



HAL
open science

Impact de pratiques agricoles conventionnelles et innovantes sur la fertilité des sols et les acteurs microbiens impliqués dans la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire

Embi Féline Laurenza Assemien

► **To cite this version:**

Embi Féline Laurenza Assemien. Impact de pratiques agricoles conventionnelles et innovantes sur la fertilité des sols et les acteurs microbiens impliqués dans la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire. Biochimie [q-bio.BM]. Université de Lyon; Université Nangui Abrogoua (Abidjan), 2018. Français. NNT : 2018LYSE1103 . tel-01896147

HAL Id: tel-01896147

<https://theses.hal.science/tel-01896147>

Submitted on 15 Oct 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.



N°d'ordre NNT : 2018LYSE1103

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein des
Universités Claude Bernard de Lyon 1 et Nangui Abrogoua

Ecole Doctorale N° 341

EVOLUTION, ECOSYSTEMES, MICROBIOLOGIE, MODELISATION (E2M2)

Spécialités : « Ecologie des communautés, fonctionnement des écosystèmes, écotoxicologie » et « Biochimie et Technologie des Aliments »

Disciplines : Biologie et Biochimie

Présentée par :

Embi Féline Laurenza ASSEMIEN Epouse ACHI

Impact de pratiques agricoles conventionnelles et innovantes sur la fertilité des sols et les acteurs microbiens impliqués dans la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire

Thèse dirigée par Xavier LE ROUX et Jean Tia GONNETY

Soutenue le 12 juillet 2018 devant le jury composé de :

Mme Lydie CHAPUIS-LARDY	Chargée de Recherches – IRD/Montpellier	Rapporteure
Mme Adèle KACOU-N'DOUBA	Professeure des Universités – UFHB/Abidjan	Examinatrice
Mr Daniel PRAT	Professeur des Universités – UCBL/Lyon 1	Examinateur
Mr Ibrahim KONATE	Maître de Conférences – UJLoG/Daloa	Rapporteur
Mr Xavier LE ROUX	Directeur de Recherche – CNRS/INRA Lyon 1	Co-Directeur de thèse
Mr Jean Tia GONNETY	Maître de Conférences – STA/UNA Abidjan	Co-Directeur de thèse

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Président du Conseil Académique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil Formation et Vie Universitaire

Vice-président de la Commission Recherche

Directrice Générale des Services

M. le Professeur Frédéric FLEURY

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Didier REVEL

M. le Professeur Philippe CHEVALIER

M. Fabrice VALLÉE

Mme Dominique MARCHAND

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles
Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie
Humaine

Directeur : M. le Professeur G.RODE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. X. PERROT

Directeur : Mme la Professeure A-M. SCHOTT

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. THEVENARD

Directeur : Mme C. FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur G. TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. le Professeur J-C PLENET

Directeur : M. Y.VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. le Professeur E.PERRIN

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE

DEDICACE

Je dédie ce mémoire à Dieu, Esprit Saint, le roc sur qui j'ai fondé ma vie et sans qui je n'aurais pu atteindre ce niveau d'étude.

Je dédie aussi ce travail à :

- mon père, Feu André ASSEMIEN qui s'est battu nuit et jour pour mon bien être et mon épanouissement ; Sache que tu resteras à jamais dans nos cœurs ;*

- ma mère SIKA Christine Epouse ASSEMIEN, mon modèle de femme et de réussite ;*

- mon merveilleux époux Steeven ACHI qui a toujours cru en moi et qui m'a aidé à supporter mes moments d'incertitudes ;*

- mes frères Elphège et Brice ASSEMIEN pour leurs encouragements ;*

- mes sœurs Roselyne, Aurélie, Mélissandre et Murielle ASSEMIEN pour leur tendresse et leur amour ;*

- Toutes les personnes pour qui j'ai une affection particulière ;*

Prions tous, Dieu, Esprit Saint, pour qu'il nous garde, nous préserve de tout malheur et bénisse le fruit de notre dur labeur

REMERCIEMENTS

Les institutions

L'essentiel de ces travaux de thèse ont été réalisés dans le cadre du projet «Valorisation des jachères à base de *Chromolaena odorata* par la pratique d'une agriculture soutenable dans la zone des savanes humides en Côte d'Ivoire». Je voudrais remercier les autorités administratives et scientifiques du Programme d'Appui à l'Enseignement Supérieur des pays membres de l'Union Economique et Monétaire des pays membres de l'Afrique de l'Ouest (PAES-UEMOA), notamment le Docteur Gonnety Tia Jean, Coordonnateur de ce projet pour les moyens déployés pour la réalisation de ces travaux.

Je remercie également le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de Côte d'Ivoire, pour le financement de ma bourse de thèse qui s'inscrit dans le cadre du projet d'Appui à la Modernisation et à la Réforme des Universités et Grandes Ecoles de Côte d'Ivoire, contrat de désendettement (AMRUGE-CI-C2D). A cet effet, je tiens à remercier Madame N'Takpé Juliette du Service de Coopération de l'Ambassade de France en Côte d'Ivoire (SCAC) et Campus France Paris pour la gestion parfaite de ces alternances.

Je tiens à adresser mes remerciements à Monsieur Tano Yao, Professeur Titulaire et Président de l'Université Nangui Abrogoua (UNA), pour avoir accepté mon inscription au sein de l'UFR des Sciences et Technologies des Aliments.

Je remercie Monsieur Bohoua Guichard, Vice-Président de l'Université Nangui Abrogoua, chargé de la pédagogie et le Docteur Assemand Emma Epouse Koffi, Maître de Conférences, Doyen de l'UFR des Sciences et Technologies des Aliments, pour leur disponibilité à chaque fois que j'ai eu à les solliciter pour des questions administratives.

Cette thèse est également l'aboutissement d'un travail auquel ont contribué plusieurs personnes et autres institutions auxquelles je voudrais signifier toute ma reconnaissance.

Je commencerai par remercier le Docteur Gonnety et le Docteur Le Roux qui m'ont fait confiance pour la réalisation de ces travaux.

Docteur Gonnety, Maître de Conférences à l'Université Nangui Abrogoua, est directeur de ma thèse. Avec des mots simples mais remplis d'une profonde gratitude, je tiens à vous exprimer ma reconnaissance pour ces 4 années de thèse sous votre encadrement. Je ne cesserai de vous remercier pour m'avoir fait découvrir l'univers de la recherche, ainsi que le métier

d'enseignant-chercheur. J'ai beaucoup appris sur la rédaction et la création de projet de recherche grâce à vous. Votre disponibilité, votre savoir-faire, vos conseils, m'ont permis de réaliser cette thèse dans les meilleures conditions. La compétence, la patience, l'enthousiasme et l'attention particulière avec laquelle vous avez suivi et dirigé ce travail ont permis son aboutissement à temps.

Un spécial merci à Monsieur Le Roux Xavier, Directeur de Recherche à l'INRA (France), qui a accepté de codiriger ma thèse. De vous Docteur Xavier, j'ai acquis une méthodologie de travail. Vous n'avez cessé de mettre la barre haute durant toutes ces 4 années afin que je donne le meilleur de moi face à chaque défi à relever. Je vous remercie de m'avoir accompagné durant ces quatre années. Je ne cesserai de vous dire ma phrase fétiche « Dr Xavier, j'aime travailler avec vous ». Merci pour tout !

Je tiens à remercier Monsieur Konaté Ibrahim, Maître de Conférences à l'Université Jean Lorougnon Guédé (Daloa, Côte d'Ivoire), Monsieur Kouassi Kouadio Ignace, Maître de Conférences à l'Université Nangui Abrogoua (Abidjan, Côte d'Ivoire), et Madame Chapuis Lydie Epouse Lardy, Chargée de Recherche (HDR, Université de Bourgogne) à l'Institut de Recherche et de Développement (IRD), (Dakar, Sénégal) pour m'avoir fait l'honneur d'accepter d'être les rapporteurs de mon travail. (*Merci pour votre disponibilité, pour la lecture de ce mémoire et aussi d'avoir accepté de juger cette thèse*). Je sais tout particulièrement gré aux examinateurs de ma thèse pour leur lecture scrupuleuse du manuscrit, leurs suggestions avisées et leurs remarques constructives.

En France

J'en profite pour remercier Monsieur Cordey Fabrice, ex-Directeur de l'Ecole doctorale Evolution Ecosystèmes Microbiologie Modélisation (E2M2) et Madame Reverchon Sylvie sa directrice adjointe, merci pour vos efforts d'intégration des étudiants étrangers.

Je tiens à remercier les membres de mon comité de suivi de thèse : Docteur Trinsoutrot-Gattin Isabelle, Docteur Thioulouse Jean, et Docteur Fromin Nathalie, qui ont suivi le déroulement de ces 4 ans de thèse. Je les remercie pour leurs conseils et leurs remarques pertinentes.

En Côte d'Ivoire

J'exprime toute ma reconnaissance et gratitude à l'administration et à l'ensemble du corps enseignant de l'Université Nangui Abrogoua, notamment à ceux de l'UFR-STA pour leurs efforts à nous garantir la continuité et l'aboutissement parfait de nos travaux.

Je remercie le Docteur Gauzé Touao Martine, Directrice du Centre de Recherche en Ecologie de l'Université Nangui Abrogoua (Abidjan, Côte d'Ivoire) pour m'avoir accordé l'accès au laboratoire des sols. Je tiens à lui témoigner mon admiration sur sa manière de diriger son équipe : toujours disponible, attentive à ses étudiants et capable d'autant de sérieux que d'humour.

Je remercie Monsieur Ahonzo Niamké Sébastien, Professeur titulaire de Biochimie, Directeur du laboratoire de biotechnologies de l'UFR des Biosciences de l'Université Félix Houphouët Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire) pour ses encouragements et sa disponibilité.

Merci à Monsieur Goné Droh Lanciné, Professeur titulaire d'hydrogéochimie, Doyen de l'UFR des Sciences et Gestion de l'Environnement (SGE) pour ses conseils scientifiques et ses encouragements.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui m'ont permis d'arriver ici aujourd'hui, en particulier mes différents encadrants de stage de Maîtrise et/ou de DEA qui m'ont fait découvrir la recherche. Un grand merci aux Professeurs Kouamé Patrice et Tondôh Jérôme, pour leur encadrement pendant mes stages de Maîtrise et DEA. Il m'est particulièrement agréable de vous remercier pour m'avoir accepté dans vos équipes de recherche respectives et détecté en moi les aptitudes à faire une thèse.

Mes sincères remerciements vont également à l'endroit du Professeur Angui Pascal et à tous les chercheurs associés du projet *Chromolaena odorata* pour leur gentillesse et leur aide.

Grand merci aux Docteurs Faulet Betty Epouse Ahonzo et Ahi Amedée (Maîtres de Conférences), pour m'avoir permis de squatter leur bureau, pour les bons petits plats offerts, pour votre soutien indéfectible et vos conseils. Sans oublier les docteurs Gnangui Sophie, Kimsey Moussa, Bléhéré Mathieu, Dan Chiepo, HOUNGBEDJI Clarisse, Soro Chantal, Aka Solange, Koffi Kevin, Kouakou Laurent, Kouamé Morton, Meledje Herman, Koffi Firmin et Kouadio Nelly que je remercie très chaleureusement pour l'aide précieuse qu'ils m'ont apporté tout au long de ce travail. Evidemment merci aux Docteurs Koné Armand et Edoukou Flavien qui m'ont fait découvrir et aimer l'écologie des sols avec beaucoup de pédagogie et qui m'ont ensuite encouragée à continuer sur cette voie.

Les plate formes

J'ai également travaillé sur la plate forme AME (Activités Microbiennes dans l'Environnement) au Laboratoire d'Ecologie Microbienne (Lyon, France) et je tiens à remercier le Docteur Poly Franck pour son accueil, ses conseils et sa gentillesse. Je remercie également, les techniciens Madame Guillaumaud Nadine et Monsieur Gervais Jonathan.

Un grand merci à Madame Lerondelle Catherine, pour avoir travaillé sur la plate forme BIOMOL (Biologie Moléculaire) et pour m'avoir appris les bases de la biologie moléculaire et notamment la technique d'extraction de l'ADN des microorganismes du sol jusqu'à la réalisation des qPCR, je tiens à lui dire merci pour sa grande disponibilité et sa sympathie.

Je tiens à remercier la plate forme iBIO particulièrement Monsieur Abrouk Danis et Madame Dubost Audrey qui m'ont énormément aidé dans l'analyse du séquençage et Docteur Pommier Thomas pour son appui technique inestimable pour l'aspect diversité des communautés microbiennes du cycle de l'azote de ma thèse. Merci pour sa grande disponibilité, ses conseils et sa sympathie.

Je souhaite remercier la plate forme serre et chambres climatiques de l'Université Claude Bernard de Lyon 1, particulièrement à ses responsables Docteur Bertolla Franck et Madame Lacroix Elise pour leur implication personnelle dans la bonne conduite de mes manipulations en serre.

Les laboratoires

Les travaux de recherche ont été réalisés au sein de l'UMR 5557 de Lyon, je voudrais dire merci à son Directeur, Monsieur Moenne-Loccoz Yvan, Professeur des Universités pour m'avoir accueilli. L'UMR a également financé ma participation à un congrès scientifique international à Montpellier (France). Je veux dire merci à chaque membre du personnel administratif et technique et à tous les non permanents de cette UMR pour la bonne qualité de nos relations, pour leur sympathie, ainsi que toutes les personnes qui travaillent dans ce laboratoire pour leur précieuse aide. Ils ont tous contribué largement à la réussite de cette thèse. Merci particulièrement à Bigai Betty, Boulanger Dominique, Delorme Christine, Sannaire Corinne, Puij Pierre, pour leur aide. Sans oublier mes amis de Lyon, Guillaume, Lise, Yoann, Marine, Aurélie. Merci pour tout!

Je n'oublie pas le laboratoire de chimie du Centre Suisse de Recherche Scientifique d'Abidjan (Côte d'Ivoire), au niveau duquel, je remercie Docteur Nindjin Charlemagne, Messieurs Touré Sadikou, Assamoi Jean-Baptiste, Bli Nestor et Madame Irié Liliane.

Je remercierai également Docteur Laurent Simon, Maître de Conférences au Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels et Anthropisés (LEHNA–UMR 5023 Université Lyon 1 CNRS, France), pour m'avoir permis d'y réaliser des expérimentations.

Je remercie les étudiants du laboratoire de biocatalyse et de bioprocédés Sinh Noelline, Topka Aline, Oyou Theodore, Amélie Amessan, Zran Philomène, N'Guessan Tatiana, Kassi Yeboua et spécialement Tano Ekra, Gozanty Jean-Emmanuel et N'Guessan Arlette, pour leur contribution à la réalisation de ce travail. Que Dieu vous comble de ses bienfaits.

Les équipes de recherche

Une grande partie des expérimentations en laboratoire de ces travaux de thèse ont réalisés grâce aux moyens financiers additionnels de l'équipe 5 (Diversité fonctionnelle et cycle de l'Azote) du Laboratoire d'Ecologie Microbienne de Lyon (France, UMR 1418 INRA, UMR 5557 CNRS). A cet effet, je voudrais ainsi exprimer toute ma gratitude aux premiers responsables de cette équipe de recherche ainsi qu'à l'ensemble de ses membres pour leurs conseils et les encouragements qu'ils m'ont apportés durant cette thèse.

J'exprime tout d'abord ma profonde gratitude à Monsieur Pommier Thomas, Chargé de Recherche à l'INRA, co-responsable avec Monsieur Le Roux Xavier de l'Equipe 5 (Diversité fonctionnelle microbienne et cycle de l'azote du laboratoire d'écologie microbienne de l'UMR 5557), et tous les membres de l'équipe 5 (Farhan, Julien, Charline, Alessandro, Huong, Tania, Marie, Sonia, Nadine, Clément, Jonathan, Amélie, Zahar, Cathérine, Agnès, Franck, Thomas) pour leur accueil et leur aide.

