

# Influence de la décomposition de la nécro-masse des espèces végétales tropicales sur le pH et la structure génétique des communautés bactériennes d'un sol ferrugineux tropical au Sénégal

Mariama Dalanda Diallo<sup>1\*</sup>, Minda Mahamat Saleh<sup>2</sup>, Ousmane Ndiaye<sup>2</sup>, Aliou Diop<sup>3</sup>, Aliou Guisse<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Section Productions Végétales et Agronomie, UFR des Sciences Agronomiques, de l'Aquaculture et des Technologies Alimentaires, Université Gaston-Berger, Saint-Louis, Senegal

<sup>2</sup>Département de Biologie Végétale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop, Dakar

<sup>3</sup>Section Mathématiques Appliquées, UFR des Sciences Appliquées et Technologie, Université Gaston-Berger, Saint-Louis, Senegal

\* **Corresponding author** : [mariama-dalanda.diallo@ugb.edu.sn](mailto:mariama-dalanda.diallo@ugb.edu.sn); Tel : +221 77 642 0974

Original submitted in on 10<sup>th</sup> July 2015. Published online at [www.m.elewa.org](http://www.m.elewa.org) on 31<sup>st</sup> July 2015  
<http://dx.doi.org/10.4314/jab.v91i1.2>

## RESUME

**Objectifs:** L'objectif de cette étude est de suivre l'influence des litières de *Faidherbia albida* A. CHEV., *Azadirachta indica* A. JUSS., *Casuarina equisetifolia* FORSK., *Andropogon gayanus* KUNTH. et *Eragrostis tremula* STEUD. sur le pH du sol et la structure génétique des communautés bactériennes d'un sol ferrugineux tropical.

**Méthodologie et Résultats :** Le suivi de la perte de masse des litières a été effectué au cours de la saison pluvieuse pendant 90 jours dans une parcelle expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (E.N.S.A.) de Thiès. L'étude de l'évolution du pH et de la structure génétique des communautés microbiennes a été effectuée au laboratoire en mélangeant les litières broyées avec 30 g de sol, le tout incubé pendant 140 jours. La technique de la PCR-DGGE a été utilisée pour l'étude de la structure génétique des communautés microbiennes du sol. Les résultats ont montré qu'à 90 jours, le taux de décomposition était de 90% pour *A. indica* et *E. tremula*, de 75,5% pour *C. equisetifolia* et de 31 % pour *A. gayanus* et *F. albida*. La décomposition des litières avait tendance à baisser le pH par rapport au témoin sans amendement. L'analyse de la structure génétique des communautés microbiennes a montré qu'après 140 jours d'incubation, même si l'effet litière est noté, la différence entre les traitements est réduite. *E. tremula*, *A. gayanus* et *C. equisetifolia* se démarquent ; par contre *A. indica* et *F. albida* se rapprochent (98% de similarité).

**Conclusions et Application :** Par ailleurs, l'étude a montré que l'apport de matières organiques dans le sol, influence le pH en même temps que la structure des communautés microbiennes mais pas de la même manière.

**Mots-clés :** Sénégal Décomposition, Matière organique ; Structure génétique microbienne, sol ferrugineux.

## Influence of litter decomposition of plant species on the pH and the genetic structure of bacterial communities of a lixisol soil in Senegal

### ABSTRACT

**Objectives:** This study was conducted to follow the influence of *Faidherbia albida* A. CHEV., *Azadirachta indica* A. JUSS., *Casuarina equisetifolia* FORSK., *Andropogon gayanus* KUNTH. and *Eragrostis tremula* STEUD. litters on soil pH and the genetic structure of bacterial communities of a lixisol.

**Methodology and Results:** The litter weight loss was followed during the rainy season for 90 days in an experimental plot at Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (E.N.S.A) of Thies. The study of the pH and the genetic structure of microbial communities was carried out in laboratory by mixing the grinded litters with 30 g of soil, the whole incubated for 140 days. The PCR-DGGE technique was used to study the genetic structure of soil microbial communities. Results have shown that at 90 days, that decomposition rate was 90% for *A. indica* and *E. tremula*, 75.5% for *C. equisetifolia*, and 31% for *A. gayanus* and *F. albida*. Litter decomposition tended to decrease the pH compared to the control without litter amendment, and the decrease was more significant in soils amended with *F. albida* litters. The analysis of the genetic structure of microbial communities showed that after 140 days of incubation, although the litter effect reported, the difference between treatments is reduced. *E. tremula*, *A. gayanus* and *C. equisetifolia* diverged while *A. indica* and *F. albida* got closer (98% of similarity).

**Conclusions et Application :** The study has shown that the input of organic matter to the soil, influences the pH and at the same time the microbial communities, but not in the same manner.

**Keywords :** Senegal, Decomposition, Organic matter, Microbial genetic structure, Lixisol

### INTRODUCTION

Au Sénégal, la baisse des rendements des cultures de base (mil, sorgho, niébé) et industrielles (arachide) est tributaire de la diminution de la fertilité des sols (Ker, 1995) et de la raréfaction des précipitations. Dans la majeure partie du pays, le sol est altéré tant chimiquement que physiquement, entraînant une perte en nutriments et de réserves de matière organique (Lal, 1998). L'apport de matière organique dans le sol permet l'enrichissement du sol en éléments minéraux à partir de la décomposition (Diallo *et al.*, 2006). La décomposition d'un substrat végétal au champ dépend de la qualité biochimique du substrat en décomposition (Diallo *et al.*, 2005), des facteurs climatiques (température, humidité), des facteurs physico-chimiques du sol (texture, structure, pH...) ainsi que des facteurs biotiques (faune du sol, microorganismes) (Tittonell *et al.*, 2013). La décomposition d'un substrat végétal résulte de la transformation des composés organiques complexes en molécules simples, organiques ou minérales par les microorganismes

(Vanlauwe et Zingore, 2010). La quantification des produits de l'activité microbienne permet d'apprécier la dégradation d'un substrat donné, et donc l'effet de sa qualité chimique vis-à-vis des microorganismes du sol (Whitman *et al.*, 1998). Si l'on considère généralement que la diversité bactérienne ne représente qu'un faible pourcentage de la biodiversité globale (sur toutes les espèces identifiées 0,2% seraient des bactéries, Buckley et Schmidt, 2002), la grande diversité des ressources énergétiques et voies métaboliques qu'elles utilisent leur confère un rôle majeur dans le fonctionnement des écosystèmes. L'étude de la structure génétique des communautés microbiennes est importante pour connaître la composition génétique de la communauté, comprendre les patrons de distribution des bactéries, améliorer la connaissance de ces communautés et gérer la diversité pour permettre le fonctionnement et la viabilité des écosystèmes (Diallo *et al.*, 2015). L'objectif de cette étude est de suivre l'influence de

la litière de *Faidherbia albida* A. CHEV., *Azadirachta indica* A. JUSS., *Casuarina equisetifolia* FORSK., *Andropogon gyanus*

*KUNTH.* et *Eragrostis tremula* STEUD., sur le pH du sol et la structure génétique de la communauté bactérienne d'un sol ferrugineux tropical.

