S.), 1976. — The effects of clearing and cropping on the organic reserves and biomass of tropical forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, **8**: 519-525.
- BACHACOU (J.), MASSON (J. P.) & MILLIER (C.), 1981. — *Manuel de la programmation statistique Amance 81*, CNRF-INRA Ed, 516 p.
- CHAUSSOD (R.) & NICOLARDOT (B.), 1982. — Mesure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés. I. Approche cinétique et estimation simplifiée du carbone facilement minéralisable. *Rev. Écol. Biol. Sol*, **19**: 501-512.
- CHAUSSOD (R.), NICOLARDOT (B.), SOULAS (G.) & JOANNES (H.), 1986. — Mesure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés. II. Cinétiques de minéralisation de matière organique microbienne marquée au carbone 14. *Rev. Écol. Biol. Sol*, **23**: 183-196.
- CHRÉTIEN (J.), 1976. — *Notice explicative à la carte pédologique de France à 1/100 000 (Dijon 0-12)*. Service d'études des Sols et de la Carte pédologique de France, INRA, 218 p.
- CROOKE (W. M.) & SIMPSON (W. E.), 1971. — Determination of ammonium in Kjeldahl Digests of crops by an automated procedure. *J. Sci. Food Agric.*, **22**: 9-10.
- DORICH (R. A.) & NELSON (D. W.), 1984. — Evaluation of manual cadmium reduction methods for determination of nitrate in potassium chloride extracts of soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **48**: 72-75.
- HAIDER (K.), MARTIN (J. P.) & FILIP (Z.), 1975. — Humus biochemistry. In: *Soil Biochemistry*. PAUL (E. A.) and Mc. LAREN (A. D.), DEKKER Ed., New York, **4**: 195-244.

- JENKINSON (D. S.) & POWLSON (D. S.), 1976. — The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.*, **8**: 209-213.
- JENKINSON (D. S.) & LADD (J. N.), 1981. — Microbial biomass in soil: Measurement and turnover *In: Soil biochemistry*. PAUL (E. A.) and LADD (J. N.), DEKKER Ed., New York, **5**: 415-471.
- KUDEYAROV (V. N.) & JENKINSON (D. S.), 1976. — The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. VI — fumigation with carbon disulphide. *Soil Biol. Biochem.*, **8**: 375-378.
- LADD (J. N.), OADES (J. M.) & AMATO (M.), 1981. — Microbial biomass formed from <sup>14</sup>C, <sup>15</sup>N labelled plant material decomposing in soils in the field. *Soil Biol. Biochem.*, **13**: 119-126.
- LETHBRIDGE (G.) & DAVIDSON (M. S.), 1983. — Microbial biomass as a source of nitrogen for cereals. *Soil Biol. Biochem.*, **15**: 375-376.
- Mac. GILL (W. B.), SHIELDS (J. A.) & PAUL (E. A.), 1975. — Relations between carbon and nitrogen turnover in soil organic fractions of microbial origin. *Soil Biol. Biochem.*, **7**: 57-63.
- MARUMOTO (T.), ANDERSON (J. P. E.) & DOMSCH (K. H.), 1982. — Mineralization of nutrients from soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.*, **14**: 469-475.
- MARUMOTO (T.), 1984. — Mineralization of C and N from microbial biomass in paddy soil. *Plant Soil*, **76**: 165-173.
- NICOLARDOT (B.), 1983. — Influence de l'humidité sur la minéralisation du carbone et de l'azote dans quatre sols cultivés. *Bull. Sci. Bourg.*, **36**: 21-28.
- NICOLARDOT (B.), CHAUSSOD (R.) & CATROUX (G.), 1984. — Décomposition de corps microbiens dans des sols fumigés au chloroforme : effets du type de sol et de micro-organisme. *Soil Biol. Biochem.*, **16**: 453-458.
- NICOLARDOT (B.), GUIRAUD (G.), CHAUSSOD (R.) & CATROUX (G.), 1986. — Minéralisation dans le sol de matériaux microbiens marqués au carbone 14 et à l'azote 15 : Quantification de l'azote de la biomasse microbienne. *Soil Biol. Biochem.*, **18**: 263-273.
- POWLSON (D. S.), 1975. — Effects of biocidal treatments on soil organisms. *In: Soil Microbiology*, WALKER (N.), Butterworths Ed., London: 192-224.
- ROSS (D. J.), TATE (K. R.), CAIRNS (A.) & PANSTER (E. A.), 1980. — Microbial biomass estimations in soils from Tussock grasslands by three biochemical procedures. *Soil Biol. Biochem.*, **12**: 375-383.
- SCHLOESING (T. H.) & MUNTZ (A.), 1877. — Sur la nitrification par les ferments organisés. *C. R. Acad. Sci. (Paris)*, **85**: 1018-1020.
- SHEN (S. M.), PRUDEN (G.) & JENKINSON (D. S.), 1984. — Mineralization and immobilization of nitrogen in fumigated soil and the measurement of microbial biomass nitrogen. *Soil Biol. Biochem.*, **16**: 437-444.
- SPARLING (G. P.), DAVIDSON (M. S.), LEIGHTON (J. A.) & LETHBRIDGE (G.), 1983. — Microbial cells as a source of plant nutrients. *In: Transactions of the ISS-AISS-IBG Symposium*, Reading (UK) 4-8 July: 88.
- VORONEY (R. P.) & PAUL (E. A.), 1984. — Determination of Kc and Kn *in situ* for calibration of the chloroform fumigation incubation method. *Soil Biol. Biochem.*, **16**: 9-14.
- WEBLEY (D. M.) & JONES (D.), 1971. — Biological transformations of microbial residues in soil. *In: Soil Biochemistry*. Mc LAREN (A. D.) and SKUJINS (J.), DEKKER Ed., New York, **2**: 446-485.
- WILLIAMS (B. L.) & SPARLING (G. P.), 1984. — Extractable N and P in relation to microbial biomass in UK acid organic soils. *Plant Soil*, **76**: 139-148.

2  
1  
4  
3