J'associe à ces remerciements tous les membres des équipes de recherche du laboratoire de Biocatalyse du laboratoire de Biochimie et des Bioprocédés (Professeurs Dabonné Soumaïla, Kouadio Parfait et Docteurs Koné Frankroma, N'Dri Aurélie, Djina Yves) de l'Université Nangui Abrogoua.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	i
REMERCIEMENTS.....	ii
TABLE DES MATIERES.....	vii
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	xv
RESUME.....	xx
ABSTRACT.....	xxi
LISTE DES ABREVIATIONS.....	xxii
INTRODUCTION GENERALE.....	1
PARTIE A : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	6
I. Notions d’agriculture traditionnelle, agriculture conventionnelle, agriculture alternative.....	7
I.1. Agriculture traditionnelle : Cas de l’agriculture itinérante sur brûlis.....	7
I.2. Agriculture conventionnelle.....	9
I.2.1. Agriculture conventionnelle à base de Produits Résiduaire Organiques (PRO).....	9
I.2.2. Agriculture conventionnelle à base de fertilisant chimique.....	10
I.3. Agriculture alternative : Cas de l’agriculture de conservation.....	15
I.3.1. Pratique générale de la jachère et jachère à base de <i>Chromolaena odorata</i>	16
I.3.1.1. Pratique générale de la jachère.....	16
I.3.1.2. Jachère à base de <i>Chromolaena odorata</i>	16
I.3.2. Rotation culturale.....	17
I.3.3. Paillage ou mulching.....	19
I.3.4. Biofertilisants.....	20
I.3.4.1. Définition.....	20
I.3.4.2. Différents types de biofertilisants utilisés en agriculture de conservation.....	20

I.3.4.2.1. Biofertilisants à base des bactéries fixatrices d'azote	21
I.3.4.2.2. Biofertilisants à base des bactéries solubilisatrices des éléments minéraux :	
*exemple des bactéries solubilisant le silicate.....	21
*exemple des bactéries solubilisant le phosphate.....	21
I.3.4.2.3. Biofertilisants à base de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes.....	22
I.3.4.2.4. Biofertilisants à base des champignons mycorhiziens arbusculaires.....	22
II. Enzymes du sol et leur importance dans l'agroécosystème.....	23
II.1. Phosphatases.....	24
II.1.1. Phosphatases acides.....	26
II.1.2. Phosphatases alcalines.....	27
II.2. Glycosidases.....	27
II.2.1. β -Glucosidase.....	28
II.2.2. N-acétyl- β -D-Glucosaminidase.....	29
II.3. Déshydrogénase	30
III. Activités enzymatiques et communautés microbiennes du cycle de l'azote.....	31
III.1. Cycle de l'azote et de ses principaux processus.....	31
III.1.1. Cycle de l'azote dans les écosystèmes terrestres.....	31
III.1.2. Limitation du fonctionnement et de la production primaire par l'azote du sol dans la zone de savanes humides en Afrique de l'Ouest.....	36
III.2. Communautés microbiennes du sol impliquées dans des étapes clés du cycle de l'azote.....	36
III.2.1. Ecologie des communautés ammonifiantes du sol.....	36
III.2.2. Ecologie des communautés nitrifiantes du sol.....	37
III.2.3. Ecologie des communautés dénitrifiantes du sol.....	40
III.2.4. Ecologie des communautés fixatrices du diazote du sol.....	42
IV. Estimation de l'abondance de séquences de gènes microbiens	44
IV.1. ADN environnementale.....	44

IV.1.1. Définition et historique.....	45
IV.1.2. Persistance.....	45
IV.1.3. Importance et application en microbiologie du sol.....	45
IV.2. PCR quantitative (qPCR).....	46
IV.2.1. Définition.....	46
IV.2.2. Historique.....	46
IV.2.3. Importance et application en microbiologie du sol.....	46
PARTIE B : SITE D'ETUDE, MATERIEL ET CHOIX METHODOLOGIQUE.....	48
I. Présentation de la mise en place des expérimentations.....	49
I.1. Localisation de la zone d'étude.....	49
I.2. Caractéristiques du milieu naturel de la zone d'étude.....	49
I.2.1. Climat.....	49
I.2.2. Humidité de l'air.....	52
I.2.3. Température.....	53
I.3. Végétation.....	53
I.4. Pédologie.....	54
II. Matériel végétal et choix méthodologiques.....	54
II.1. Matériel végétal.....	54
II.2. Choix méthodologiques.....	55
II.2.1. Enquête et sélection des parcelles paysannes.....	55
II.2.2. Délimitation des parcelles.....	55
II.2.3. Dispositif expérimental.....	56
II.2.4. Préparation des parcelles et semis des cultures.....	59
II.2.4.1. Préparation des parcelles.....	59
II.2.4.2. Semis des cultures et entretien des parcelles.....	59
II.3. Stratégie d'échantillonnage du sol.....	62
III. Mesures des activités enzymatiques potentielles des sols.....	64
III.1. Activités phosphatasiques.....	64
III.2. Activités glycosidasiques.....	64
III.3. Activité déshydrogénasique.....	64

III.4. Activité nitrifiante.....	65
III.5. Activité dénitrifiante.....	66
IV. Mesure des paramètres édaphiques du sol.....	66
IV.1. Humidité du sol.....	67
IV.2. pH _{eau} du sol.....	67
IV.3. Concentration en ammonium, nitrite, nitrate du sol.....	67
IV.4. Phosphore assimilable.....	67
IV.5. Carbone organique et azote total du sol.....	68
IV.6. Composition en minéraux du sol.....	68
V. Mesures des paramètres chimiques des plantes.....	68
V.1. Détermination de la concentration d'azote dans les grains, les gousses, les feuilles, les tiges et les racines des cultures.....	68
V.2. Détermination des préférences nutritionnelles azotées de la variété de maïs étudiée.....	69
VI. Mesures des abondances et de la diversité des communautés nitrifiantes et dénitrifiantes.....	70
VI.1. Extraction et quantification de l'ADN des microorganismes du sol.....	70
VI.2. Quantification des abondances des nitrifiants et dénitrifiants du sol.....	70
VI.2.1. Quantification des abondances des nitrifiants du sol.....	70
VI.2.2. Quantification des abondances des dénitrifiants du sol.....	71
VI.3. Diversité microbienne des nitrifiants.....	72
VII. Analyses statistiques.....	73
PARTIE C : RESULTATS ET DISCUSSION.....	75
CHAPITRE I : Effet de la pratique de la jachère à base de <i>Chromolaena odorata</i> sur les caractéristiques chimiques et enzymatiques des sols.....	75
I.1. Introduction partielle.....	77
I.2. Résultats.....	77
I.2.1. Effet de la profondeur du sol sur les paramètres chimiques et les activités enzymatiques du sol.....	77

I.2.1.1. Analyse des paramètres chimiques et des activités enzymatiques en fonction de la profondeur du sol.....	78
I.2.1.2. Effet de la profondeur du sol sur les paramètres chimiques du sol.....	79
I.2.1.3. Effet de la profondeur du sol sur les activités enzymatiques....	81
I.2.2. Effet de la durée de la jachère sur les paramètres chimiques et les activités enzymatiques de l’horizon de surface du sol.....	82
I.2.2.1. Analyse des paramètres chimiques et des activités enzymatiques en fonction de l’âge des jachères.....	82
I.2.2.2. Effet de la durée de mise en jachère sur les paramètres chimiques du sol.....	83
I.2.2.3. Effet de la durée de mise en jachère sur les activités enzymatiques.....	86
I.2.3. Corrélations entre les paramètres chimiques et les activités enzymatiques du sol.....	87
I.3. Discussion.....	89
I.3.1. Effet de la profondeur du sol sur les propriétés chimiques et les activités enzymatiques du sol.....	89
I.3.2. Effet de la durée de la jachère sur les propriétés chimiques et les activités enzymatiques du sol.....	90
I.3.3. Relations entre les propriétés chimiques et les activités enzymatiques du sol.....	92
I.4. Conclusion partielle.....	94
CHAPITRE II : Effet des pratiques agricoles sur les nitrifiants du sol et leur rôle sur l’efficacité de la fertilisation chimique.....	96
II.1. Introduction partielle.....	96
II.2. Résultats.....	97
II.2.1. Effet des pratiques agricoles sur les variables édaphiques du sol après différents cycles de cultures.....	97
II.2.1.1. Humidité du sol.....	97

II.2.1.2. pH _{eau} du sol.....	98
II.2.1.3. Ammonium et nitrate du sol.....	98
II.2.2. Effets des pratiques agricoles sur l'activité nitrifiante potentielle du sol.....	100
II.2.2.1. Activité nitrifiante potentielle.....	100
II.2.2.2. Comparaison des effets de la fertilisation sur la nitrification avec des études sur d'autres agroécosystèmes.....	101
II.2.3. Effet des pratiques agricoles sur l'abondance des communautés nitrifiantes du sol.....	104
II.2.3.1. Abondance des archées et des bactéries oxydatrices de l'ammonium.....	104
II.2.3.2. Abondance des bactéries oxydatrices du nitrite.....	105
II.2.3.3. Relations entre les abondances des différents groupes microbiens oxydant l'ammonium et le nitrite.....	106
II.2.4. Diversité et phylogénie des bactéries nitrifiantes (AOB) du sol.....	107
II.2.5. Sensibilité de la nitrification à différents niveaux d'ammonium et lien avec la composition des communautés nitrifiantes du sol.....	108
II.2.6. Capacités d'absorption de N minéral de la variété de maïs.....	111
II.2.7. Concentration en N dans les feuilles, les tiges et les racines des plantes cultivées.....	111
II.3. Discussion.....	113
II.3.1. Réponse des nitrifiants des sols de la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire aux pratiques agricoles.....	113
II.3.2. Réponse de la nitrification et de l'abondance des groupes nitrifiants aux pratiques agricoles.....	115
II.3.3. Modification de la composition de la communauté nitrifiante suite à l'apport d'engrais.....	116
II.4. Conclusion partielle.....	118
CHAPITRE III : Effet des pratiques agricoles sur les dénitrifiants du sol et le risque de perte d'azote et d'émission de N₂O par dénitrification.....	120
III.1. Introduction partielle.....	120

III.2. Résultats.....	120
III.2.1. Principaux déterminants édaphiques du sol pilotant les abondances de chaque groupe de dénitrifiants.....	120
III.2.2. Influence de la concentration de nitrate sur le taux de dénitrification.....	124
III.2.3. Relation entre la production brute de N ₂ O et l'abondance des réducteurs de nitrite.....	125
III.2.4. Relation entre la production nette potentielle de N ₂ O et la DEA et l'abondance des réducteurs de N ₂ O.....	126
III.2.5. Vision synthétique des liens entre les productions brute et nette potentielles de N ₂ O, les abondances des groupes de dénitrifiants et les déterminants édaphiques du sol.....	127
III.2.6. Rapport de l'abondance totale des réducteurs de nitrite sur celle des réducteurs d'oxyde nitreux.....	129
III.3. Discussion.....	130
III.3.1. Quelles variables édaphiques déterminent l'abondance des dénitrifiants dans les sols cultivés du centre de la Côte d'Ivoire ?.....	130
III.3.2. Relation entre la production brute de N ₂ O et l'abondance des réducteurs de nitrite.....	132
III.4. Conclusion partielle.....	133

CHAPITRE IV : Effets des pratiques agricoles sur les paramètres chimiques et enzymatiques des sols.....135

IV. 1. Résultats.....	135
IV.1.1. Effets des traitements et des cycles de culture sur les paramètres chimiques.....	135
IV.1.1.1. Effets des traitements et des cycles de culture sur l'évolution des paramètres chimiques.....	135
IV.1.1.2. Discrimination des traitements en fonction des paramètres chimiques.....	138

IV.1.2. Effets des traitements et des cycles de culture sur les activités enzymatiques du sol.....	139
IV.1.2.1. Effets des traitements et des cycles de culture sur l'expression des activités enzymatiques.....	139
IV.1.2.2. Discrimination des traitements en fonction des activités enzymatiques.....	142
IV.1.3. Relations entre les activités enzymatiques et les variables édaphiques du sol.....	143
IV.3. Discussion.....	145
IV.3.1. Impact des traitements et des cycles de culture sur les caractéristiques chimiques et enzymatiques du sol.....	145
IV.3.2. Relation entre les caractéristiques chimiques et biochimiques du sol	151
IV.4. Conclusion partielle.....	154
PARTIE D : CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	156
V. Conclusion générale et perspectives.....	157
VI. Références bibliographiques.....	162
VII. Annexe.....	204

TABLE DES ILLUSTRATIONS

FIGURES

Figure 1 : Comparaison de l'utilisation d'engrais entre grandes régions à l'échelle mondiale.....	11
Figure 2 : (a) Cycle de l'azote (N) et différents processus microbiens.....	33
et (b) Cycle de l'azote (N) et gènes impliqués.....	34
Figure 3 : Image montrant l'emplacement de la zone d'étude en Côte d'Ivoire (ville de Toumodi) et emplacement des sites d'étude dans la zone.....	49
Figure 4 : Diagramme ombrothermique de la région de Lamto sur les 3 années d'expérimentations : (a) 2013; (b) 2014 ; (c) 2015.....	51
Figure 5 : Diagramme ombrothermique de la région de Lamto sur les 10 années avant l'étude (2002-2012).....	52
Figure 6 : Variation de la valeur moyenne mensuelle de l'humidité de l'air de la région de Lamto, pour la période 2002-2015.....	52
Figure 7 : Variation de la valeur moyenne mensuelle de l'air de la région de Lamto, pour la période 2002-2015.....	53
Figure 8 : Aperçu de la délimitation d'une parcelle de jachère à base de <i>Chromolaena odorata</i> âgée de 5 ans avant le semis et la mise en place des itinéraires agricoles.....	56
Figure 9 : Dispositif expérimental présentant la taille des sous-parcelles et les traitements appliqués : (a) Sol nu (témoin) + Maïs+Maïs+Maïs+Maïs ; (b) Brûlis+Maïs+Maïs+ Maïs+ Maïs (c) Mulch+Maïs+Maïs+Maïs+Maïs (d) Mulch+Maïs+Soja vert+ Maïs+Soja vert (e) Mulch+Maïs+niébé+Maïs+niébé (f) Sol nu+Maïs+(NPK+Urée)+ Maïs+ (NPK+Urée)+Maïs+ (NPK+Urée)+ Maïs+ (NPK+Urée).....	58
Figure 10 : Frise temporelle des différentes dates de prélèvement et de succession des cultures.....	60
Figure 11 : Aperçu de six sous-parcelles expérimentales (a) brûlis (b) maïs (c) niébé (d) soja vert (e) sol nu, et (f) fertilisé, 20 jours après les semis.....	60
Figure 12 : Vue d'ensemble des sous-parcelles expérimentales sur l'une des 9 parcelles lors du suivi et entretien des parcelles.....	62

Figure 13 : Aperçu de cultures de soja vert (a) et de niébé (b) se développant sur paillis de légumineuses (soja vert et niébé) 20 jours après le semis.....	62
Figure 14 : Technique de prélèvement du sol à l'aide d'une tarière.....	63
Figure 15 : Analyse en composantes principales (ACP) des profondeurs en fonction des cinq activités enzymatiques du sol et de sept paramètres chimiques des 9 parcelles de jachères à base de <i>Chromolaena odorata</i> (a) Cercle de corrélation et (b) projection des différents échantillons de sol dans le plan factoriel défini par les axes 1 et 2.....	77
Figure 16 : Variables édaphiques du sol des 9 parcelles de jachères à base de <i>Chromolaena odorata</i> en fonction de la profondeur du sol	80
Figure 17 : Activités des enzymes du sol des 9 parcelles de jachères à base de <i>Chromolaena odorata</i> en fonction de la profondeur du sol.....	82
Figure 18 : Analyse en composantes principales (ACP) des cinq activités enzymatiques du sol et des sept variables édaphiques des neuf parcelles de jachères à base de <i>Chromolaena odorata</i>	83
Figure 19 : Variables édaphiques du sol de neuf parcelles de jachères à base de <i>Chromolaena odorata</i> en fonction de la durée des jachères dans la strate 0-10 cm.....	85
Figure 20 : Activités des enzymes du sol des neuf parcelles de jachères à base de <i>Chromolaena odorata</i> en fonction de la durée de la jachère dans la strate 0-10 cm.....	86
Figure 21 : Teneur en eau gravimétrique du sol en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture.....	97
Figure 22: pH _{eau} du sol en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture.....	98
Figure 23 : Concentration en ammonium en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture.....	99
Figure 24 : Concentration en nitrate du sol en fonction des traitements après 5 cycles de culture.....	100

Figure 25 : Activité nitrifiante potentielle en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture.....	101
Figure 26: Comparaison des réponses de la nitrification à la concentration en ammonium du sol entre un sol tempéré cultivé et fertilisé, un sol de savane sud-africain, et le sol étudié....	102
Figure 27 : Comparaison des effets de la fertilisation azotée sur la nitrification rapportés pour différentes terres cultivées et prairies.....	103
Figure 28 : (a) Abondance des archées oxydant l'ammonium et (b) des bactéries oxydant l'ammonium en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture.....	104
Figure 29 : (a) Abondance des bactéries oxydatrices du nitrite du genre <i>Nitrospira</i> et (b) <i>Nitrobacter</i> en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture.....	105
Figure 30 : Corrélations entre les abondances des différents groupes nitrifiants.....	106
Figure 31 : Relations phylogénétiques entre les séquences <i>amoA</i> d'AOB issues des sols sous les six traitements après 5 cycles de culture.....	108
Figure 32 : Changement de la nitrification mesurée à un niveau moyen par rapport à un niveau bas d'ammonium, en fonction de la composition des communautés nitrifiantes.....	110
Figure 33 : Taux d'absorption de l'azote par les racines de maïs pour 2 concentrations en N minéral total de la solution où baignent les racines.....	111
Figure 34 : Concentration totale en azote des feuilles (haut), tiges (milieu) et racines (en bas) en fonction du traitement au 5 ^{ème} cycle (a) et après le 5 ^{ème} cycle (b) de culture	112
Figure 35 : Relation entre l'abondance des réducteurs de nitrite de type <i>nirK</i> et la concentration de carbone organique (a) et la teneur en eau du sol (b).....	123
Figure 36 : Relation entre l'abondance des réducteurs de nitrite de type <i>nirS</i> et la concentration de nitrate de sol (a) et la teneur en eau du sol (b).....	123