## MATERIEL ET METHODES

**Le sol:** Les sols du Sénégal sont classés parmi les sols ferrugineux tropicaux (Maignien, 1965). Ces sols sont typiques des zones soudano-sahéliennes ayant une saison pluvieuse de trois à quatre mois avec une pluviométrie annuelle inférieure à 1 mètre et une saison sèche d'au moins huit mois. Le sol étudié est un sol ferrugineux tropical lessivé (Maignien, 1965, Pontanier et Kotto-Samé, 1982 ; Brabant et Gavaud, 1985) classé comme lixisol (FAO, 1998). Un échantillon composite de sol a été prélevé au niveau de la parcelle expérimentale. Il est prélevé au niveau de l'horizon de surface (0-10 cm) d'une parcelle expérimentale de l'ENSA de Thiès (14° 42' N, 16° 57' O) située à 70 Km à l'Est de Dakar (Figure 1). Le pourcentage du sol en sables, limons, argiles, pH, C organique et N total est respectivement de 89,2% ; 1,8% ; 8,5% ; 7,86 ; 5,21 mg g<sup>-1</sup>, et 0,31 mg g<sup>-1</sup>. La région, se particularise du point de vue climatique par son appartenance au domaine Soudano-sahélien. La proximité de l'océan et sa façade nord qui borde la grande côte, constamment

balayée par l'alizé maritime issu de l'anticyclone des Açores lui confère un climat doux et favorable souvent qualifié de climat sub-canarien avec une influence continentale. Les précipitations dans le département de Thiès s'étalent sur trois mois de mi-juillet à mi-octobre. Elles varient entre 300 et 500 mm / an traduisant une certaine irrégularité inter-annuelle. Les températures varient entre 20,3°C et 33,1°C avec une moyenne qui tourne autour de 26°C. Les températures les plus basses sont enregistrées durant les mois de janvier et février où, le minimum peut aller jusqu'à 16°C; alors que les températures les plus fortes sont notées durant les mois de mars à octobre où le mercure peut atteindre 35°C. La proximité de l'océan, lui procure une humidité relative moyenne de 62%. Cependant, elle demeure très variable et on note que l'humidité maximale se situe à 87% et la minimale à 37%. Les mois où les teneurs en eau dans l'air sont fortes coïncident avec la saison des pluies.

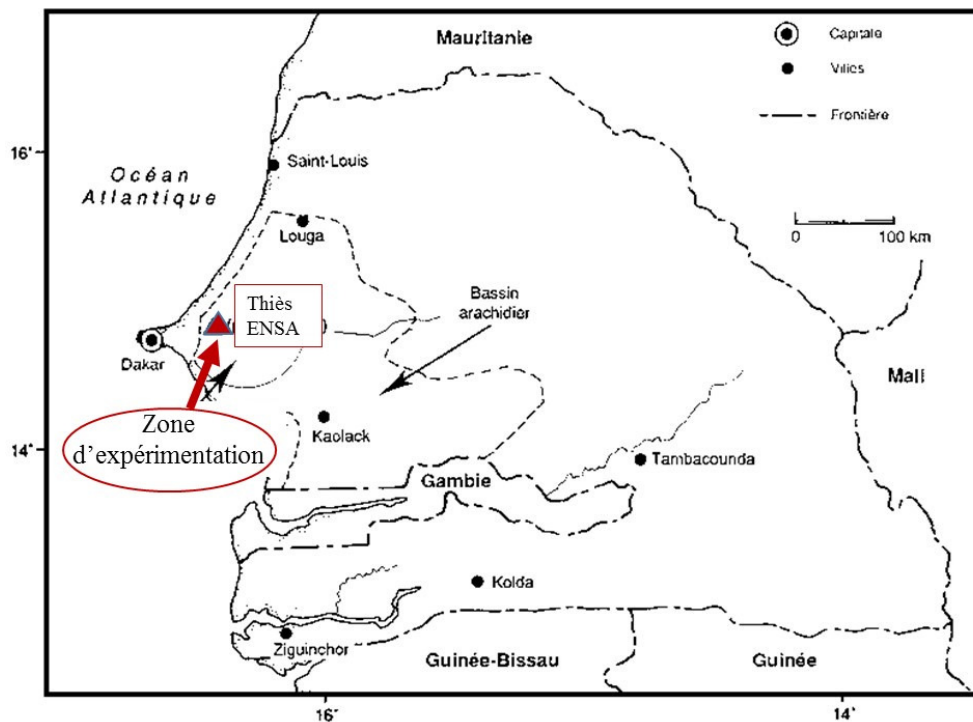


Figure 1 : Plan de localisation du site d'étude situé à Thiès (Sénégal)

**Diallo et al. J. Appl. Biosci. Influence de la décomposition de la nécro-masse des espèces végétales tropicales sur le pH et la structure génétique des communautés bactériennes d'un sol ferrugineux tropical au Sénégal**

**Les litières utilisées :** Le choix des litières a été porté sur cinq espèces végétales appartenant à des familles différentes et de composition biochimique différente (Tableau 1). Il s'agit des litières de *F. albida* A. CHEV. (Mimosaceae), *A. indica* A. JUSS. (Méliaceae), *A. gayanus* KUNTH. (Poaceae), - *C. equisetifolia* FORSK.

(Casuarinaceae) et *E. tremula* STEUD (Poaceae). Ce sont des espèces couramment rencontrées au Sénégal. Ces plantes sont aussitôt résistantes à la sécheresse et peuvent être utilisées comme bois de chauffe ou engrais vert.