Figure 37 : Relation entre l'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux de type <i>nosZI</i> et la concentration en nitrate du sol.....	124
Figure 38 : Corrélation entre les taux de dénitrification mesurés pour deux concentrations différentes de nitrate de sol (10 et 50 ppm) après 5 cycles de culture.....	124
Figure 39 : Relation entre la DEA (production brute potentielle de N ₂ O) et l'abondance des réducteurs de nitrite de type <i>nirS</i>	125
Figure 40 : Relation entre la production nette potentielle de N ₂ O et la production brute potentielle de N ₂ O.....	126
Figure 41 : Résultats de l'approche de la modélisation basée sur les équations structurelles utilisées pour identifier les principaux déterminants édaphiques des abondances et de l'activité des dénitrifiants.....	128
Figure 42 : Modèles complets testés pour la modélisation basée sur les équations structurelles utilisée pour identifier les principaux déterminants édaphiques des abondances et de l'activité des dénitrifiants.....	129
Figure 43 : Comparaison du rapport entre l'abondance totale des réducteurs de nitrite (<i>nir_{tot}</i>) et l'abondance totale des réducteurs de N ₂ O (<i>nosZ_{tot}</i>) en fonction des traitements après 4 cycles de culture (a) et 5 cycles de culture (b).....	130
Figure 44 : Evolution des variables édaphiques du sol en fonction des traitements et des cycles de culture (a), (b), (c), (d), (e), (f) et (g).....	137
Figure 45 : Analyse en composantes principale (ACP) des sept variables édaphiques du sol en fonction des six traitements dans les 9 parcelles de jachères à base de <i>Chromolaena odorata</i> . (a) cercle de corrélation et (b) projection des différents échantillons de sol dans le plan factoriel de l'axe 1 et 2.....	138
Figure 46 : Evolution des activités enzymatiques impliquées dans cycle du Phosphore en fonction des traitements et des cycles de culture, (a) activité de la phosphatase acide (Pac) et (b) activité de la phosphatase alcaline (Pal).....	140
Figure 47 : Evolution de l'activité β -glucosidasique (β -glu) (a) et de l'activité déshydrogénasique (DH) (b) en fonction des traitements et des cycles de culture.....	141

Figure 48 : Evolution des activités enzymatiques impliquées dans le cycle de l'Azote en fonction des traitements et des cycles de culture ; (a) activité de la N-acétylβ-D-glucosaminidase (Nac), (b) activité nitrifiante (NEA) et (c) activité dénitrifiante (DEA).....141

Figure 49 : Analyse en composantes principales (ACP) réalisée à partir des sept activités enzymatiques du sol mesurées dans les sous-parcelles des six traitements en fonction des cycles de culture. (a) cercle de corrélation et (b) projection des différents échantillons de sol dans le plan factoriel de l'axe 1 et 2.....142

TABLEAUX

Tableau 1: Quantité d'engrais (kg par hectare de terres arables) utilisée en Côte d'Ivoire de 2004 à 2013.....11

Tableau 2: Synthèse des effets signalés de la fertilisation à long terme (c'est-à-dire plusieurs années) avec du N et / ou de l'urée minéral sur la nitrification dans les systèmes de culture et de pâturage.....14

Tableau 3: Relations entre les activités enzymatiques et les variables édaphiques du sol.....88

Tableau 4: Résultats de l'analyse des corrélations de Spearman observées entre la DEA, les abondances des 4 groupes de bactéries dénitrifiantes, et les variables édaphiques du sol.....122

Tableau 5: Corrélations entre les activités enzymatiques et les variables édaphiques.....144

ANNEXE

Annexe 1 : Coordonnées géographiques des parcelles d'étude.....205

RESUME

En Afrique de l'Ouest, les sols de savanes humides se caractérisent par des concentrations relativement basses de matières organiques, d'azote minéral, de phosphore et de cations basiques, ce qui limite la production primaire. Ce travail a analysé comment des changements particuliers dans les utilisations des terres peuvent influencer le fonctionnement et la fertilité des sols, pour *in fine* soutenir la production des agroécosystèmes dans cette zone de savane. Six différents types d'utilisation des terres sur 9 parcelles expérimentales répartis à l'échelle du paysage du centre-sud de la Côte d'Ivoire ont été comparés : (i) le brûlis comme pratique traditionnelle ; (ii) la fertilisation chimique comme pratique conventionnelle ; et le mulching comme pratique innovante, testée (iii) sans insertion de légumineuses ou (iv et v) avec insertion de niébé ou soja vert dans des cycles de rotations culturales ; (vi) le sol nu était considéré comme une situation de référence (le témoin). Le sol a été prélevé dans 54 sous-parcelles, avant et 3 fois après la mise en place des traitements. Sept activités enzymatiques (activités dénitrifiante, nitrifiante, β glucosidase, N-acétyl- β -D-glucosaminidase, phosphatase acide et alcaline, déshydrogénase) du sol, les principales variables édaphiques du sol (humidité, carbone organique, azote total, pH et Phosphore assimilable), l'abondance et la diversité des communautés microbiennes impliquées dans le cycle de l'azote (archées et bactéries oxydatrices de l'ammonium ; les genres *Nitrobacter* et *Nitrospira* qui jouent un rôle clé dans la production de nitrate ; les bactéries réductrices du nitrite porteuses des gènes *nirS* ou *nirK* ; et les bactéries réductrices du N₂O porteuses de gènes *nosZI* ou *nosZII*) ont été mesurées. Les résultats ont montré que (i) le C. org, le K, le Mg et les activités enzymatiques du sol ont diminué avec la profondeur du sol, indiquant un faible taux d'accumulation d'éléments nutritifs dans les profondeurs les plus importantes du sol. Par ailleurs, les durées de jachère (0 à 10 ans) n'ont pas significativement affecté la majorité des propriétés du sol, à l'exception de l' N_{tot} et du K du sol qui étaient élevés dans les vieilles jachères. De plus, le C. org a diminué lorsque la durée de la jachère augmentait tandis que le Mg a suivi une tendance inverse ; (ii) le type d'utilisation des terres a affecté fortement la plupart des activités enzymatiques du sol et les communautés microbiennes impliquées dans le cycle de l'azote ; (iii) les pratiques de mulching pourraient avoir un impact positif sur les caractéristiques du sol et les communautés microbiennes, avec pour conséquence le renforcement de la fertilité des sols et la durabilité de la production agricole à long terme. D'après les résultats obtenus, la pratique de paillage, possiblement avec insertion de légumineuses, pourrait être plus adaptée et moins onéreuse pour augmenter progressivement et de façon durable la disponibilité en azote dans ces agroécosystèmes.

Mots clés : savanes humides, *Chromolaena odorata*, microorganismes du sol, enzymes du sol, légumineuses, paillis

Abstract

In West Africa, humid savanna soils are characterized by extremely low concentrations of organic matter, mineral nitrogen, phosphorus and basic cations, which limit primary production. We analyzed how particular changes in land-uses can influence the functioning and fertility of soils, to support the production of agroecosystems in this savanna zone. We compared six land-use types at 9 experimental plots across a landscape: traditional slash-and-burn; conventional chemical fertilization; and innovative use of mulching (tested with or without inserting legumes in the crop rotation). Bare soil was also considered as a reference situation. Soil was sampled on the 54 sub-plots, before and 3 times after treatment inception. We surveyed seven soil enzyme activities (denitrification, nitrification, β -glucosidase, N-acetyl- β -D-glucosaminidase, acid and alkaline phosphatase, dehydrogenase), key soil variables (moisture, organic C, mineral and total N, pH, and available P) and the abundances and diversity of microbial communities involved in the N cycle (archaeal and bacterial ammonia oxidizers; *Nitrobacter*; *Nitrospira*; and *nirS*-, *nirK*- and *nosZ*-like denitrifiers). Our results showed that (i) Soil Organic C, K, Mg and soil enzymes activities decreased with soil depth, reflecting a low rate of nutrient accumulation in soil depth. In contrast, fallow periods (0 to 10 years) did not significantly affect the majority of soil properties, excepted soil N_{tot} and K, which were high in old fallows. In addition, Soil Organic C decreased as a function of the fallow period, but Mg follow-up an inverse trend; (ii) the land use type strongly affects most soil enzymatic activities and the microbial communities involved in nutrient cycling; (iii) innovative mulching practices have a positive impact on soil characteristics and microbial communities, thereby maintaining the maintenance of soil fertility and the sustainability of agricultural production in the long term. According to our results, the practice of mulching, possibly with the insertion of legumes, could be more appropriate to progressively and sustainably increase nitrogen availability in these agro-ecosystems.

Keywords: humid savana, *Chromolaena odorata*, soil microorganisms, soil enzymes, leguminous, mulch

LISTE DES ABREVIATIONS

ANADER :	Agence d'Appui au Développement Rural
AOA :	<i>Ammonia-Oxidizing Archaea</i> (Archées oxydatrices de l'ammonium)
AOB :	<i>Ammonia-Oxidizing Bacteria</i> (Bactéries oxydatrices de l'ammonium)
bMM:	Sol nu + maïs- maïs- maïs
Cm:	Centimètre
Cmol :	Centimole
°C:	Degré Celsius
CNRA :	Centre National de Recherche Agronomique
DEA :	<i>Denitrification Enzymatic Activity</i> (activité enzymatique dénitrifiante)
DO:	Densité optique
fMM:	Sol nu + engrais+ maïs- maïs- maïs
g :	Gramme
gps :	global position system
Kg :	Kilogramme
M :	Molaire
mg:	Milligramme
ml:	Millilitre
mM :	millimolaire
mMB:	mulch + maïs- niébé- maïs- niébé
mMM	mulch + maïs-maïs-maïs-maïs
mMS:	mulch + maïs- soja vert-maïs-soja vert
NEA :	<i>Nitrification Enzyme Activity</i> (activité enzymatique nitrifiante)
NOB :	<i>Nitrite Oxydizing Bacteria</i> (bactéries oxydatrices du nitrite)
NMDS :	<i>Non-Metric multi-Dimentional Scaling</i> (analyses multidimensionnelles non paramétriques)
OTU :	<i>Operational Taxonomic Unit</i> (unité taxonomique opérationnelle)
p/v :	Poids / Volume
PO :	Phosphore organique

PGPR : *Plant growth-promoting rhizobacteria* (rhizobactéries favorisant la croissance de plantes)

pH : Potentiel d'hydrogène

pNP : *para*-nitrophénol

ppm : partie par million

qPCR : *quantitative Polymerase Chain Reaction* (amplification en chaîne par polymérase quantitative)

sMM: Brûlis+ maïs- maïs- maïs

T: Température

µg : Microgramme

UI : Unité Internationale

µl : Microlitre

Introduction générale

Introduction

Les rythmes de croissance de la population mondiale ne cessent d'augmenter et le scénario moyen prévoit que cette population atteindra près de 10 milliards de personnes en 2050, soit une augmentation de près de 30 % par rapport aux 7,55 milliards relevés en 2017 (Catalan, 2017). Cet accroissement très rapide de la population, touche surtout les pays en voie de développement. En Côte d'Ivoire, les bases de données démographiques de l'Organisation des Nations Unies, ont estimé qu'en 2040, la population ivoirienne aura dépassé 50 millions d'habitants (UN DESA, 2017). Pour nourrir cette population, il est impérieux d'accroître la production agricole afin d'atteindre l'autosuffisance et la sécurité alimentaire des populations. Selon la déclaration de Rome sur la sécurité alimentaire mondiale et le Plan d'action du Sommet mondiale de l'alimentation (FAO, 1996), le concept de la sécurité alimentaire trouve une définition adéquate lorsqu'aux niveaux individuel, familial, national, régional et mondial, tous les êtres humains ont, à tout moment, un accès physique et économique à une nourriture suffisante, saine et nutritive leur permettant de satisfaire leurs besoins énergétiques et leurs préférences alimentaires. Ceci leur est nécessaire pour mener une vie saine et active. La sécurité alimentaire est un concept qui recouvre quatre dimensions principales dont la première est en rapport avec la disponibilité en quantités suffisantes de nourriture de nature et de qualité appropriée. Par ailleurs, l'atteinte de la sécurité alimentaire passe d'abord par l'augmentation de la production agricole. En outre, la production alimentaire mondiale doit augmenter de 70 % pour pouvoir nourrir 2,3 milliards de personnes de plus d'ici à 2050 (FAO, 2009).

La Côte d'Ivoire dispose de ressources agraires susceptibles de soutenir une production agricole importante. Toutefois, la croissance démographique explosive a entraîné une augmentation de la pression sur les ressources agraires disponibles (Koné, 2009). La zone de contact forêt-savane communément appelée le "V Baoulé" ou zone préforestière était initialement une mosaïque de forêts galeries et de savanes humides herbeuses et boisées. Cette région est confrontée au manque de terres cultivables à cause du faible niveau de fertilité de la plupart des sols de savanes humides (Oorts *et al.*, 2003), l'augmentation de la croissance démographique de cette zone (+ 2,7 % par an, AIP 2013) et surtout des pratiques agricoles utilisées par les populations (Bouadi, 2009). En effet, la pratique traditionnelle de l'agriculture itinérante sur brûlis a entraîné la disparition des îlots de forêts et une expansion de la plante *Chromolaena odorata*. Cette plante adventice à tige ligneuse constitue une des espèces

dominantes des jachères naturelles dans la zone des savanes humides de la Côte d'Ivoire et est considérée comme une mauvaise herbe redoutable. Plusieurs travaux menés en Afrique et ailleurs, ont proposé des moyens pour son éradication à cause de ses dommages dans les champs et les plantations industrielles (Slaats, 1995 ; Goodall et Erasmus, 1996 ; Koutika et Rainey, 2010). Cependant, s'il est vrai que cette plante était autrefois considérée comme une peste dans cette zone, cette perception a changé puisque qu'elle est aujourd'hui utilisée comme un indicateur de la fertilité des sols par les paysans. En effet, ces derniers utilisent majoritairement les jachères à base de *Chromolaena odorata* pour établir leurs champs. Néanmoins, les sols de la zone restent toujours aussi peu fournis en N. Dans ce contexte, Koné *et al.* (2012a) ont évalué l'utilisation de quatre légumineuses herbacées (*Mucuna pruriens* (L.) DC., variété *utilis* ; *Pueraria phaseoloides* (Roxb.) Benth ; *Lablab purpureus* (L.) Sweet ; *Cajanus cajan* (L.) Millsp. (*C. indicus* Spreng) pour améliorer la fertilité des sols dans cette zone. Malgré les effets significatifs de ces légumineuses sur la fertilité des sols, les paysans ont du mal à utiliser les légumineuses de couverture dans la mesure où leur mise en place nécessite un temps de travail supplémentaire et un coût sans retombée directe en termes de production agricole à court terme. Face à ce constat, il est donc nécessaire d'expérimenter en milieu paysan des stratégies incluant l'intégration des légumineuses alimentaires, susceptibles de relever la production agricole en vue de contribuer à la sécurité alimentaire avec l'intérêt double; d'utiliser les légumineuses pour leur effet sur le cycle de l'azote, sur la fertilité sols, et la productivité du système les intégrant mais aussi les utiliser directement dans l'alimentation humaine. De plus, les sols de cette zone ont des teneurs relativement faibles en matières organiques, et sujets au phénomène d'érosion lors d'évènements pluvieux intenses (fréquents dans cette zone). L'utilisation de la technique de paillage mérite donc ici d'être explorée dans sa capacité à contribuer à l'amélioration de la fertilité du sol. **Cette thèse a pour objectif principal la caractérisation d'un ensemble de pratiques sur le fonctionnement biologique du sol et leurs incidences en termes de fertilité de sols. Dans le but d'évaluer les pratiques agricoles innovantes (utilisation du paillage et/ou insertion de légumineuses alimentaires) susceptibles de renforcer puis maintenir la fertilité des sols de la zone des savanes humides, en comparaison avec des systèmes traditionnels existants (pratique de jachère, culture sur brûlis) et du système d'agriculture plus intensive basée sur des apports de fertilisants chimiques.** Une approche systémique prenant en compte les principales composantes de la notion de la qualité du sol (qualité microbiologique, physico-chimique et enzymatique du sol) s'avère nécessaire pour

comprendre les mécanismes par lesquelles les légumineuses alimentaires améliorent la qualité des sols. Les potentialités des légumineuses alimentaires dans ce sens étant réelles (Bodovololona *et al.*, 2008).