**Tableau 1 :** Caractéristiques physico-chimiques des litières (Diallo et al., 2005)

Litières	C soluble	Ph ins (1)	Ph so (2)	Lignine	Cellulose	Hemicellulose	C	N	C/N
	mg g <sup>-1</sup>			%			mg g <sup>-1</sup>		
<i>Andropogon gayanus</i>	36,4 a	4,2 a	6,1 a	10 a	37,2 b	28,1 b	457,1 a	9,0 a	50,8
<i>Azadirachta indica</i>	53,6 b	7,9 a	12,1 b	23,4 b	19,3 a	11,1 a	442,6 a	13,9 a	31,9
<i>Casuarina equisetifolia</i>	62,8 b	20,7 b	18,9 b	20,4 b	32,2 b	15,1 a	471,9 a	13,6 a	34,8
<i>Eragrostis tremula</i>	39,6 a	2,6 a	5,1 a	8,1 a	32,7 b	28,3 b	381,7 a	9,1 a	41,7
<i>Faidherbia albida</i>	30,7 a	5,4 a	7,1 a	21,3 b	19,6 a	11,3 a	428,3 a	20,0 a	21,4

Nombre de répétition n=3 pour chaque moyenne.

La différence significative entre deux moyennes pour chaque colonne est marquée par des lettres différentes selon le test de Fisher (p <0,05).

(1) Ph ins=phénols insolubles à l'eau solubles au méthanol

(2) Ph so=phénols solubles à l'eau

La récolte des litières d'*A. indica* et de *C. equisetifolia* a été effectuée au moment de leur chute alors que pour *F. albida*, la récolte a été effectuée sur l'arbre à cause de leur taille. Pour *A. gayanus*, c'est la partie aérienne de la plante qui a été prélevée tandis que pour *E. tremula*, c'est la plante entière qui a été prélevée à la fin de la saison pluvieuse. Les litières ont ensuite été séchées à l'air libre pendant deux semaines et conservées dans des sacs.

**Dispositifs expérimentaux**

**Étude de la perte de masse des litières :** L'étude de la dynamique de la perte de masse des litières a été effectuée sur le terrain dans la parcelle expérimentale de l'Ecole Nationale Supérieure d'Agriculture (ENSA) à Thiès (14°42'N et 16°57'W). Des sachets en Nylon de 12 cm x 10 cm (2 mm de maille) contenant les différentes litières ont été confectionnés selon la technique de Bockock et Gilbert (1957). La maille de 2 mm de diamètre est considérée par Sundarapandian et Swamy (1999) comme suffisamment petite pour prévenir la perte de litière et suffisamment grande pour permettre l'accès de la macrofaune moyenne telle que certains termites. Dix grammes de litières intactes ont été introduits dans chaque sachet. Pour les graminées,

les tiges ont été coupées par pièce de 7 cm. Les sachets ont été disposés aléatoirement (12 sachets/m<sup>2</sup>) et enterrés à 5 cm de profondeur dans le sol durant toute la saison hivernale entre le mois d'août et celui de novembre 2001. La distance entre les placettes est de 2m. Trois sachets de chaque litière ont été prélevés tous les mois à 0, 30, 60 et 90 jours. Les débris restants sont lavés à l'eau et séchés à l'étuve 60°C pendant 72 heures, avant d'être pesées. La perte de poids en pourcentage a été évaluée par la formule suivante (Diallo et al., 2010) :

$$Pm (\%) = 100 \times (P_i - P_f) / P_i$$

P<sub>i</sub> = poids initial des litières

P<sub>f</sub> = poids des litières après prélèvement

**Effet des litières sur le pH et la structure génétique des communautés microbiennes :** Trente grammes de sol sec tamisé à 2 mm ont été introduit dans des bocaux de 1 litre, mélangés avec 1% de poudre de litière (1 g de litière pour 100 g de sol sec) des cinq espèces végétales. Chaque amendement comporte trois répétitions par litière. Les échantillons de sol non amendés avec la poudre de litière constituent le témoin. Les échantillons ont ensuite été humectés à

100% de la capacité de rétention au champ (8 g d'eau pour 100 g de sol) et pré-incubés pendant une semaine à 30°C pour réactiver la biomasse microbienne à l'issue de laquelle la première série de mesure du pH a lieu. Un flacon contenant 5 ml de NaOH 2N pour piéger le CO<sub>2</sub>, a été introduit dans le bocal contenant le microcosme. Les teneurs du pH ont ensuite été estimés à différentes dates (0, 7, 14, 21, 28, 49, 70, 91 et 140 jours). L'évaluation de la structure génétique des communautés microbiennes a été effectuée sur les échantillons en début (0 jour) et en fin d'incubation (140 jours).

#### **Analyses au laboratoire**

**Mesure du pH du sol:** Pour déterminer le pH, 10 g de sol ont été prélevés des bocaux, ensuite séchés à l'air libre sous abri pendant 10 jours, puis broyés, tamisés à 2 mm et conservés au frais. La mesure du pH a été réalisée à partir de la suspension du sol dans de l'eau distillée avec un rapport sol/eau de 1/2,5.

**Etude de la structure génétique des communautés microbiennes :** La structure des communautés microbiennes a été étudiée par la méthode PCR - DGGE (Polymerase Chain Reaction - Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) réalisée sur l'ADN extrait des échantillons microbiens de sol.

**Extraction de l'ADN Microbien du sol:** L'ADN microbien a été extrait par la méthode de lyse physique décrite par *Porteous et al.* (1997) modifiée. Les échantillons d'un même traitement ont été poolés et l'extraction a été effectuée sur 12 échantillons composites (6 par période d'extraction). Le sol (0,5g) broyé et tamisé à 200 µm, a été mis en présence de billes de zirconium stériles (diamètre 0,1-0,75 mm) et de tampon de lyse (NaCl 0,25 M ; EDTA 0,1 M ; pH 8) filtré et stérilisé. L'éclatement et la lyse des cellules ont été obtenus en réalisant 2 passages alternés au vibrobroyeur (beadbeater) et bain marie (65°C) durant 2×2 min. Après centrifugation (13000 g, 15 min, 4°C) le surnageant (contenant entre autres les acides nucléiques en solution) a été récupéré par pipetage (600 µl) puis on y a ajouté de l'acétate de potassium (CH<sub>3</sub>COOK) 5 M et 250 µl de polyéthylène glycol 8000 à 40%. Le mélange a été mis au frais à -20°C pendant 2 h pour précipiter l'ADN. Après centrifugation (13000 g, 15 min, 4°C), le culot d'ADN a été incubé à 68°C en présence d'une solution (600 µl) de CTAB 2% (1.4 M NaCl; 0.1 M EDTA; CTAB 2%) jusqu'à dissolution complète. La purification s'est poursuivie par agitation modérée en présence de chloroforme (600 µl), suivie d'une centrifugation à 13000 g pendant 10 min à la

température ambiante. La phase supérieure qui contenait l'ADN a été remise dans 600 µl d'isopropanol et conservée à -20°C pendant 15 mn. Après centrifugation du mélange (13000 g, 15 min, 4°C) et élimination du surnageant, le culot a été lavé avec 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 ensuite centrifugé (13000 g pendant 15 min à 4°C) et le culot a été lavé avec de l'éthanol 70°. Le culot d'ADN récupéré après centrifugation (13000 g pendant 5 min à 4°C), a été séché dans une cloche à vide, puis suspendu dans un volume variant entre 15 et 25 µl d'eau ultra-pure stérile. L'extrait brut obtenu a été purifié à l'aide du kit Wizard® DNA Clean-Up System (Cat. # A7280 Promega). L'extrait d'ADN a été ensuite quantifié à l'aide des gammes étalons afin de déterminer sa concentration dans chaque échantillon. L'ADN a été conservé à -20°C jusqu'à son utilisation pour l'amplification.

**Amplification par PCR:** L'amplification de l'ADNr par PCR a été réalisée avec un amplificateur de type GeneAmp PCR system (Perkin Elmer). L'étude de la communauté bactérienne totale a été faite en ciblant la région V3 de l'ADNr 16S des bactéries totales (la région V3 est une région variable de l'ADNr 16S bactérienne). Nous avons utilisé un couple d'amorces universelles EUB338f (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') muni d'un GC « clamp » (Muyzer *et al.*, 1997) et UNIV518r (5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3') selon *Ovreas et al.* (1997) qui permettent de mettre en évidence des différences dans la structure des communautés bactériennes dans les sols. L'ADN (environ 10 ng) a été amplifié avec 0,5 µM finale de chacune des amorces dans un mélange lyophilisé appelé *Taq Ready to Go* (Amersham Biosciences, USA) (Taq DNA polymérase 2,5 U, dNTP 200 µM, Tris-HCl 10 mM à pH 9, KCl 50 mM et MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM) pour un volume final de 25 µl. Ce mélange a été soumis à l'amplification par PCR comportant 30 cycles (Figure 2). Chaque cycle d'amplification comprend trois phases différentes avec des températures spécifiques. Ces cycles précédés d'une dénaturation à 94°C pendant 2 min, sont constitués des phases de dénaturation (30 s à 94°C), d'hybridation (30 s à 65°C diminuant de 0,5°C pendant les 20 premiers cycles, appelé « touch-down ») et de synthèse (1 min à 72°C). Les 10 derniers cycles se font à une température d'hybridation constante de 55°C. Enfin s'ajoute une phase supplémentaire d'élongation à 72°C pendant 10 min (Muyzer *et al.*, 1997). Les

fragments d'ADNr obtenus d'environ 200 bp sont vérifiés sur un gel d'agarose à 1% (Amersham

Biosciences, USA) après coloration au bromure d'éthidium (10 mg ml<sup>-1</sup>).

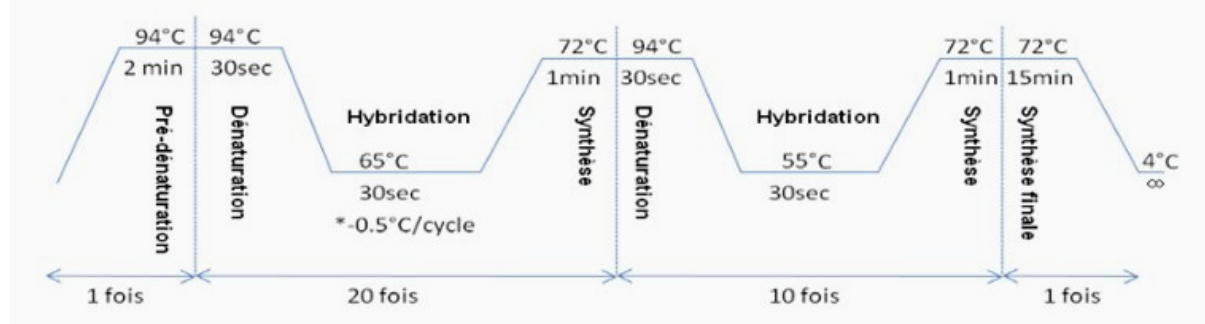


Figure 2 : Les différentes étapes du cycle thermique de l'amplification par PCR du gène ADNr 16S marqueur des communautés bactériennes totales

**Electrophorèse en Gradient chimique Dénaturant (DGGE) :** Les fragments d'ADNr obtenus par PCR sont séparés sur un gel polyacrylamide à 8% [acrylamide-bisacrylamide 40% (37.5:1)] avec un gradient de dénaturants de 45 à 70 % [(100% dénaturant contient 7 M urée avec 40% de formamide). La migration est effectuée dans un tampon TAE (1 X) à 60 °C. La révélation des profils des fragments d'ADNr est faite aux UV (254 nm) après une coloration du gel au SYBR Green (10 mg/ml). L'acquisition des images des profils d'ANDr obtenus se fait à l'aide du logiciel Bio-Capt (Vilber Lourmat, France) **Analyse statistique:** Le traitement des données obtenues après analyse à la suite des analyses chimiques et biochimiques, a été

effectué avec le logiciel SuperAnova (ABACUS CONCEPTS, BERKELEY, CA). La comparaison des moyennes des traitements a été effectuée avec le test de Fisher PPDS ( $P < 0,05$ ). L'analyse du profil DGGE a été effectuée avec le logiciel Bio-profil (ETS VILBER LOURMAT Paris, 1999). Les matrices de présence-absence sont employées pour déterminer la différence entre les profils de chaque traitement du gel DGGE. Ce même logiciel a servi à l'établissement du dendrogramme de similarité avec le coefficient de Dice (intervalle de confiance de 5 %) avec la méthode de l'algorithme d'UPGMA (UNWEIGHTED PAIR-GROUP METHOD ALGORITHM).