La question générale de cette recherche se formalise de la manière suivante : Quels sont les impacts réels des pratiques agricoles dites innovantes et conventionnelles et faisant suite à un système de jachères à base de *Chromolaena odorata* sur la qualité des sols dans la zone des savanes humides de Côte d'Ivoire ? De cette question centrale se dégagent trois questions scientifiques majeures :

- (1) Quel est l'impact de la pratique de la jachère à base de *Chromolaena odorata* sur la fertilité des sols dans le contexte de la zone de savanes humides ?
- (2) La fertilisation chimique est-elle adaptée au contexte de la zone des savanes humides de la Côte d'Ivoire caractérisée par des sols à faible teneur en azote ?
- (3) Comment ces types de sol répondent aux pratiques agricoles innovantes (agriculture sur paillis et intégration des légumineuses) en termes d'amélioration et de maintien de la fertilité des sols ?

Pour répondre à ces interrogations, une expérimentation a été menée dans des parcelles paysannes disséminées à l'échelle d'un paysage en centre Côte d'Ivoire, aux alentours du village d'Ahérérou 2 dans la zone de contact forêt-savane (Toumodi, Côte d'Ivoire) en utilisant le maïs (*Zea mays L.*) comme culture test dans un système de rotation maïs/légumineuses alimentaires.

Cette étude s'appuie sur trois principales hypothèses :

- (i) Dans cette zone d'étude, il existe un temps de jachère optimal qui serait à favoriser pour la mise en culture des sols. Cette hypothèse est supportée par le fait que bien que les jachères à base de *Chromolaena odorata* aient des potentialités agronomiques (Edoukou *et al.*, 2013), l'amélioration qu'elles apportent aux paramètres de qualité des sols (qualité chimiques, qualité microbiologique, qualité biochimique, et qualité physique) de la zone des savanes humides de Côte d'Ivoire n'augmente pas simplement en fonction de la durée de mise en jachère (Edoukou *et al.*, 2013). De plus, l'impact de la durée de jachère peut varier en fonction des paramètres sol considérés (Edoukou, 2015). En général, les microorganismes du sol jouent un rôle fondamental dans la fertilité du sol (production des minéraux nécessaires à la plante : N, P, K, etc.). Aussi dans le cycle de l'azote, les microorganismes sont des acteurs du fonctionnement de ce cycle.

(ii) Dans les sols de la zone des savanes humides à faible niveau d'azote, les communautés nitrifiantes sont adaptées aux faibles niveaux d'azote : face à des apports de fertilisants chimiques, il est possible que ces communautés aient besoin de temps avant de devenir performantes à de plus fortes teneurs en azote. Cette hypothèse se base sur le fait que l'apport d'engrais chimique soit généralement reconnu pour son effet positif et immédiat sur la disponibilité en azote pour les cultures. Par ailleurs, il est possible que par le biais des microorganismes nitrifiants du sol, la nitrification limite durant un temps significatif d'un point de vue agronomique, la capacité du sol à transformer des apports d'ammonium et urée en nitrate, ce qui peut s'avérer problématique si la culture dépend principalement du nitrate pour sa nutrition azotée.

(iii) Dans les sols de savanes humides, la pratique du paillage couplée à la rotation maïs/niébé présente des caractéristiques de fertilité des sols très proches de ceux de la fertilisation chimique avec en plus une durabilité de ces systèmes même après 5 cycles de culture. Pour étayer cette hypothèse, il conviendrait de vérifier (i) que l'intégration des légumineuses alimentaires couplée à l'utilisation du paillis dans des systèmes de rotation des cultures pourrait contribuer de façon substantielle à améliorer et maintenir les paramètres de fertilité dans ces types de sols. (ii) que le niébé couplé au paillage de niébé est une pratique de gestion durable et est une bonne alternative à l'utilisation des engrais chimiques dans ces sols.

Le présent manuscrit est organisé en 4 parties :

La partie A est une synthèse bibliographique des informations relatives aux différents types d'agriculture, aux enzymes du sol et leur importance dans les agroécosystèmes et aux communautés microbiennes du cycle de l'azote.

De cet état de l'art découle la présentation du site, du matériel et des choix méthodologiques pour mener à bien ce travail qui constitue la partie B.

Dans la partie C, les résultats et la discussion sont présentés en 4 chapitres distincts.

La partie D, est une conclusion générale sur l'ensemble des résultats obtenus. A la lumière de cette conclusion, les recommandations ont été proposées et les perspectives de recherche les plus pertinentes ont été envisagées pour la suite de l'étude.

PARTIE A : Synthèse bibliographique

I. Notions d'agriculture traditionnelle, agriculture conventionnelle, agriculture alternative

I.1. Agriculture traditionnelle: Cas de l'agriculture itinérante sur brûlis

L'agriculture itinérante sur brûlis englobe tout système agraire dans lequel le feu est utilisé pour le défrichage des champs avant d'être cultivés d'une manière discontinue (Chaplot *et al.*, 2009). Cette pratique agricole historiquement répandue dans les régions tempérées (Goldhammer et Bruce, 2004 ; Jääts *et al.*, 2010) est la plus répandue dans les régions tropicales et subtropicales (Giardina *et al.*, 2000). L'agriculture itinérante sur brûlis implique des périodes de jachère régénératrice plus longues (Mitja et Puig, 1993) que la durée de mise en culture qui en général dépasse rarement trois années. Le nombre de personnes qui pratiquent ce type d'agriculture à travers le monde est estimé entre 200 et 500 millions (IRD, 2008). En fait, la pratique des feux de brousse pour le défrichage est courante dans les savanes africaines, en raison de l'inaccessibilité des paysans à un matériel adapté pour le travail de la terre, mais également en raison de variables classées selon des critères personnelles, sociales, économiques, institutionnelles, et physiques, basée sur la littérature du comportement d'adoption des agriculteurs (Adesina et Baidu-Forson, 1995 ; Pattanayak *et al.*, 2003 ; Mercer, 2004; Ellis, 2006). Cette pratique stimule l'amélioration rapide de la fertilité du sol, détruit les mauvaises herbes, réduit le risque de parasites et de maladies : c'est en fait une méthode simple et économique de nettoyage des parcelles (Jordan, 1989; Kato *et al.*, 1999). Elle se justifie d'une part par la diminution du travail, et d'autre part par son effet positif sur le pH du sol et sur la mise à disposition rapide des éléments minéraux contenus dans les cendres tels que Ca, Mg, K et P (Duponnois, 2012). Cet avantage majeur peut néanmoins être de courte durée si le système du sol n'est pas en mesure de stocker cette grande quantité d'éléments nutritifs solubles contre une possible perte par lessivage, écoulement et érosion pendant la phase de culture (Beliveau *et al.*, 2015). En fait, l'agriculture sur brûlis est une pratique durable du point de vue du bon fonctionnement de l'agroécosystème sous une très faible densité de population humaine (Juo et Manu, 1996). En effet, depuis le Sommet de la terre de Rio, en 1992, l'Organisation des Nations Unies (ONU) pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) estime que ce modèle agraire participe à la déforestation et au réchauffement climatique global en facilitant la fuite de carbone dans l'atmosphère. En effet, plusieurs études mettent en évidence les conséquences négatives de l'agriculture itinérante sur brûlis, notamment: les émissions de gaz à effet de serre, les maladies pulmonaires causées par la fumée, les dommages accidentels avec destruction de

cultures voire des habitations (Brady, 1996), la perte de biodiversité, le déboisement accéléré (Fearnside, 1991), ainsi que la perte accélérée de nutriments (98 % de N, 90 % de P, 54 % de K, 58 % de Ca, 69 % de Mg, 88 % de S) par volatilisation (Mackensen *et al.*, 1996) et par érosion des sols (Farella *et al.*, 2006). Bien que cette pratique contribue à un enrichissement du sol en éléments minéraux (Ca, K, Mg, P etc.), elle détruit considérablement la matière organique. Pourtant, la matière organique du sol contribue à la disponibilité des éléments minéraux et par conséquent à l'amélioration de la productivité et de la qualité des récoltes (Ibrahima *et al.*, 2010).

Si certains auteurs ont noté un effet perceptible et durable de l'enrichissement du sol dû aux cendres (Jordan, 1989; McGrath *et al.*, 2001), d'autres ont au contraire observé une diminution immédiate et forte des stocks d'éléments nutritifs du sol liée à la pratique du brûlis (Ghuman *et al.*, 1991). En plus des pertes majeures d'éléments nutritifs par volatilisation au cours de la combustion, les sols souffrent d'une diminution progressive de leurs réserves en éléments nutritifs en raison de : (1) la lixiviation lorsque l'entrée soudaine d'éléments nutritifs provenant des cendres ne peut pas être rapidement assimilée par les plantes (Sanchez *et al.*, 1983), et (2) l'augmentation de la vulnérabilité du sol à l'érosion et au ruissellement superficiel (Vezina *et al.*, 2006). L'équilibre en éléments nutritifs dans les systèmes traditionnels d'agriculture itinérante sur brûlis, qui intervient après l'abattage et le brûlage du couvert végétal, requiert de longues périodes de jachère, difficiles à maintenir dans le contexte actuel de forte pression démographique (Sommer *et al.*, 1999 ; Lawrence *et al.*, 2010).

Certaines études suggèrent que l'agriculture itinérante sur brûlis peut être associée à un mauvais rendement des cultures et à une dégradation rapide des sols (El Moursi, 1984 ; Christanty, 1986). En Côte d'Ivoire et principalement dans la zone de savanes humides, la pratique culturelle la plus répandue est la culture itinérante sur brûlis (Gautier, 1992; Kassi *et al.*, 2017), malgré les conséquences négatives de ce système pour le milieu naturel (destruction du couvert végétal, réduction de la diversité biologique de la macrofaune, etc.) (Koné, 2009). Dans cette région, les champs sont de préférence, établis dans les savanes les plus boisées, sur sols bien drainés ou dans les friches de *Chromolaena odorata*, plus riches en matière organique. Les zones de forêt sont ainsi réservées pour une exploitation médicinale ou économique (charbon de bois, grumes) ultérieure (Kouamé, 2007). De même, dans la plupart des parcelles défrichées et brûlées, certains arbres sont épargnés, parce que difficile à abattre, ou fournissant un ombrage léger qui ne gêne pas la culture, ou encore parce qu'ils présentent

un intérêt médicinale ou alimentaire (Gautier, 1992). Par ailleurs dans ce système, les terres "fatiguées" étaient autrefois mises en jachère naturelle pendant de longues années (10 à 30 ans) afin d'en restaurer la fertilité, mais la forte pression agraire, conséquence de la croissance démographique, a entraîné une réduction de cette durée à 4-5 ans (Gautier, 1992; Kouamé, 2007). Toutefois, lorsque les paysans manquent cruellement de terres cultivables, ils établissent les champs dans les massifs forestiers de haut de versant (Gautier, 1992). Dans cette zone d'étude, la pratique du brûlis permet de (1) débarrasser le sol des débris de défrichage, (2) recycler une partie des éléments nutritifs immobilisés par ceux-ci (recyclage qui passe également par la volatilisation de l'azote), (3) détruire les insectes nuisibles et les agents pathogènes, et (4) éliminer (au moins en partie) les graines des adventices (Gautier, 1992; Kouamé, 2007). De plus, lorsque les sols sont cultivés de façon continue pendant environ trois ans, leur remise en culture n'intervient pas avant une période de jachère.

I.2. Agriculture conventionnelle

I.2.1. Agriculture conventionnelle à base de Produits Résiduaire Organiques (PRO)

Les Produits Résiduaire Organiques sont un mélange de déchets d'origine animale ou végétale. Ces engrais biologiques d'origine animale sont des déchets industriels tels que, les déchets d'abattoirs (sang desséché, corne torréfiée, déchets de poissons, boues d'épuration des eaux) (Zodomé, 2012). Les engrais biologiques d'origine végétale sont les résidus de cultures provenant de l'exploitation agricole comme des feuilles, tiges, pailles ou des racines, de préférence transformés en compost de bonne qualité. Aux résidus de récolte s'ajoute le fumier des animaux (fientes, lisier) provenant de l'élevage, la fumure organique telle que les tourteaux, et le compost (Ouédraogo *et al.*, 2008).

Les engrais biologiques d'origine végétale contiennent la matière organique qui joue un rôle essentiel dans la rétention et la fourniture d'eau et de nutriments aux plantes (Chen, 2006 ; Ouédraogo *et al.*, 2008). La matière organique contenu dans les produits résiduaire organiques rend le sol friable, meuble avec une grande porosité, ce qui permet une bonne infiltration de l'eau. Elle recupère les éléments nutritifs, les rendant ainsi accessibles à la plante (Cissé, 2014). La matière organique provenant de ces produits résiduaire organiques, nourrit et abrite un grand nombre d'organismes du sol utiles, tels que les vers de terre et les microorganismes, qui œuvrent continuellement à l'amélioration de la fertilité et, à la structure

du sol (Ouédraogo *et al.*, 2008). De plus, les engrais biologiques augmentent l'activité biologique de sol, qui améliore la mobilisation nutritive des sources et la décomposition organiques et chimiques des substances toxiques (Chen, 2006). Les Produits Résiduaire Organiques augmenteraient la teneur en matière organique du sol, donc améliorent la capacité d'échange d'aliments, la conservation croissante de l'eau du sol, favorisant des agrégats de sol et protégeant le sol contre l'acidité, l'alcalinité, la salinité, les pesticides et les métaux lourds toxiques (EL Hakim, 2017).

I.2.2. Agriculture conventionnelle à base de fertilisant chimique

La fertilisation est la pratique culturale la plus courante mise en œuvre par les agriculteurs. La fertilisation chimique consiste à effectuer des apports d'engrais nécessaires au bon développement des végétaux. Les progrès technologiques dans l'agriculture contribuent à répondre aux besoins alimentaires d'une population mondiale toujours croissante. Des études ont montré que la quantité totale d'engrais chimiques utilisée dans le monde a augmenté avec la croissance de la population mondiale et la diminution des terres disponibles pour l'agriculture, en raison de la nécessité de produire plus de nourriture (Vitousek *et al.*, 1997 ; Frink *et al.*, 1999 ; Anthony et Kloepper, 2009). À titre d'exemple, l'utilisation accrue d'engrais a joué un rôle important dans l'augmentation de la productivité alimentaire pendant la période de la révolution verte (1960 à 1990) (Tilman, 1998) dans de nombreuses régions du monde en développement et plus particulièrement en Asie et en Amérique latine, en faisant plus que doubler le rendement des principales cultures céréalières comme le riz, le blé et le maïs. Cependant, Julio et Carlos (2006) ont noté que l'utilisation d'engrais en Afrique n'atteint pas le dixième de la production moyenne mondiale, qui est de 100 kilogrammes par hectare. Ces auteurs affirment que les cinq pays Africains suivants l'Éthiopie, le Kenya, l'Afrique du Sud, le Zimbabwe et le Nigéria consomment à eux seuls près des deux tiers de l'engrais utilisé en Afrique, principalement dans les secteurs de l'agriculture commerciale et d'exportation (Figure 1). Au niveau mondial, la Côte d'Ivoire a été classée 112^{ème} sur 159 pays consommateurs d'engrais. Par ailleurs, sur 12 enregistrements réalisés par la banque mondiale depuis 2002, la moyenne de consommation d'engrais était de 25 kg. De plus, le Tableau 1 du classement de la consommation d'engrais (kg par hectare de terres arables) pour la période allant de 2004 à 2013 a révélé que 2013 était l'année la plus élevée de consommation d'engrais en kg par hectare de terres arables, avec une consommation de près

de 36 kg. En revanche, 2009 était l'année la plus faible pour le même indicateur avec une consommation de près de 15 kg.

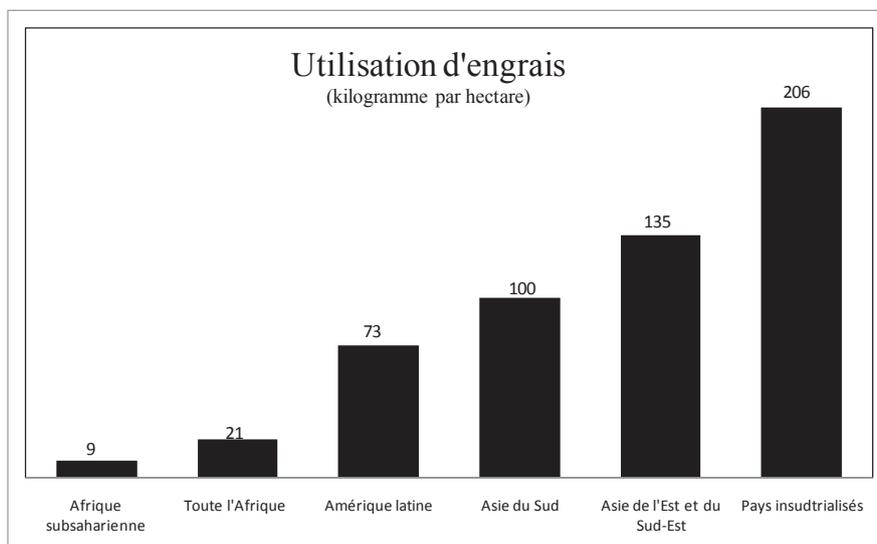


Figure 1. Comparaison de l'utilisation d'engrais entre grandes régions à l'échelle mondiale. Source (ONU Afrique Renouveau d'après le programme intégré pour le développement de l'agriculture en Afrique NEPAD, 2003)

Tableau 1. Quantité d'engrais utilisée en Côte d'Ivoire de 2004 à 2013. Source (Banque mondiale, 2015).