## RESULTATS

**Étude de la perte de masse des litières :** Le pourcentage de la perte de masse des litières est relevé aux trois dates de mesure indiquées dans le Tableau 2. Après 30 jours d'incubation des litières, le pourcentage est de 0% pour *F. albida* et *C. equisetifolia*, de 12% pour *A. gayanus*, de 60,2% pour *E. tremula* et de 72 % pour *A. indica*. A 60 jours, le

pourcentage est toujours plus faible avec la litière de *F. albida* (1,6%), suivie de *A. gayanus* (13,6%) et de *C. equisetifolia* (15,8 %). Il est significativement plus élevé au niveau de *A. indica* (83,1%) et *E. tremula* (88,9 %). A 90 jours, il est de 90 % pour *A. indica* et *E. tremula*, de 31% *A. gayanus* et *F. albida* et enfin de 75,5% Chez la litière de *C. equisetifolia*.

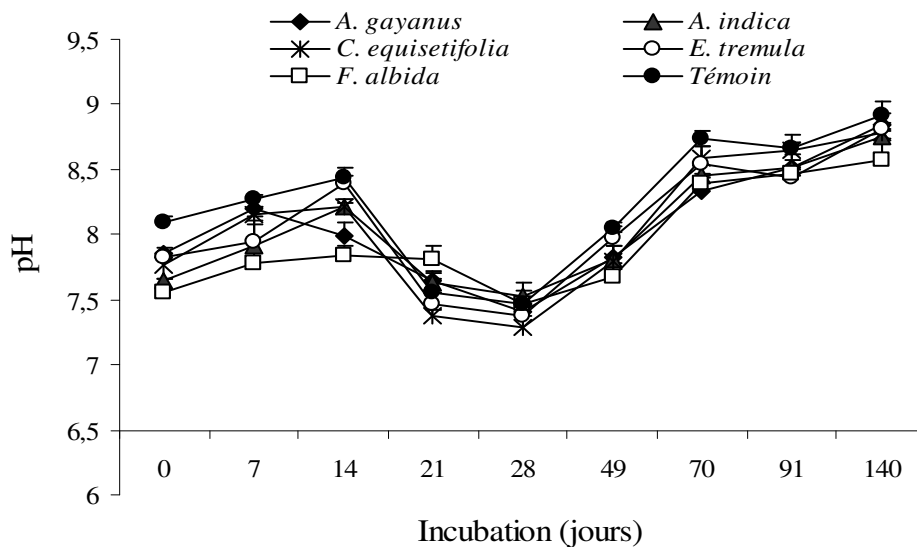
**Tableau 2:** Pourcentage de perte de masse des litières

Litières	November 2000	March 2001	July 2001
<i>Andropogon gayanus</i>	1.18 ± 0.08 cd	0.75 ± 0.31 a	7.24 ± 2.24 a
<i>Azadirachta indica</i>	1.26 ± 0.05 cd	0.64 ± 0.07 a	9.56 ± 2.56 a
<i>Casuarina equisetifolia</i>	0.95 ± 0.12 b	0.73 ± 0.07 a	7.79 ± 0.03 a
<i>Eragrostis tremula</i>	1.07 ± 0.08 bc	0.57 ± 0.07 a	7.83 ± 0.25 a
<i>Faidherbia albida</i>	1.36 ± 0.25 d	0.67 ± 0.13 a	11.83 ± 3.24 b
<b>Témoin</b>	<b>0.40 ± 0.07 a</b>	<b>0.52 ± 0.31 a</b>	<b>7.31 ± 1.37 a</b>

Nombre de répétitions n=3 pour chaque moyenne. La différence significative entre deux moyennes pour une même colonne est marquée par des lettres différentes selon le test de Fisher ( $P < 0,05$ ).

**Évolution du pH:** L'analyse des résultats de la mesure du pH indique (Figure 3) qu'en début d'incubation, le pH est plus élevé (8,44) dans le témoin et plus faible (7,46) avec le traitement *F. albida*. Le pH diminue au cours des deux semaines suivantes. Cette diminution est surtout accentuée au niveau du traitement *C. equisetifolia* qui passe de 8,21 à 7,29. A partir du 28<sup>ème</sup> jour, le pH augmente régulièrement dans tous les

traitements jusqu'à la fin de l'incubation avec un maximum noté dans le témoin (8,92). Au 91<sup>ème</sup> jour on note une légère baisse du pH au niveau du traitement *E. tremula* et du témoin. A la fin de l'incubation, le pH n'est pas significativement modifié dans les différents traitements à l'exception de celui de *F. albida* qui est plus faible par rapport aux autres.



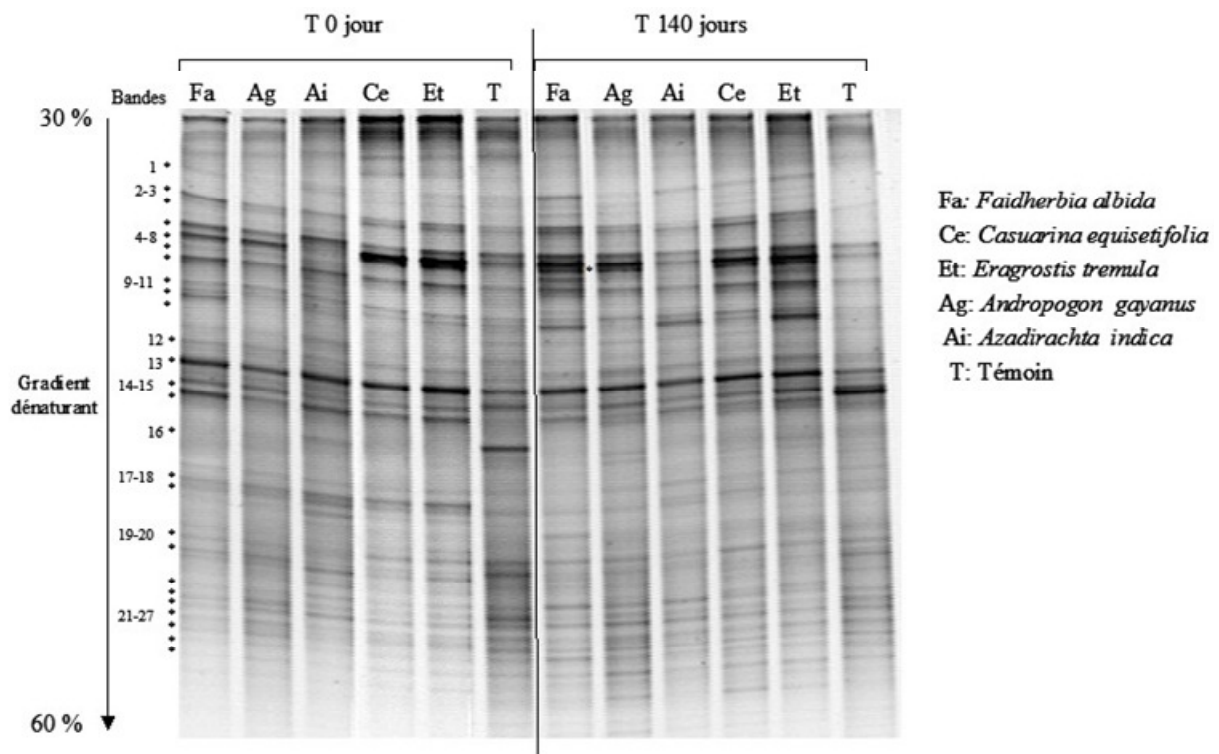
**Figure 3:** Evolution du pH des différents traitements (140 jours d'incubation à 28 °C).