Données (kg ha ⁻¹ de terres arables)	Date (années)
36 kg	2013
25 kg	2012
19 kg	2011
32 kg	2010
15 kg	2009
18 kg	2008
24 kg	2007
23 kg	2006
18 kg	2005
27 kg	2004

Au cours des cinq dernières décennies, le taux d'application d'engrais azoté, phosphaté et potassique (NPK) a considérablement augmenté. Pourtant, plus de 50 % de l'azote appliqué peut être perdu dans les systèmes agricoles sous forme de diazote, d'autres gaz azotés ou de nitrate lixivié (Vitousek *et al.*, 1997 ; Rabalais *et al.*, 1998). Selon Chen (2006), les engrais

chimiques présentent des avantages suivants : (1) les éléments nutritifs sont solubles et immédiatement disponibles pour les plantes, par conséquent l'effet est généralement direct et rapide; (2) les engrais chimiques sont très riches en éléments nutritifs, et sont très efficaces sur la croissance des cultures même en quantité relativement faibles. Selon cet auteur, le prix des engrais chimiques est plus bas et plus compétitif que celui des engrais organiques, ce qui explique qu'ils soient plus souvent appliqués par les utilisateurs en dépit de ses effets négatifs sur l'environnement.

Cependant, des travaux ont montré qu'une faible efficacité dans l'absorption des engrais est un facteur majeur qui aggrave les effets environnementaux négatifs (Barlog et Grzebisz, 2004). En relation avec ce point, des inconvénients liés à l'utilisation d'engrais chimiques peuvent être observés :

- (1) une surapplication d'engrais chimiques peut avoir des effets négatifs tels que la perte des nutriments des sols par lixiviation, émission de gaz et ruissellement, en particulier l'azote (N) et le phosphore (P), conduisant à la dégradation de l'environnement (Tilman, 1998 ; Gyaneshwar *et al.*, 2002). Les raisons pouvant expliquer ces problèmes sont leur utilisation anarchique qualitativement et quantitativement dans le temps (Adesemoye et Kloepper, 2009). Des cas de pollution des ressources en eau, d'effets négatifs sur les micro-organismes et insectes utiles, de sensibilité des cultures à l'attaque des maladies, d'acidification ou alcalinisation du sol ou cuirassement du sol, ont également été évoqués (Chen, 2006) ;
- (2) un sur-approvisionnement de l'azote conduit à un ramollissement des tissus végétaux, et rend certaines plantes plus sensibles aux maladies et aux ravageurs (Chen, 2006);
- (3) ces engrais chimiques réduisent la colonisation du sol par les racines des plantes par les champignons mycorrhizae, inhibant la fixation symbiotique de l'azote par les Rhizobia (Chen, 2006);
- (4) les fertilisants chimiques accélèrent la décomposition de la matière organique du sol, ce qui conduit à la dégradation de la structure du sol (Chen, 2006); de plus, des travaux antérieurs ont confirmés que la plupart des engrais azotés ont tendance à acidifier le sol (Belay *et al.*, 2002 ; Saha *et al.*, 2008). Cette acidification entraîne l'apparition de conditions défavorables à de nombreux types de micro-organismes, notamment les bactéries appartenant au groupe des actinomycètes (Kaur *et al.*, 2008).

En outre, des auteurs ont montré que l'ajout d'engrais azotés uniquement peut entraîner une carence en d'autres éléments nutritifs et un déclin des propriétés chimiques, biologiques et physiques du sol (Hati *et al.*, 2008 ; Liu *et al.*, 2010). De même, lorsque le phosphore, un autre élément nutritif limitant la croissance, est appliqué en pourcentage élevé, parfois jusqu'à 90 %, celui-ci est précipité par des complexes métalliques dans le sol (Rodriguez et Fraga, 1999 ; Gyaneshwar *et al.*, 2002) et peut plus tard conduire à la formation de complexes phosphatés non assimilables par la plante (Rodriguez et Fraga 1999; Sharpley *et al.*, 2003).

Une méta-analyse de travaux antérieurs relatifs aux effets de la fertilisation à long terme avec des fertilisants azotés sur la nitrification dans des différents systèmes de culture et de pâturage a également été menée (Tableau 2). L'objectif de cette analyse était de pouvoir comparer cette étude par rapport ce qui a déjà été rapporté dans la littérature. Ainsi, les études ont été sélectionnées sur la base de différents critères que sont :

- Le type d'écosystème, la sélection portait sur soit des terres arables, soit des prairies ou soit des terres agricoles ;
- Le type de fertilisation, il s'est agit de faire des choix de travaux dans lesquels les expérimentations sur le terrain avaient eu recours à de l'engrais de type azoté notamment de l'ammonium, du nitrate, de l'ammo-nitrate et/ou de l'urée ;
- La durée de fertilisation, la durée minimale de 2 ans était exigée pour être sûre de pouvoir percevoir l'effet de l'application des engrais dans le temps ;
- La quantité d'azote ajouté par saison de croissance ;
- Le pourcentage de variation de la nitrification, critère qui rendrait compte de l'effet de la fertilisation sur cette activité enzymatique potentielle ;

Tableau 2. Synthèse des effets de la fertilisation à long terme (c'est-à-dire après plusieurs années) avec de l'azote et / ou de l'urée minéral sur la nitrification dans les systèmes de culture et de pâturage

Type d'écosystème	Type de fertilisation	Durée de fertilisation	Quantité d'N ajouté par saison de croissance	% variation de la nitrification	Références
Terre agricole de Malan utilisée pour l'agriculture (Hebei, Chine)	Urée	31 ans	30g-N m ⁻²	+112,5%	Ai <i>et al.</i> , (2013)
Prairies méditerranéennes (Californie, États-Unis)	NO ₃ ⁻	5 ans	7g-N m ⁻²	+66,1%	Barnard <i>et al.</i> , (2006)
Terre arable tempérée (Suède)	NO ₃ ⁻	3 ans	12g-N m ⁻²	+72,3%	Berg et Rosswall (1987)
Steppe tempérée (Mongolie, Chine)	Urée	5 ans	5g-N m ⁻² 15g-N m ⁻²	+182,3% +205,8%	Chen <i>et al.</i> , (2014)
Prairie tempérée (France)	Urée	2 ans	7g-N m ⁻²	+122,2%	Le Roux <i>et al.</i> , (2008)
Prairie alpine (plateau Tibétain, Chine)	NH ₄ ⁺ NO ₃ ⁻	4 ans	5g-N m ⁻² 10g-N m ⁻² 15g-N m ⁻²	+47,4 % +118,5 % +103 %	Ma <i>et al.</i> , (2016)
Prairies méditerranéennes (Californie, États-Unis)	NO ₃ ⁻	8 ans	7g-N m ⁻²	+45,4%	Niboyet <i>et al.</i> , (2011)
Prairie tempérée (Michigan, États-Unis)	NH ₄ ⁺ NO ₃ ⁻	8 ans	10,4g-N m ⁻² 12g-N m ⁻²	+5,20% +113,1%	Phillips <i>et al.</i> , (2000)
Prairie tempérée (Ecosse, Royaume-Uni)	NH ₄ ⁺ NO ₃ ⁻	9 ans	14g-N m ⁻²	+220,0%	Webster <i>et al.</i> , (2002)
Sol violet utilisé pour l'agriculture (Chongqing, Chine)	Urée	21 ans	13,5g-N m ⁻²	+92,3%	Zhou <i>et al.</i> , (2014)

I.3. Agriculture alternative : Cas de l'agriculture de conservation

Selon la FAO, l'agriculture de conservation (AC) est une « méthode de gestion des agroécosystèmes qui a pour but une amélioration soutenue de la productivité, une augmentation des profits ainsi que de la sécurité alimentaire, tout en préservant et en améliorant les ressources et l'environnement » (FAO, FIDA et PAM, 2015). Cette agriculture se caractérise par trois principes reliés, à savoir: (1) un travail minimal du sol allant jusqu'à son absence totale dans le cas des systèmes de semi direct, (2) une couverture permanente du sol par un paillage végétal frais ou sec, (3) une diversification des espèces cultivées, en association (diversité spatiale) et/ou dans la rotation (diversité temporelle) (FAO, 2012 ; Scopel *et al.*, 2012). Dans l'agriculture de conservation, les labours traditionnels utilisant une pelle-bêche pour le travail superficiel du sol sont remplacés par les " labours biologiques " réalisés par la faune du sol (vers, punaises etc.). L'agriculture de conservation repose également sur des méthodes de lutte intégrée. Les rotations ou associations culturales constituent un élément important de cette stratégie. Elles permettent de briser le cycle des pathologies tout en valorisant les interactions entre les propriétés physiques et chimiques de différentes espèces végétales cultivées de façon alternative ou associées sur une même parcelle. L'agriculture de conservation regorge de plusieurs pratiques : cordons pierreux, bandes enherbées, haies vives, bourrelets, associations culturales (céréales + légumineuses), jachères améliorées, paillage, techniques culturales simplifiées (labour minimum, semis-direct), rotations culturales, fumure organique (Djamen *et al.*, 2005) dont la mise en œuvre dépend des conditions pédoclimatiques et socio-économiques.

Dans certains cas, le recours aux produits agro-chimiques, et plus particulièrement aux herbicides, est courant pendant les premières années, les infestations d'adventices étant parfois massives à ce stade. Mais passée la période de transition qui aboutit à un équilibre entre les organismes de l'agrosystème (notamment entre les ravageurs et les " organismes utiles ", la plante et les mauvaises herbes) d'une part, et à une meilleure maîtrise technique des associations et des rotations culturales par le producteur d'autre part, l'utilisation des pesticides et des engrais minéraux diminue et passe en dessous du niveau observé pour une agriculture conventionnelle (Alaoui, 2011).

I.3.1. Pratique générale de la jachère et jachère à base de *Chromolaena odorata*

I.3.1.1. Pratique générale de la jachère

En Afrique tropicale, une pratique des terres très courante consiste en une phase de culture, suivie d'un abandon du champ dès qu'une baisse de rendement du travail se fait sentir (Foumier *et al.*, 2001). Une jachère représente l'état post-cultural, entre autre une phase de restauration d'un écosystème, dont l'état final procure en principe des conditions renouvelées pour la culture suivante. C'est un milieu assaini avec des éléments nutritifs plus abondants, plus disponibles et plus accessibles pour les racines (Serpantié et Ouattara, 2001). Les modifications des caractéristiques du sol pendant la période de la jachère sont déterminées par les modes de gestion. Le pâturage, les divers prélèvements ou les feux modifient la dynamique végétale après abandon cultural. Certaines techniques agricoles (labour, brûlis, paillage du sol) utilisées au cours de la culture qui précède la jachère déterminent également les dynamiques des différents paramètres d'évolution de la qualité des sols. La qualité d'un sol se définissant selon Doran *et al.* (1998) comme étant « la capacité pour un sol, dans un écosystème donné, à assurer une productivité végétale et animale élevée, maintenir ou améliorer la qualité de l'air et de l'eau et garantir la santé des plantes et des animaux qu'il abrite ».

I.3.1.2. Jachère à base de *Chromolaena odorata*

En Afrique sub-saharienne, les jachères naturelles ont fait l'objet de plusieurs études tant au niveau agronomique, écologique que socio-économique (Koutika *et al.*, 2002, 2005b ; Delmas, 2005 ; Bouadi, 2009). Ces travaux ont conclu que les jachères naturelles sont profitables à l'amélioration des paramètres chimiques du sol parce qu'elles favorisent une plus grande accumulation de matière organique du sol, et donc d'éléments nutritifs, et ce en temps record. Le cas de la jachère à base de *Chromolaena odorata* est le plus élaboré pour la zone de savanes humides (Koutika *et al.*, 2001). En effet, l'espèce a de bons potentiels agronomiques (Kassi *et al.*, 2017). Bouadi (2009) dans des expérimentations menées en zone de contact forêt-savane de la Côte d'Ivoire, a démontré que 79 % des populations utilisent les jachères naturelles de *Chromolaena odorata* non seulement pour sa facilité à la mise en valeur, mais également pour son meilleur rendement agricole pour la culture qui suit après 2 à 5 ans d'abandon. Les arbustes qu'elle forme sont considérés comme améliorant à la fois la fertilité du sol dans les parcelles en jachère et les rendements subséquents des cultures suivantes (Ngobo *et al.*, 2004; Koutika et Rainey, 2010; Koné *et al.*, 2012a, b; Tondoh *et al.*, 2013). En outre, *Chromolaena odorata* est considéré comme un indicateur de fertilité des sols (Norgrove et Hauser, 2016).

En fait la composition des feuilles de *Chromolaena odorata* et leur rôle dans l'amélioration des activités biologiques des sols ont été précédemment rapportés pour les activités enzymatiques par Gonnety *et al.* (2012) et pour les vers de terre par Norgrove *et al.*, (2008), Hauser *et al.*, (2012) et Tondoh *et al.*, (2013). De plus, dans une étude comparative au Cameroun, Koutika *et al.* (2002) soulignent que la teneur en carbone est très élevée dans les 10 premiers cm des sols de jachère à *Chromolaena odorata*, ce qui confère une bonne stabilité de la matière organique dans ces sols. En relation avec la teneur en carbone, Kassi *et al.* (2017) ont montré que la prédominance de *Chromolaena odorata* dans les jachères maintient les stocks de C.

I.3.2. Rotation culturale

La rotation culturale fait référence à différentes cultures qui se suivent dans un certain ordre sur la même parcelle, la même succession de cultures se reproduisant dans le temps en cycles réguliers. Cette pratique ancienne est de plus en plus réintroduite par l'agriculture durable car ses avantages peuvent être considérés comme des services naturels, permettant le développement d'une agriculture plus autonome. Citons l'exemple de l'intensification écologique, parfois appelée agriculture écologiquement intensive (Bonny, 2010 ; Garibaldi *et al.*, 2011), concept d'agronomie visant la conception de systèmes agricoles alliant un rendement agricole élevé et une faible utilisation d'intrants. Ce concept s'applique notamment dans les pays en développement caractérisés par des rendements faibles. C'est un concept proche de celui de l'agriculture intégrée en agriculture, il se caractérise par l'augmentation du nombre de facteurs de production (travail et capitaux) par hectare. Ainsi, l'intensification écologique vise une augmentation de la production agricole en augmentant au maximum le nombre de processus ou de fonctions écosystémiques utilisés à l'hectare avant de recourir aux intrants issus de l'industrie chimique (Chevassus-au-Louis et Griffon, 2008). Un exemple classique est l'utilisation de légumineuses pour fixer l'azote atmosphérique et diminuer l'utilisation d'engrais azotés minéraux.

Les légumineuses, ont la capacité à améliorer la fertilité des sols tout en assurant une production alimentaire. En effet, les légumineuses alimentaires ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique (N₂) et de le restituer au sol (Konaté *et al.*, 2012) mais également de l'utiliser pour leur croissance. En fait, les légumineuses fixent l'azote (N₂) dans leurs nodules qui se développent avec l'aide d'une bactérie spécifique appelée rhizobium et constituent de

véritables petites fabriques à fixer l'azote (N_2). Les racines des légumineuses abritent et nourrissent les bactéries qui fixent en retour de l'azote pour la plante. Ce processus contribue à l'enrichissement biologique des sols et à la préservation de l'environnement.

La rotation céréale/légumineuses offre de nombreux avantages agronomiques comme le contrôle des maladies, ravageurs et mauvaises herbes, la gestion de la fertilité des sols et l'augmentation des rendements des cultures. Par exemple, plusieurs études visant à évaluer l'utilisation des légumineuses herbacées pour améliorer la fertilité des sols dans les zones de savanes soudaniennes ont été entreprises. Au Nigeria, ces études ont montré une amélioration du statut organo-minéral du sol sous l'effet des légumineuses herbacées, suivies d'une augmentation des rendements de maïs. Les apports de résidus de coupe d'arbustes par les légumineuses peuvent correspondre à un gain de 50 à 100 kg ha⁻¹ d'azote (Tian *et al.*, 2000). En Côte d'Ivoire, une étude-test portant sur une cinquantaine d'espèces de légumineuses herbacées a permis de classer les espèces *Mucuna* spp, *Canavalia ensiformis*, et *Crotalaria anagyroides* comme les meilleures, selon les régions, dans la lutte contre les mauvaises herbes et pour améliorer les rendements de riz de 30 % en moyenne (Becker et Jonhson, 1998). Kouassi (2000) indique une réduction de 67 à 92 % des adventices avec *Crotalaria juncea* et *Mucuna pruriens* et une amélioration des rendements d'une culture de canne-à-sucre de 15 à 31 %. Dans le Nord du pays, la rotation maïs/légumineuses (niébé, arachide, soja et *M. pruriens*) a permis de tripler les rendements de maïs (N'Goran et Kanga, 2000). Malgré les effets significatifs et reconnus des légumineuses sur la fertilité des sols, les paysans ont du mal à utiliser les légumineuses de couverture dans la mesure où leur mise en place nécessite un temps de travail supplémentaire et un coût sans retombées directes en termes de production agricole.

Par ailleurs, parmi les différentes sources d'azote pour la plante il y'a celles provenant de la matière organique du sol. En effet, le sol contient une certaine quantité de matière organique. Lors de la minéralisation, l'azote lié à la matière organique se transforme, sous l'effet de l'activité microbienne, en azote inorganique (minéral). Les nitrates (NO_3^-) et l'ammonium (NH_4^+) sont les formes d'azote inorganique et les seules que les végétaux peuvent absorber en quantités importantes de la solution de sol (N'Dayegamiye *et al.*, 2007).

En outre, il existe également l'azote provenant de la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique (N_2) par les microorganismes du sol. En effet, durant leur croissance et leur développement, les végétaux ont un besoin important en azote (constituant moléculaire des

protéines, des polyamines, co-facteur enzymatique...). Il peut, tout comme l'eau, devenir un facteur limitant de la production végétale car les plantes n'assimilent que les formes minérales d'azote telles que le NO_3^- et le NH_4^+ qui sont tous deux des éléments présents en quantité limitée dans le sol (Bayle, 1994). Par contre, certaines bactéries et cyanobactéries du sol, fixatrices d'azote, peuvent réduire l'azote atmosphérique (N_2) en ammoniac (NH_3) grâce à une enzyme spécifique, appelée la nitrogénase. Ces microorganismes peuvent vivre à l'état libre dans le sol, en association ou en symbiose avec un végétal, permettant à celui-ci d'exploiter une nouvelle voie de nutrition azotée par la fixation d'azote atmosphérique (N_2). L'une de ces symbioses avec les plantes permet de mettre en relation les légumineuses et les rhizobiums (Bayle, 1994).

I.3.3. Paillage ou mulching

Le paillage ou mulching est une pratique agricole consistant à laisser ou à apporter les débris végétaux sur le sol nouvellement défriché et à effectuer des semis directs (Tian *et al.*, 1993a ; 2001). En effet, les paillis organiques sont généralement appliqués à la surface du sol pour supprimer ou limiter la repousse (des mauvaises herbes) (Ramakrishna *et al.*, 2006 ; Mulumba et Lal, 2008) et réprimer les maladies des plantes (Robinson, 1988; Hoitink et Boehm, 1999). Cette technique permet également de conserver l'humidité des horizons de surface du sol (Olasantan, 1999). De plus, l'augmentation de la porosité causée par le paillis organique favorise l'infiltration et la rétention de l'eau (Sharma *et al.*, 1990 ; Acharya *et al.*, 2005). Le paillis permet de réduire ou augmenter la température du sol en fonction du type de mulch utilisé (Clarkson 1960 ; Schales et Sheldrake, 1966), modifiant ainsi le microenvironnement du sol. Il joue également un rôle important dans l'amélioration ou la protection de la stabilité structurale du sol (Sharma *et al.*, 1990 ; Mulumba et Lal, 2008), puisqu'il a la capacité d'augmenter la teneur en matière organique du sol (Tiquia *et al.*, 2002).

Le potentiel des paillis à établir des modèles de cycle des éléments nutritifs plus semblables aux écosystèmes naturels a également été reconnu (Tukey et Schoff, 1963; Roe, 1998). Denich *et al.* (2000) ont également révélé sa capacité à réduire l'effet des incendies accidentels. Certains travaux ont montré que cette technique peut présenter les avantages supplémentaires pour (1) préserver la biodiversité des sols (Acharya *et al.*, 2005; Rousseau *et al.*, 2010), (2) réduire l'érosion car le paillis organique recouvre la surface du sol (de Vleeschauwer *et al.*, 1978), (3) prolonger la période de croissance parce que les éléments

nutritifs sont libérés lentement pendant plusieurs années à mesure que la biomasse végétale d'origine se décompose (Vielhauer *et al.*, 2000), et (4) empêcher le compactage du sol de surface résultant des chutes de pluies.

Pour une meilleure compréhension des avantages du paillis, d'autres études ont démontré les mécanismes associés. En effet, des travaux antérieurs ont rapporté que divers organismes vivants, allant des grands insectes aux bactéries et champignons microscopiques, trouvent dans cette pratique culturale un habitat et des conditions idoines pour leur développement. Certaines espèces de la macrofaune du sol telles que les vers de terre et les punaises, quant à eux, participent à la structuration du sol en produisant des agrégats, en facilitant l'infiltration de l'eau et en limitant ainsi le ruissellement et les risques d'inondations lors des averses (FAO, 2015). Par exemple, la dégradation des résidus de culture (paillis) par les microorganismes du sol fournit des éléments nutritifs aux plantes en croissance. De plus, la différence de température dans le sol sous certains type de mulch peut être suffisante pour affecter la croissance des micro-organismes, la quantité d'enzymes extracellulaires libérées dans le sol et finalement le taux de dégradation des matières organiques et la libération d'éléments nutritifs pour les plantes (Hankin *et al.*, 1982). Par leurs activités, ces organismes transforment, incorporent et mélangent le mulch au sol, et vont *in fine* constituer l'humus dont le rôle est important dans la stabilisation de la structure du sol. En outre, le paillis contribue à la formation d'agrégats de sol stables, en raison de l'effet stimulant de la matière organique sur l'activité biologique du sol, conduisant ainsi à la formation d'agrégats (de Vleeschauwer *et al.*, 1978 ; Acharya *et al.*, 2005) puisque que cette matière organique figurée et/ou particulaire est aussi constitutive des agrégats.

I.3.4. Biofertilisants

I.3.4.1. Définition

Les biofertilisants sont définis comme des préparations contenant des cellules vivantes ou des cellules latentes de souches de micro-organismes efficaces qui aident à l'absorption des éléments minéraux par les plantes cultivées suite à leurs interactions dans la rhizosphère lorsqu'ils sont appliqués sur les semences ou dans le sol (Mishra *et al.*, 2013). Ils accélèrent certains processus microbiens dans le sol impliqués dans l'augmentation de la disponibilité des éléments nutritifs dans une forme facilement assimilable par les plantes (Vessey, 2003). Les biofertilisants interviennent dans un aspect crucial de l'agriculture biologique et sont des

acteurs majeurs de l'économie et de la production agricole générale à l'échelle mondiale (Pravin *et al.*, 2016).

I.3.4.2. Différents types de biofertilisants utilisés en agriculture de conservation

I.3.4.2.1. Biofertilisants à base des bactéries fixatrices d'azote

Les bactéries fixatrices d'azote sont des bactéries qui peuvent exister soit sous forme libre (seules ou en symbiose avec d'autres bactéries du sol), soit en symbiose avec des plantes tout en assurant la fixation de l'azote atmosphérique (N_2). En fonction de leur régime respiratoire, ces micro-organismes peuvent être soit aérobies, soit anaérobies. Il s'agit des bactéries symbiotiques (notamment les rhizobium, les bactéries du genre *Azospirillum*, les cyanobactéries et *Azolla*) et des bactéries non symbiotiques (*Beijerinckia*, algues bleues, l'espèce *Azotobacter*) (Alamri *et al.*, 2014).

I.3.4.2.2. Biofertilisants à base des bactéries solubilisatrices des éléments minéraux

***Exemple des bactéries solubilisant le silicate**

Les bactéries solubilisant le silicate sont des micro-organismes capables de dégrader les silicates qui sont des minéraux formés à partir d'un motif élémentaire tétraédrique (SiO_4). Ils fournissent : (1) des ions H^+ dans le milieu favorisant ainsi l'hydrolyse ; (2) les acides organiques comme l'acide citrique, l'acide oxalique, les acides aminés et les acides hydro-carboxyliques dont le complexe avec des cations permet de promouvoir leur enlèvement et leur rétention dans le milieu à l'état dissous (Agritech, 2014).

De manière générale, les isolats bactériens fabriqués à partir de différents endroits ont un potentiel variable de solubilisation des silicates. Des études d'inoculation avec des isolats sélectionnés avec de la terre rouge, des sol argileux, des sols sableux et la terre vallonnée ont montré que les organismes se multiplient dans tous les types de sol et libèrent plus de silice augmentant ainsi la disponibilité de la silice dans le sol et l'eau (Amutha *et al.*, 2014).

***Exemple des bactéries solubilisant le phosphate**

Les biofertilisants composés de bactéries solubilisatrices de phosphore, ont plusieurs bénéfices agronomiques : (1) Amélioration de la disponibilité en phosphore inorganique. En effet, grâce à l'action des bactéries qui solubilisent les phosphates complexés dans le sol, le

phosphore devient disponible sous une forme assimilable par la plante ; (2) Accélération des premiers stades de développement. Le phosphore, une fois libéré et disponible pour la plante grâce à l'action des bactéries, entraîne une accélération des premiers stades de développement de la culture. (3) Augmentation de la croissance racinaire. En fait, l'action du phosphore sur la plante entraîne également une augmentation de la croissance racinaire principale et des ramifications. (4) Rigidité des tissus. L'augmentation du taux de phosphore augmente la rigidité des tissus, amenant ainsi un meilleur port et une meilleure résistance aux stress. (5) Amélioration de la formation des grains. Le phosphore intervient dans la formation des inflorescences et par la suite dans la formation et la croissance des grains. (6) Augmentation et sécurisation du rendement. A l'instar des bactéries fixatrices d'azote, les bactéries solubilisatrices du phosphore améliorent la qualité nutritionnelle et la résistance de la plante, permettant ainsi à la culture d'assurer son rendement (Schütz *et al.*, 2018).

I.3.4.2.3. Biofertilisants à base de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR)

L'utilisation des engrais biologiques peut également être proposée pour améliorer les rendements des cultures tout en assurant une meilleure durabilité des systèmes de culture (Ohyama, 2006). Les rhizobactéries sont des bactéries qui colonisent les racines ou la rhizosphère du sol et qui sont bénéfiques aux cultures (PGPR) (Beauchamp, 1993).

Ces bactéries sont actuellement commercialisées sous forme d'inoculum. Lorsque les biofertilisants sont appliqués sur les graines, les surfaces des plantes ou le sol, ils colonisent la rhizosphère ou l'intérieur de la plante, et semblent promouvoir la croissance des plantes en augmentant l'offre ou la disponibilité des éléments nutritifs primaires à la plante hôte (Vessey, 2003) ainsi que l'inhibition des agents pathogènes de croissance (Vessey, 2003 ; Waddington, 1998).

I.3.4.2.4. Biofertilisants à base des champignons mycorhiziens arbusculaires

La mycorhize représente une association symbiotique entre des champignons telluriques et les racines des plantes. Ces associations mycorhiziennes concernent plus de 95 % des plantes terrestres dont la plupart sont des plantes agricoles et horticoles (Barea *et al.*, 1980). Ce type de symbiose est connu par sa capacité de fournir un meilleur accès aux éléments nutritifs du sol aidant ainsi les plantes à mieux résister aux stress environnementaux (sécheresse, salinité, attaque par des agents pathogènes etc.) de façon naturelle (Smith et Read, 2008). En effet, les

mycorhizes arbusculaires jouent un rôle considérable dans l'amélioration de la nutrition du végétal, notamment en phosphore. Bien que l'avantage principal apporté par les mycorhizes soit nutritionnel, des effets non nutritionnels sont également observés. En effet, les mycorhizes arbusculaires se comportent comme des bioprotecteurs en renforçant les défenses naturelles de la plante contre les bactéries et champignons phytopathogènes, et en augmentant la tolérance des végétaux à différents stress abiotiques (Van Vuuren *et al.*, 2010).

Au-delà de ces effets bénéfiques sur le développement et la santé des plantes, le réseau mycélien extra-radicaire qui se développe dans le sol favorise la rétention de ses agrégats, en stabilisant ainsi sa structure et sa qualité. De ce fait, les mycorhizes arbusculaires peuvent aussi être considérées comme des biostabilisants (Gianinazzi *et al.*, 2010).

L'évaluation de l'efficacité et l'efficience de toutes les pratiques culturales susmentionnées nécessite souvent un suivi de la qualité des sols. A cet effet, plusieurs outils incluant les analyses physiques, chimiques, biologiques (microorganismes, macrofaunes) et particulièrement des enzymes du sol peuvent être utilisés.

II. Enzymes du sol et leur importance dans l'agroécosystème

Les enzymes sont des protéines qui catalysent toutes les réactions biochimiques. Les enzymes existent à l'intérieur de cellules prolifératives viables ou sous forme d'enzymes actives libérées dans l'environnement par sécrétion, ou associées à des cellules mortes et à d'autres fractions de sol non vivantes (Skujins, 1976 ; Burns, 1982 ; Nannipieri *et al.*, 1983 ; Dick, 1994 ; Sinsabaugh, 1994).

Les enzymes du sol sont constamment synthétisées, accumulées et/ou décomposées dans le sol (Trasar-Cepeda *et al.*, 2007). Dans le sol, les enzymes du sol sont principalement d'origine microbienne (Gao *et al.*, 2010). C'est le cas pour les phosphatases, l'uréase, les cellulases, les pectinases synthétisées et sécrétées de manière extracellulaire par des bactéries ou des champignons (Aon et Coloneri, 2001) et qui peuvent alors faire partie de la matrice du sol (Dick, 1994; Sinsabaugh, 1994). Cependant, les enzymes du sol peuvent aussi être d'origine animale et végétale (Tabatabai, 1994). Ces enzymes interviennent dans les réactions de catabolisme indispensables à la vie des microorganismes et participent à la stabilisation de la structure du sol et à la décomposition de polymères (cellulose, chitine, acide nucléique, et protéines) en éléments simples (Nannipieri *et al.*, 2002 ; Trasar-Cepeda *et al.*, 2007). Les

enzymes du sol ont un rôle important pour le fonctionnement de l'écosystème (Makoi et Ndakidemi, 2008) car elles sont impliquées dans le cycle biogéochimique du carbone, de l'azote, du phosphore, du soufre et d'autres nutriments essentiels (Tabatabai et Dick, 2002 ; Caldwell, 2005 ; Floch *et al.*, 2009). De plus, les enzymes du sol sont sensibles aux différentes pratiques culturales (García-Ruiz *et al.*, 2009). Elles sont en effet influencées par des facteurs abiotiques (température, humidité, pH du sol et teneur en oxygène), la structure chimique de la matière organique et la localisation de cette matière organique dans la couche du sol (Pavel *et al.*, 2004) qui sont eux mêmes modifiées en fonction des pratiques. Par exemple dans les sols agricoles, les activités enzymatiques sont une variable souvent utilisée en recherche pour estimer l'effet d'une pratique sur le fonctionnement biologique des sols. En effet, les pratiques culturales entraînent des changements qui affectent les communautés microbiennes et les activités enzymatiques du sol (Mangalassery *et al.*, 2015). Globalement, les pratiques culturales qui tendent à réduire le travail du sol et à augmenter la quantité de matière organique favorisent les activités enzymatiques sans doute du fait d'une plus grande disponibilité du substrat et d'une modification de l'abondance et/ou de la diversité des communautés microbiennes à l'origine de leur synthèse (Riah *et al.*, 2012).

Les enzymes du sol sont aussi grandement affectées par le type de végétation à la surface du sol (Tabatabai, 1994). Les oxydoréductases, les transférases et les hydrolases sont les enzymes les plus largement étudiées (Skujins, 1976 ; Ladd, 1978 ; Dick, 1994). C'est le cas des enzymes telles que l'amylase, l'arylsulfatase, la cellulase, les phosphatases acides et alcalines, la β -glucosidase, la N-acétyl- β -D-glucosaminidase détectées et étudiées dans plusieurs types de sol (Makoi et Ndakidemi, 2008). Par exemple, les cellulases contribuent à la dégradation des résidus de récolte, de nature essentiellement ligno-cellulosique (ITAB, 2002). Il existe actuellement un grand intérêt agronomique pour l'utilisation des enzymes extracellulaires comme indicateurs biologiques de la qualité du sol, car elles sont relativement simples à déterminer, sont sensibles aux stress environnementaux et réagissent rapidement aux changements de gestion des terres (Dick, 1997 ; Yakovchenko *et al.*, 1996). Généralement, les activités d'enzymes sensibles aux pratiques de rotations culturales peuvent être utilisées comme indicateurs de la qualité et de la durabilité des sols (Zhang *et al.*, 2010).