**Étude de la structure génétique des communautés microbiennes :** Analyse visuelle du gel: La figure 4 présente les profils DGGE représentatifs de la diversité des fragments d'ADN ribosomal 16S amplifiés des différents traitements de sols amendés ou non avec les

litières. Le gel réalisé comprend deux graphes de profils : le premier correspond à la structure génétique en début de décomposition (T0 jour) et le second correspond à l'évolution de la structure après 140 jours d'incubation des litières. L'analyse des intensités

relatives montre une différence notable entre le profil T0 et le profil T 140 jours. Cette analyse montre 25 bandes sur le profil T0 et 26 bandes sur le profil 140 jours. Le nombre total de bandes détectées sur le gel est de 27 dont 25 bandes communes pour les deux profils. La bande 1 est absente du témoin et elle est plus intense dans *F. albida*. La bande 2 est absente dans *F. albida* et *A. indica* à T0 jour, elle a une intensité faible au niveau de *A. gayanus* à T0 et de *A. indica* à T140. Les bandes 5 et 15 sont spécifiques au profil T140 jour (dans *F. albida*) tandis que la bande 16 est spécifique au profil T0 jour (dans *A. indica* en faible

intensité et dans le témoin en forte intensité). La bande 6 n'existe que dans le traitement *F. albida* et *A. gayanus* à T0. Par contre, les bandes 3, 7, 12, 13 et 14 et les bandes 19 à 27 existent dans tous les traitements. Ces dernières présentent les intensités les plus faibles. La bande 7 a une intensité plus élevée en début d'incubation par rapport à la fin contrairement à la bande 13 qui présente une intensité élevée aux deux dates. La bande 4 a une intensité plus forte au niveau des traitements T0 de *C. equisetifolia* et *E. tremula* et au niveau du traitement T140 jours de *F. albida*, *A. gayanus*, *C. equisetifolia* et *E. tremula*.



**Figure 4:** Structure génétique (empreinte DGGE-16S) de la communauté bactérienne totale à T0 jour et après 140 jours d'incubation

**Dendrogrammes de similarité des profils DGGE de la communauté totale:** Le dendrogramme de similarité obtenu à partir des profils (Figure 5) est analysé sous trois formes. La première englobe l'échantillon au début de l'incubation des litières (T0 jour), la deuxième fait référence à l'échantillon en fin d'incubation des litières (T140 jours) tandis que la troisième regroupe les deux profils (T0+T140). A T0 jour, les profils sont similaires à 90 % pour tous les traitements. Cette similarité est de

100 % pour les litières de *A. gayanus*, *C. equisetifolia* et *E. tremula*. Elle est de 97 % entre ces litières et *F. albida*, de 94 % avec *A. indica* et de 90 % avec le témoin. A cette date, les différences enregistrées sont minimales et elles sont dues aux communautés microbiennes apportées par les litières. Il faut noter que la méthode utilisée permet de détecter des différences induites par 1 % de litières à T0. Après 140 jours d'incubation, même si l'effet litière est noté, la



différence entre les traitements est réduite. Le témoin devient plus proche des litières au cours du temps (pourcentage de similitude passe à 94 %). Les litières de *E. tremula*, *A. gayanus* et *C. equisetifolia* se démarquent et les litières *A. indica* et *F. albida* se rapprochent (98 % de similarité). La comparaison des deux profils entre eux (dendrogramme T0 + T140)

montre qu'à la fin de la décomposition, le traitement témoin à une ressemblance de 99 % avec les traitements T0 des litières de *A. gayanus*, *C. equisetifolia* et *E. tremula*. On note que le traitement *A. indica* et le témoin ont des communautés plus différenciées par rapport aux traitements à T0.

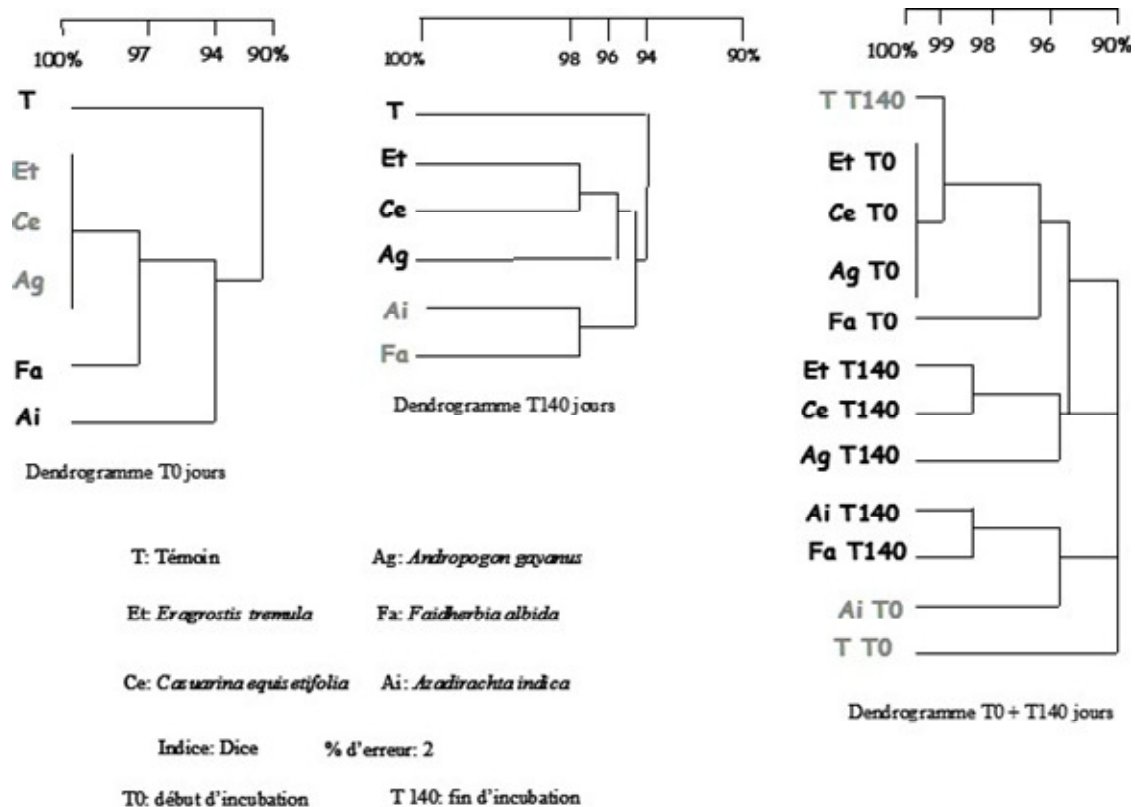


Figure 5: Dendrogrammes de similarité correspondant aux profils DGGE -16S rDNA à T0 jour, T140 jours et T0+T140 jours

## DISCUSSION

**La décomposition des litières :** Les résultats obtenus lors de l'étude de la perte de masse des litières ont montré que la décomposition des litières varie en fonction de leur qualité biochimique. L'utilisation de la méthode des sachets a permis de suivre plus facilement la vitesse de décomposition des litières pendant la saison pluvieuse. Durant cette période, la décomposition est accélérée pour toutes les litières. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Diallo *et al.*, (2006). A la fin de l'incubation, trois tendances sont observés. D'une part, la décomposition très lente de la litière de *F. albida* et de *A. gayanus*, un ralentissement de la décomposition de litière de *C.*

*equisetifolia* et une perte de masse élevée pour les litières de *A. indica* et *E. tremula*. Des études antérieures ont relevé des résultats similaires sous l'effet de résidus en décomposition (Trinsoutrot *et al.*, 2000). Aucune relation n'est observée entre la qualité biochimique de la litière (C/N, cellulose, hémicellulose et lignine) et l'ampleur de ce processus. Par contre, des études ont montré une relation favorable entre la C/N et la perte de masse des litières (Arunachalam *et al.*, 1998). L'accélération de la dégradation des litières au cours des 90 jours jusqu'à 94,5% de perte dans certains cas, est due à la l'influence de l'humidité due à la pluie et aux fortes températures qui sont des facteurs

favorables à l'accroissement de la biomasse microbienne et à l'augmentation de leur activité. Des conclusions analogues ont été rapportées par Sundarapandian et Swamy, (1999).

**La diversité de la communauté bactérienne totale :** L'analyse des profils DGGE a montré que pour la structure génétique des communautés microbiennes, les modifications structurales observées sont caractérisées par l'apparition et la disparition de certaines bandes, et par des changements d'intensité d'autres bandes. L'apport de litière peut être favorable au développement de certaines espèces bactériennes et défavorable à d'autres. Ceci pourrait expliquer en partie la détection de nouvelles bandes dans les structures (qui existeraient en fait mais n'étaient pas détectées dans le sol) et la non détection d'espèces présentes dans le sol. De nombreuses études ont souligné que la dynamique de la population microbienne était fonction de la quantité de carbone (carbone soluble, carbone organique) des résidus apportés (Degens *et al.*, 2000) ou bien du rapport de C/N (Mustin, 1987 ; Marschner *et al.*, 2003). Il est à noter également, que chaque type de litière ajouté au sol, a eu un effet global sur la communauté microbienne en raison des apports de C et également un effet spécifique sur la sous-population en raison de la composition chimique unique de chaque résidu de la plante. La PCR-DGGE qui a été utilisée pour étudier la diversité des bactéries dans le sol, est une approche dont plusieurs auteurs ont pu mettre en évidence la faible détection du nombre de bactéries dans des sols agricoles (Kowalchuk *et al.*, 2000). Cette limitation de la technique PCR-DGGE est surtout due aux caractéristiques des marqueurs utilisés.

**Influence du pH du sol sur la communauté microbienne:** Le pH du sol est un facteur abiotique qui peut permettre de comprendre les changements de composition des communautés bactériennes. En général, les communautés bactériennes répondent aux perturbations du milieu comme les macroorganismes, mais leurs taux de croissance généralement plus

élevés permettent une réponse plus rapide (Boulton *et al.*, 1998). Comme tous les êtres vivants, les bactéries s'alimentent à partir du milieu extérieur. La disponibilité des nutriments dans le sol est largement dépendante du pH. La plupart des bactéries demandent un milieu neutre ou légèrement alcalin (pH 7,5). Le pH de notre sol amendé ou non avec les litières, qui varie en moyenne de neutre (7,5) en début de décomposition à alcalin (8,9) à la fin de l'incubation des litières, indique un milieu favorable à la croissance bactérienne. La décomposition de la matière organique pendant 170 jours a permis une augmentation moyenne du pH d'une unité. Plusieurs études ont montré l'effet des végétaux sur le pH du sol sous-jacent (Hagos et Smit, 2005). Les raisons exactes de ces variations du pH sous l'arbre restent encore inconnues. Hagos et Smit (2005) ont mis en évidence une corrélation positive entre le pH élevé sous *Acacia* et la capacité d'échange cationique du sol. Hors, l'action des litières est connue dans l'augmentation de la capacité d'échange cationique des sols (Young, 1989). Le pH apparaît ainsi comme un paramètre qui influence de manière majeure la structure et la diversité des communautés bactériennes dans les sols. Des travaux similaires ont été rapportés par Lauber *et al.* (2009), ont analysé les échantillons des sols. Ils sont parvenus à établir une corrélation entre la diversité des bactéries et le pH de ces sols. L'analyse de la structure génétique des communautés bactériennes a montré que l'abondance relative de certains phylums bactériens comme par exemple les *Actinobacteria*, les *Bacteroidetes* et les *Acidobacteria*, est corrélée au pH (Lauber *et al.*, 2009). Cette corrélation entre pH et structure s'explique par le fait que le pH est directement corrélé à plusieurs paramètres du sol comme la disponibilité des nutriments, la solubilité des cations métalliques, la teneur en carbone organique, l'humidité et la salinité. Une seconde explication à cette corrélation est que le pH impose directement une contrainte physiologique sur les bactéries du sol.