II.1. Phosphatases

Les phosphatases appartiennent au groupe des enzymes capables de catalyser les réactions hydrolytiques des esters et des anhydrides de phosphore (Schmidt et Lawoski, 1961). Dans les

écosystèmes terrestres, en plus d'être de bonnes indicatrices de la fertilité des sols, les phosphatases jouent un rôle clé dans le fonctionnement du sol (Eivazi et Tabatabai 1977 ; Dick *et al.*, 2000). Dans la plupart des sols, la fraction de phosphore organique liée est plus élevée que la fraction inorganique utilisable par la plante. Les phosphatases sont les enzymes impliquées dans la transformation de ces composés organiques et inorganiques riches en phosphore dans le sol (Spiers et McGill, 1979; Amador *et al.*, 1997). En effet, les ions orthophosphates (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} et PO_4^{3-}) sont libérés dans le sol et la litière lors du processus de la minéralisation du phosphore organique (PO). Ce processus réactionnel est catalysé par les phosphatases, principalement présentes dans les sols et les microorganismes de la litière, les racines des plantes. En effet, les activités phosphatase (phosphatase acide, phosphatase alcaline encore appelées phosphomonoestérases, et phosphodiesterases) séparent l'ion ortho-phosphate d'une molécule organique. Par ailleurs, la synthèse de cette enzyme est inhibée par l'ion orthophosphate. Cette activité est donc dépendante de la concentration en ions PO_4^- dans le sol. Ainsi, un apport d'engrais phosphatés par exemple entraîne une diminution de cette activité, indépendamment de l'abondance et des autres activités des populations microbiennes présentes (Riah *et al.*, 2012). Au cours des processus de décomposition des matières organiques du sol, les phosphatases sont redistribuées dans diverses fractions organiques et organo-minérales du sol (Rojo *et al.*, 1990; Speir et Cowling 1991).

Par ailleurs, Gervy (1970), souligne qu'à pH égal à 7, il existe une proportion à peu près équivalente d'ions H_2PO_4^- et d'ions HPO_4^{2-} , alors que l'ion PO_4^{3-} n'apparaît qu'à pH > 11. Aussi, le pH optimum pour l'assimilation du phosphore se situe au voisinage de la neutralité. Par conséquent, les formes dissoutes dans la solution du sol facilement utilisable par les plantes seraient les ions H_2PO_4^- et HPO_4^{2-} (Gervy, 1970).

Les phosphatases du sol peuvent être classées selon le pH optimal de leur activité catalytique, leur spécificité pour un substrat donné, leur besoin de métaux, leur mécanisme de réaction et leur origine dans le sol. Selon le pH optimal de leur activité enzymatique, les phosphomonoestérases sont dites acides (E.C. 3.1.3.2. ; pH optimal <7) ou alcalines (E.C. 3.1.3.1. ; pH optimal >7). Bien que les sols contiennent essentiellement des phosphatases acides et alcalines, des phosphatases avec un pH optimal autour de 7 ont été identifiées (Turner, 2010). Selon le substrat, les phosphatases du sol sont classées en fonction de leurs propriétés catalytiques, c'est-à-dire en fonction de la forme chimique de leurs substrats et des liaisons chimiques qu'elles attaquent (Burns, 1982; Duff *et al.*, 1994). Ces phosphatases du

sol sont composées de phosphatases non spécifiques dont les phosphatases acides (EC 3.1.3.2) et alcalines (EC 3.1.3.1), mais aussi de phytases (EC 3.1.3.8 et EC 3.1.3.26) qui hydrolysent spécifiquement les phytates (Wyss *et al.*, 1999 ; Oh *et al.*, 2004).

Certaines phosphatases catalysent à la fois l'hydrolyse des phosphomonoesters et des phosphodiesteres (Yoshida *et al.*, 1989 ; Bernard *et al.*, 2002), se démarquant ainsi des phosphatases qui, en règle générale, ne peuvent hydrolyser qu'un seul type d'ester de phosphate. Cependant celles majoritairement retrouvées dans le sol sont les phosphatases d'origine microbienne (Canarutto *et al.*, 1995 ; Clarholm et Rosengren-Brinck, 1995 ; Balota *et al.*, 2003). Selon leur origine, les phosphatases sont classées en phosphatases fongiques, bactériennes et racinaires. Les phosphatases fongiques sont secrétés par les champignons des symbioses mycorhiziennes qui ont un effet bénéfique sur la nutrition phosphatée des plantes hôtes dont elles stimulent la croissance par divers mécanismes dont la sécrétion de phosphatases qui dégradent les phosphates organiques en Pi (Matumoto-Pintro, 1996 ; Joner *et al.*, 2000 ; Quiquampoix et Mousain, 2005). Les phosphatases bactériennes peuvent être produites par un certain nombre d'espèces de bactéries, surtout celles qui sont associées aux plantes dans la rhizosphère appelés « rhizobactéries » (Rodríguez et Fraga, 1999).

Les phosphomonoestérases ont été largement étudiées dans les écosystèmes terrestres. En effet, elles sont considérées comme les phosphatases prédominantes dans la plupart des types de sol et de litière (Turner *et al.*, 2002a; Criquet *et al.*, 2004), probablement à cause de la faible spécificité du substrat de ces enzymes. Des composés tels que le phosphate d'inositol, les polyphosphates, les mononucléotides et les sucres phosphorylés représentent la plupart des substrats naturels de ces enzymes dans les sols et la litière (Reid et Wilson, 1971). L'activité des phosphatases du sol peut être influencée par de nombreux facteurs tels que les propriétés des sols (Šarapatka, 2003), les interactions entre les sols, la couverture végétale, les lixiviations et la présence d'inhibiteurs ou d'activateurs (Juma et Tabatabai, 1977 ; Hysek et Šarapatka, 1998). Dans les terres cultivées, les phosphatases sont fortement affectées par les pratiques agricoles telles que le labour, les systèmes de culture et la gestion des résidus de cultures (Deng et Tabatabai, 1997 ; Zhang *et al.*, 2010).

II.1.1. Phosphatases acides

Les phosphatases acides sont principalement d'origine végétale et fongique (Tarafdar et Marschner 1994). Les phosphatases acides, montrant des activités optimales en milieu acide,

sont prédominantes dans les sols acides (Tabatabai, 1994). L'activité phosphatasique acide est fortement liée à la libération de N et P dans la solution du sol (Boerner *et al.*, 2000). Dans une étude sur la décomposition du bois dans divers types d'écosystèmes, Sinsabaugh *et al.*, (1992) et Sinsabaugh *et al.*, (1993) ont constaté que les activités de la phosphatase acide et de la chitinase sont contrôlées principalement par des facteurs micro-climatiques et édaphiques. L'activité phosphomonoestérase acide a également été signalée comme étant inhibée par le cadmium (Karaca *et al.*, 2002). D'autres études ont montré des changements dans l'activité de la phosphatase acide, dans une variété d'écosystèmes endommagés par des incendies (Saa *et al.*, 1993 ; Boerner *et al.*, 2000 ; Hammon *et al.*, 2008) et l'activité peut rester faible même 4 ans après le feu (Staddon *et al.*, 1998). Ces réductions peuvent résulter d'une forte intensité ou sévérité du feu (Fioretto *et al.*, 2005), du pH post-feu élevé (Acosta-Martinez et Tabatabai 2000) et des diminutions de la biomasse microbienne (Clarholm, 1993 ; Kandeler et Eder, 1993) et de la longueur des hyphes fongiques (Hausling et Marschner, 1989) induites par le feu.

II.1.2. Phosphatases alcalines

La phosphatase alcaline catalyse l'hydrolyse à la fois des esters organiques P et des anhydrides d'acide phosphorique tels que le β -glycérophosphate, le phénylphosphate, le β -naphtylphosphate et le *p*-nitrophénylphosphate (Krämer et Green, 2000). Cette activité enzymatique a été étudiée en profondeur en raison de son importance dans le processus de la minéralisation de la matière organique du sol et dans la nutrition des plantes (Deng et Tabatabai, 1997). La phosphatase alcaline est principalement d'origine microbienne et n'est pas produite par les plantes (Krämer, et Green, 2000). Ainsi, elle a pu être utilisée comme mesure de la taille et de l'activité des populations microbiennes (Pang et Kolenko, 1986) afin d'analyser d'évaluer la toxicité des pesticides sur les micro-organismes du sol. Par ailleurs, Speir et Ross (1978), Kandeler *et al.* (1999) et Klimanek (2000) ont rapporté que la fertilisation organique stimule l'activité de la phosphatase alcaline tandis que les engrais chimiques sous forme phosphorylée ont un effet négatif sur cette activité. D'autres études ont montré que la phosphatase alcaline est corrélée avec des facteurs biotiques (la respiration microbienne et biomasse microbienne totale), montrant une relation très étroite avec la biomasse du sol (Frankenberger et Dick, 1983 ; Seugé *et al.*, 2000).

II.2. Glycosidases

Dans le sol, les glycosidases sont impliquées dans le cycle du C en catalysant la décomposition et en libérant une source d'énergie telle que le glucose (Deng et Tabatabai, 1996). Ces enzymes jouent un rôle majeur dans les phases initiales de la décomposition des composés organiques en agissant sur des liaisons glycosidiques des glycosides, des oligosaccharides et des polysaccharides et plus généralement des carbohydrates (Kiss *et al.*, 1975 ; Eivazi et Tabatabai, 1988). Il est bien connu que les glycosidases sont accompagnées de polysaccharides qui stabilisent et fixent la protéine enzymatique à l'intérieur de la membrane cellulaire (Flowers et Sharon, 1979). L' α et la β -galactosidase sont plus nombreux et largement distribués dans la nature (Eivazi et Tabatabai, 1990). D'autres glycosidases tels que l' α -D-galactosidase (EC 3.2.1.22) et la β -D-galactosidase (EC 3.2.1.23) hydrolysent respectivement la mélibiose et le lactose (Dey et Pridham 1972 ; Eivazi et Tabatabai, 1988). Une autre glycosidase importante, notamment la β -glucosaminidase (NAGase, EC 3.2.1.30), catalyse l'hydrolyse du résidu N-acétyl- β -D-glucosamine des extrémités non réductrices terminales des chito-oligosaccharides. Cette enzyme est également classée comme β -hexosaminidase (EC 3.2.1.52) par l'Union Internationale de Biochimie car elle clive le N-acétyl- β -D-galactosamine (Webb, 1984). De nombreux travaux ont été réalisés sur les effets du travail du sol (Deng et Tabatabai, 1996 ; Curci *et al.*, 1997), de la rotation des cultures (Bandick et Dick, 1999), de l'amendement des engrais (Sastre-Conde *et al.*, 2007) sur les activités de la glycosidase.

II.2.1. β -glucosidase

La β -glucosidase (EC 3.2.1.21) est la plus abondante des glycosidases du sol (Eivazi et Tabatabai, 1990) et est très importante dans le cycle du carbone (Pan *et al.*, 2010). En effet, cette enzyme est impliquée dans la dégradation (Fan et Lee, 1983 ; Saddler, 1986) et la saccharification de la cellulose (Tabatabai, 1994). Elle participe aux réactions hydrolytiques des β -glucosides pour libérer du glucose, source énergétique importante pour les microorganismes. La β -glucosidase donne des indications sur l'activité antérieure du sol, ainsi que sur la capacité du sol à stabiliser la matière organique grâce aux interactions entre cette dernière et les minéraux argileux du sol (Joanisse *et al.*, 2007). La sensibilité de la β -glucosidase aux changements de pH peut servir d'indicateur biochimique fiable pour évaluer les changements environnementaux causés par l'acidification du sol (Acosta-Martínez et Tabatabai, 2000).

Cette activité enzymatique est particulièrement utile pour la surveillance de la qualité des sols en raison de son rôle central dans le cycle de la matière organique du sol, qui est généralement considéré comme un élément important de la qualité des sols. C'est ainsi que la biomasse microbienne et les activités des glycosidases peuvent servir d'indicateurs précoces des changements de propriétés du sol induites par le chaulage et les différents systèmes de travail du sol (Carter, 1986 ; Powlson *et al.*, 1987 ; Acosta-Martinez et Tabatabai, 2000). Des travaux antérieurs sur cette activité enzymatique ont montré que la β -glucosidase est la plus abondante et la plus facilement détectée des trois enzymes impliquées dans la dégradation de la cellulose dans le sol ; cette enzyme est rarement limitée par son substrat, ce qui est idéal pour examiner l'influence des paramètres physico-chimiques sur la dynamique de la matière organique (Eivazi et Tabatabai, 1988 ; Debosz *et al.*, 1999). Ceci fournit une indication précoce des changements dans le statut de la matière organique (Bandick et Dick, 1999 ; Monreal et Bergstrom, 2000).

Les glucosidases sont largement répandues dans la nature et se retrouvent dans les microorganismes, les animaux et les plantes (Eivazi et Tabatabai, 1988 ; Dick *et al.*, 1996). La β -glucosidase provient principalement des microorganismes hétérotrophes du sol, en particulier de champignons généralement saprophytiques de l'ordre des mucorales tels que les *Actinomucor* ou les *Mortierella* (Hayano et Tubaki, 1985). Sa synthèse dans de tels organismes est induite par les produits de la décomposition cellulosique, y compris le cellobiose, le glucose et leurs métabolites (Stewart et Leatherwood, 1976). Cette enzyme est très sensible aux changements de pH et aux pratiques agricoles (Madejón *et al.*, 2001) et aux différents modes de gestion du sol (Deng et Tabatabai, 1996 ; Bandick et Dick, 1999). De plus, il a été rapporté d'une part que l'activité de la β -glucosidase est corrélée à la concentration en carbone organique du sol (Tabatabai, 1994). Selon Landgraf et Klose (2002), l'activité β -glucosidase est régie par les quantités de carbone organique facilement minéralisable.

II.2.2. N-acétyl- β -D-glucosaminidase

La N-acétyl- β -D-glucosamine (Nac) (E.C.3.2.1.30), aussi appelée hexosaminidase (EC 3.2.1.52) dans la nomenclature des enzymes (Braidman *et al.*, 1974), est l'une des trois chitinases (β -glucosaminidase, chitobiosidase et endochitinase) capable de dégrader la chitine du sol. La chitine est le deuxième bio-polymère le plus abondant sur terre et la ressource la

plus importante de carbone organique et d'azote (Stryer, 1988 ; Wood *et al.*, 1994). C'est pourquoi la β -glucosaminidase est à la fois impliquée dans le cycle du carbone et de l'azote (Ekenler et Tabatabai, 2003). Dans la plante, elle est synthétisée en réponse aux infections microbiennes. Elle participe ainsi à la défense de la plante contre les agents pathogènes (Boiler *et al.*, 1983; Boiler, 1985). Des études ont montré que l'activité de la β -glucosaminidase du sol est affectée par les systèmes culturaux (Ekenler et Tabatabai, 2002). Cette activité est corrélée positivement avec l'azote minéral du sol et peut ainsi être utilisée comme un indice de la minéralisation de l'azote (Tabatabai *et al.*, 2010).

II.3. Déshydrogénase

Parmi les diverses enzymes du sol, l'activité déshydrogénasique a été reconnue comme un indicateur biochimique important dans le sol (Ryoichi et Senaratne, 2009). A l'origine, l'activité déshydrogénasique a été utilisée comme test pour mesurer la respiration des microorganismes du sol *in situ* (Casida *et al.*, 1964). Certaines fonctions enzymatiques sont associées aux microbes eux-mêmes, comme l'activité déshydrogénasique dont la localisation principale est la membrane plasmique des bactéries ou dans les membranes mitochondriales des champignons (Aon et Coloneri, 2001).

Cette activité enzymatique est donc d'origine intracellulaire et est essentiellement produite par les cellules microbiennes vivantes du sol. Les déshydrogénases du sol (EC 1.1.1) sont les principaux représentants de la classe des oxydoréductases (Gu *et al.*, 2009). Dans l'environnement, les déshydrogénases sont l'une des enzymes les plus importantes (Salazar *et al.*, 2011). L'activité déshydrogénasique est considérée comme l'un des meilleurs indicateurs de l'activité microbienne dans le sol parce que les déshydrogénases ne se produisent qu'à partir des cellules vivantes, contrairement aux autres enzymes qui sont des enzymes extracellulaires (Skujins, 1973 ; Alef, 1995 ; Garcia *et al.*, 1997). Elle est étroitement liée au processus d'oxydoréduction des communautés microbiennes du sol (Moeskops *et al.*, 2010) et est élevée en conditions anaérobies (Wolińska et Stępniewska, 2012). Lenhard (1956) a introduit le concept de la détermination de l'activité métabolique des micro-organismes dans le sol et d'autres habitats en mesurant l'activité déshydrogénasique. D'autres travaux ont également signalé que l'activité déshydrogénasique variait fortement dans l'horizon de surface du sol et que ce comportement ne correspondait pas à la distribution spatiale d'autres propriétés tels que le carbone organique, l'azote total, et le pH_{KCl} (Piotrowska *et al.*, 2011). En

outre, plusieurs facteurs édaphiques telles que l'humidité du sol, la disponibilité de l'oxygène, le potentiel d'oxydo-réduction, le pH, le contenu de matière organique, la profondeur du profil de sol, la température, la saison de l'année, ou l'utilisation de pesticides peuvent affecter de manière significative l'activité déshydrogénasique dans l'environnement du sol (Wolińska et Stepińska, 2012). L'effet positif de l'augmentation de la teneur en eau sur cette activité enzymatique du sol a été rapporté par Nannipieri *et al.*, (1990), l'activité de cette enzyme étant très sensible aux légères diminutions de la disponibilité en eau (Sardans et Peñuelas, 2005).