## CONCLUSION

Notre étude a permis de comprendre si les apports de matières organiques au sol, en particulier les litières d'espèces végétales différentes ont eu un impact sur le fonctionnement biologique des sols. L'amendement du sol avec les litières et leur incubation a bien un effet sur le pH du sol mais aussi sur la structure génétique des

communautés bactériennes du sol. Par ailleurs, cette étude nous a permis de voir que la décomposition de la matière organique n'était pas forcément corrélée à sa qualité biochimique mais permettait quand même de modifier la structure des communautés microbiennes quel que soit son origine.

## BIBLIOGRAPHIE

- Arunachalam AK, Maithani HN, Pandey HN, Tripathi RS, 1998. Leaf litter decomposition and nutrient mineralization patterns in regrowing stands of a humid subtropical forest after tree cutting. *Forest Ecology and Management*, 109: 151- 161.
- Brabant P, Gavaud M, 1985. Les sols et les ressources en terre du Nord Cameroun. Paris, ORSTOM, M.E.S.R.E.S. et I.R.A. Notice Explicative, n° 103, 285 p. et cartes.
- Bocock K, Gilbert O, 1957. The disappearance of leaf litter under different woodland conditions. *Plant and Soil*, 9 : 179-185.
- Boulton AJ, Findlay S, Marmonier P, Stanley EH, Valett HM, 1998. The functional significance of the hyporheic zone in streams and rivers. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29: 59-81.
- Buckley DH, Schmidt TM, 2002. Exploring the diversity of soil - a microbial rainforest In *Biodiversity of Microbial Life: Foundation of Earth's Biosphere*, ed. AL Reysenbach. New York, New York, USA: Wiley.
- Degens BP, Schipper LA, Sparling GP, Vojvodic-Vukovic M, 2000. Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities, *Soil Biology and Biochemistry*, 32: 189-196.
- Diallo MD, Guissé A, Sall SN, Dick RP, Assigbetsé KB, Dieng AL, Chotte JL, 2015. Influence of tropical leaf litters on N mineralization and community structure of ammonia-oxidizing bacteria. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 19(2) : 173 – 183.
- Diallo MD, Guissé A, Coundoul M, 2006. Minéralisation de l'azote in situ à partir de la décomposition de quelques litières d'espèces végétales tropicales. *Journal de la Faculté des Sciences et Techniques*, 4(2) : 18 – 28.
- Diallo MD, Guissé A, Badiane-Niane A, Sall S, Chotte J L, 2005. In situ effect of some tropical litters on N mineralization. *Arid Land Research and Management*, 19(2) : 173 –181.
- FAO. 1998. World reference base for soil resources. World Soil Resources Reports. Food and Agricultural Organisation, Rome, 98 p.
- Hagos MG, Smit GN, 2005. Soil enrichment by *Acacia mellifera* subsp. *Detinens* on nutrient poor sandy soil in a semi-arid southern African savanna. *Journal of Arid Environments* 61 : 47-59.
- Ker A, 1995. Farming Systems in the African Savanna. A continent in crisis. International Development Research Center (IDRC), Ottawa.
- Kowalchuk GA, Stientra AW, Heilig GHJ, Stephen JR, Woldendorp JW, 2000. Changes in the community structure of ammonia-oxidizing bacteria during secondary succession of calcareous grasslands. *Environmental Microbiology*, 2: 99-110.
- Lal R, 1998. Soil erosion impact on agronomic productivity and environment quality. *Crit. Rev. Plant Sci.*, 17 : 319-464.
- Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N, 2009. Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 75: 5111-20.
- Maignien R, 1965. Carte pédologique du Sénégal. Notice explicative en 1/1000000. ORSTOM, Dakar, Senegal.
- Marschner P, Kandeler E, Marschner B, 2003. Structure and fonction of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biol. Bioch.*, 35 : 453-461.
- Mustin M, 1987. Le compost – gestion de la matière organique. Editions François Dubusc – Paris.954p.
- Muyzer GT, Brinkhoff U, Nübel C, Santegoeds H, Schäfer C, Wawer, 1997. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology. In: Akkermans, A.D.L., van Elsas, JD, De Bruijn, FJ (eds), *Molecular Microbial Ecology Manual*, Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands: pp. 1-27.
- Ovreas L, Forney L, Daae FI, Torsvik V, 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

- Pontanier R, Kotto-Same, 1982. Carte Des ressources en sols de quatre zones test du Nord Cameroun (Babouri, Gawar, Mogodé, Magoumaz). IRA Nkolbisson, Yaoundé, 97 p.
- Porteous LA, Seidler RJ, Watrud LS, 1997. An improved method for purifying DNA from soil for polymerase chain reaction amplification and molecular ecology applications. *Molecular Ecology* 6: 787-791.
- Sundarapandian SM, Swamy PS, 1999. Litter production and leaf litter decomposition of selected tree species in tropical forests at Kodoyar in the Western Ghats, India. *Forest Ecology and Management*, 123: 231-244.
- Tittonell P, Muriuki A, Klapwijk CJ, Shepherd KD, Coe, 2013. Soil Heterogeneity and Soil Fertility Gradients in Smallholder Farms of the East African Highlands. *Soil Science Society of America Journal*, 525 – 538 pp.
- Trinsoutrot I, Recous S, Bentz B, Lineres M, Cheneby D, Nicolardot B, 2000. Biochemical quality of crop residues and carbon and nitrogen mineralization kinetics under nonlimiting nitrogen conditions. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 64: 918–926.
- Vanlauwe B, Zingore S, 2010. Integrated soil fertility management: Operational definition and consequences for application and dissemination. *Outlook Agric.* 39:17–24.
- Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ, 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proceedings of National Academic of Science of the United States of America*, 95: 6578-6583.
- Young A, 1989. *Agroforestry for soil conservations*. CAB International, London (ICRAF Science and practice of Agroforestry n° 4).
- Brabant P, Gavaud M, 1985. Les sols et ressources en terres du Cameroun. Provinces du Nord et de l'Extrême Nord. Collection notice explicative N° 103, ORSTOM, Paris, 285P.
- Mustin M, 1987. Le compost : gestion de la matière organique. François Dubusc, Paris 354P.
- Pontanier R, Kotto-Samé, 1982. Carte des ressources en sols de quatre zones test du nord Cameroun (Babouri, Gawar, Mogodé, Magoumaz). IRA Nkolbisson, Yaoundé, 97 P.