Par ailleurs, la texture du sol affecte d'autres propriétés du sol, telles que la disponibilité en eau, l'apport en éléments nutritifs, et dans une certaine mesure les valeurs de pH, qui déterminent à leur tour la croissance et l'activité microbienne (Ladd *et al.*, 1996 ; Görres *et al.*, 1998 ; Leirós *et al.*, 2000). Beyer *et al.* (1992) ont trouvé une corrélation positive entre la teneur en argile et l'activité déshydrogénasique. Quant à Li et Sarah (2003), ils ont signalé une diminution significative de l'activité déshydrogénasique avec l'aridité croissante le long d'un transect climatique dans le désert de Judée en Israël. Il convient de souligner que l'interprétation des résultats de l'activité déshydrogénasique peut parfois s'avérer difficile parce que la vie microbienne est affectée par de nombreux facteurs du sol, incluant le carbone organique, le pH, l'engrais azoté, la gestion des cultures et la texture du sol.

III. Activités enzymatiques et communautés microbiennes du cycle de l'azote

III.1. Cycle de l'azote et ses principaux processus

L'azote (N) est un composant important des protéines et des acides nucléiques, et est donc un élément nutritif essentiel pour tous les organismes. En outre, l'assimilation de l'azote par les organismes régule la productivité primaire dans de nombreux écosystèmes naturels. L'azote existe dans de multiples états d'oxydation et de formes chimiques dans la nature, et les transformations entre ces différentes formes sont souvent catalysées par des micro-organismes (Hayatsu *et al.*, 2008). Dans la nature, l'azote est présent sous deux états : à l'état libre c'est-à-dire dans l'air (azote atmosphérique), il représente les 4/5 de gaz dans l'atmosphère, et à l'état combiné, sous la forme minérale (ammoniacque, nitrate) ou organique. Dans le sol, l'azote (N) est essentiellement sous forme organique (Stevenson, 1982) mais existe également sous forme minérale et sous forme gazeuse (N_2 ; N_2O). Söderlund et Svensson (1976) ont estimé que l'azote organique du sol compte pour 95 % du pool d'azote total du sol.

III.1.1. Cycle de l'azote dans les écosystèmes terrestres

Le cycle de l'azote est un cycle biogéochimique qui décrit la succession des modifications subies par les différentes formes de l'azote (diazote, nitrate, nitrite, ammoniac, azote organique, oxydes d'azote gazeux). La plupart des étapes clés de ce cycle sont réalisées par les communautés microbiennes et leur importance écologique et agricole est considérable dans la mesure où elles régissent le bilan de N dans le sol et conditionnent la mise à la disposition des plantes des formes minérales. Généralement, les plantes absorbent l'azote sous forme d'ions nitrate (NO_3^-) ou ammonium (NH_4^+) plutôt que des acides aminés (ou d'autres monomères) sauf dans les écosystèmes où la minéralisation de l'azote est très faible. Dans le sol, l'azote joue également un rôle important dans la croissance des plantes et la production primaire des écosystèmes (Vitousek et Howarth, 1991).

Par ailleurs, les plantes sont incapables d'utiliser directement l'azote moléculaire (N_2) présent dans l'air. Celui-ci est donc prélevé sous forme de nitrate et d'ammonium dans le sol par les racines des plantes. Dans le cycle de l'azote, quatre processus majeurs régulent sa transformation : la fixation, la minéralisation (ammonification), la nitrification et la dénitrification (Figure 2). La fixation et la conversion du diazote ou azote moléculaire (N_2) en NH_4^+ sont réalisées par les organismes diazotrophes, bactéries et archéobactéries, possédant une enzyme spécifique, la nitrogénase (Howarth *et al.*, 1988 ; Newton, 2007).

La minéralisation (ou ammonification) est une oxydation de l'azote organique (protéines, acides aminés) des matières organiques « mortes » qui est réalisée par de très nombreux microorganismes hétérotrophes. Ceux-ci récupèrent de l'énergie des réactions d'oxydation, dont un produit final est l'ammonium. Cette étape clé est donc fortement liée au cycle du carbone. La nitrification est définie comme la conversion biologique de l'azote minéral réduit (NH_3 ou NH_4^+) en azote minéral oxydé sous forme NO_2^- ou NO_3^- . L'ammoniac est d'abord oxydé en hydroxylamine ($\text{NH}_3 + \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O}$) sous l'action de l'enzyme ammoniac monooxygénase (AMO). C'est une enzyme membranaire à plusieurs sous-unités, dont la sous-unité α est codée par le gène *amoA* (Rotthauwe *et al.*, 1997 ; Treusch *et al.*, 2005). C'est une enzyme liée à la membrane externe de la bactérie oxydatrice de l'ammonium (Hyman et Arp, 1992 ; Norton *et al.*, 2002). L'hydroxylamine est ensuite oxydée en nitrite ($\text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NO}_2^- + 4\text{e}^- + 5\text{H}^+$) sous l'action d'une autre enzyme associée au périplasma, l'hydroxylamine oxydoréductase (HAO) (Prince et George, 1997 ; Arp *et al.*, 2002). C'est

une enzyme périplasmique située entre la membrane cytoplasmique et la membrane externe (Hooper *et al.*, 1997). Cette étape de nitritation, l'oxydation du NH_4^+ en NO_2^- , est réalisée par les bactéries oxydatrices de l'ammonium (AOB représentées par exemple par les genres *Nitrosomonas* et *Nitrosospira*) et les archées oxydatrices de l'ammonium (AOA du phylum des Thaumarchaeota) (Kowalchuk et Stephen, 2001; Leininger *et al.*, 2006).

La nitration, seconde étape de la nitrification, consiste en l'oxydation du NO_2^- en NO_3^- . Elle est réalisée par les bactéries oxydatrice du nitrite (NOB notamment représentés par les genres *Nitrobacter*, et *Nitrospira* dans le sol) (Prosser, 1989 ; Attard *et al.*, 2010). Il a longtemps été admis que la nitrification était conduite seulement par des bactéries autotrophes qui obtiennent leur énergie à partir de l'oxydation des formes inorganiques de N et utilisent le gaz carbonique comme source de carbone. Il est désormais reconnu que certains nitrifiants sont mixotrophes (capable d'utiliser de façon concomitante NO_2^- et le carbone organique) par exemple pour certains AOA (Prosser et Nicol, 2008) ou pour certains bactéries oxydatrices du nitrite (NOB) (Le Roux *et al.*, 2016). Il semble également que certains nitrifiants réalisent les deux étapes de la nitrification (Daims *et al.*, 2015).

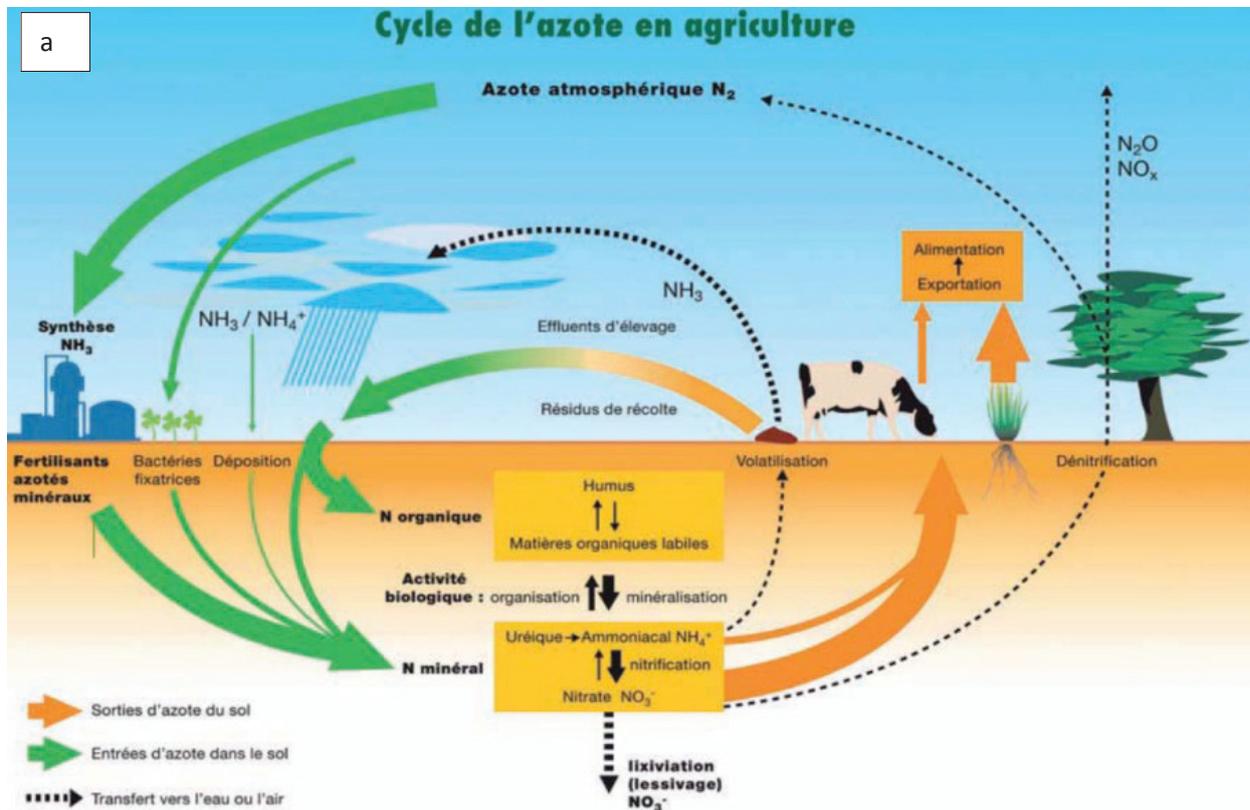


Figure 2. (a) Cycle de l'azote (N) et différents processus microbiens

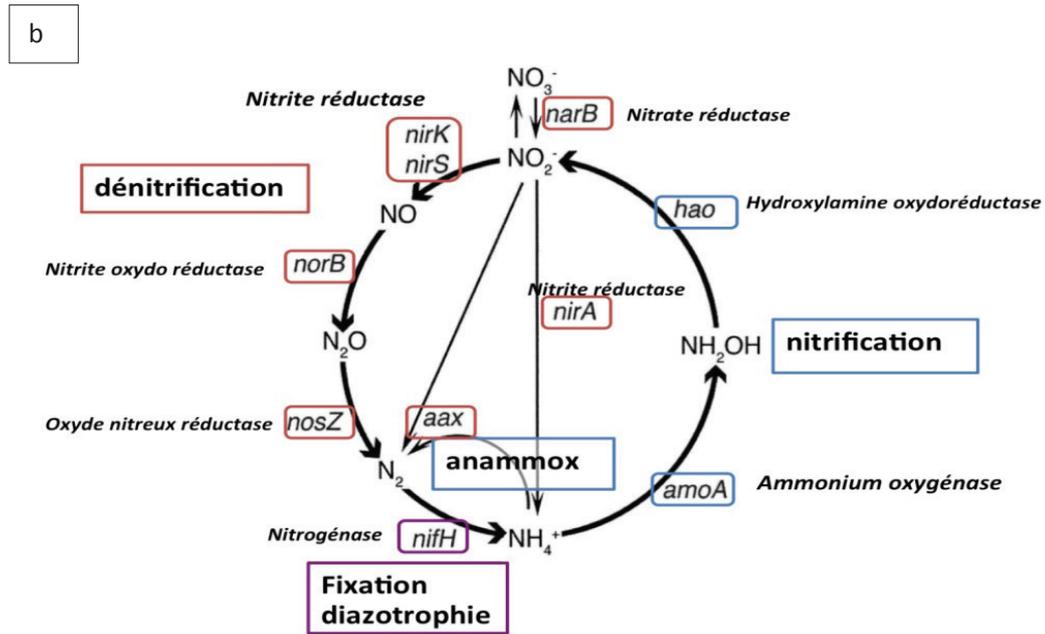


Figure 2. (b) Cycle de l'azote (N) et gènes impliqués. Nitrite réductase (*nirK* et *nirS*), nitrite oxydoréductase (*norB*), oxyde-nitreux réductase (*nosZ*), nitrogénase (*nifH*), ammonium oxygénase (*amoA* (*amoA-AOA* pour archées et *amoA-AOB* pour bactéries)), hydroxylamine oxydoréductase (*hao*), nitrate réductase (*nar*) et oxydation anaérobie de l'ammonium anammox (*aax*). En rouge les étapes en anaérobie, en bleu les étapes en aérobie et en violet l'étape de fixation (aérobie ou anaérobie) (Source Srikanthasamy, 2015).

Dans les environnements agricoles, alors que la nitrification fournit la source d'azote primaire (NO_3^-) pour de nombreuses plantes, le NO_3^- excessif peut provoquer la pollution de l'eau par lessivage du sol (Morimoto *et al.*, 2011). La nitrification, sous certaines conditions, peut produire également du protoxyde d'azote (N_2O), qui est à la fois un puissant gaz à effet de serre et une substance appauvrissant la couche d'ozone (Ravishankara *et al.*, 2009). Les facteurs proximaux qui affectent l'activité des bactéries nitrifiantes sont surtout: la disponibilité de l' NH_4^+ (Malhi et McGill, 1982 ; Assémien *et al.*, 2017), la température du sol (Haynes (1986), la structure et la teneur en eau du sol (Malhi et McGill, 1982), les métaux lourds et les engrais (Martin, 1979 ; Simonin *et al.*, 2016 ; Assémien *et al.*, 2017), la concentration en oxygène (Bodelier *et al.*, 1996) et le pH (Pietri et Brookes, 2008).

La dénitrification est une voie de respiration anaérobie microbienne à travers laquelle NO_3^- ou NO_2^- sont séquentiellement réduits en N_2 via les intermédiaires NO et N_2O (gaz): $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$. Les principaux facteurs proximaux qui affectent l'activité des bactéries dénitrifiantes sont surtout: la concentration en nitrate (Fillery, 1983 ; Sigunga *et al.*, 2002), la teneur en matière organique du sol (Brettar et Höfle, 2002), l'humidité et la

température du sol (Mahli *et al.*, 1990; Weier *et al.*, 1993 ; Dannenmann *et al.*, 2008), la concentration en oxygène (Pesek *et al.*, 1971 ; Fillery, 1983) et le pH (Müller *et al.*, 1980 ; Dannenmann *et al.*, 2008).

La dénitrification est le processus biologique principal dans les sols qui renvoie l' N_2 vers l'atmosphère et ferme le cycle N (Philippot *et al.*, 2007). La réaction de dénitrification est catalysée par différentes enzymes spécifiques appelées réductases, à savoir la nitrate réductase (NAR), la nitrite réductase (NIR), l'oxyde nitrique réductase (NOR) et enfin l'oxyde nitreux réductase (N_2OR). C'est aussi la voie principale des émissions de NO et de N_2O du sol (Houlton et Bai, 2009). La nitrite réductase est l'enzyme clé de la dénitrification, car elle catalyse la réduction du NO_2^- en produits gazeux (Henry *et al.*, 2004) qui est la réaction qui limite le taux de dénitrification (Zumft, 1997). Les marqueurs génétiques pour la dénitrification sont narG et napA (marqueurs de la nitrate réductase), nirK et nirS (marqueurs de la nitrite réductase), norB (marqueur de l'oxyde nitrique réductase) et nosZ (marqueur de l'oxyde nitreux réductase) (Henry *et al.*, 2006 ; Kandeler *et al.*, 2006 ; Smith *et al.*, 2007 ; Yu *et al.*, 2014). Ces réactions enzymatiques sont réalisées par des bactéries hétérotrophes anaérobies facultatives, comme *Pseudomonas* ou *Bacillus* (Philippot *et al.*, 2007). En absence d'oxygène (conditions anoxiques), ces bactéries utilisent les nitrates ou les produits intermédiaires de la dénitrification comme accepteur final d'électron dans la respiration cellulaire.

La dénitrification est d'une grande importance écologique puisque qu'il s'agit de la voie majeure de perte d'azote fixé dans l'environnement. Elle occupe également une place importante dans le bilan en N à l'échelle de l'écosystème et à l'échelle globale. Les bactéries dénitrifiantes influencent à la fois le cycle du carbone et de l'azote.

Il faut noter que le cycle de l'azote est plus complexe que cela, avec d'autres processus possibles. Il a ainsi été prouvé que le nitrate ou le nitrite pouvait servir à oxyder l'ammonium pour produire de l'azote gazeux dans un processus appelé l'anammox (Mulder *et al.*, 1995). Cette production de N_2 peut être la conséquence de l'activité des anammox (planctomycètes) qui utilisent l'ammonium et le nitrite en conditions anaérobies (Op den Camp *et al.*, 2007). Cette dénitrification autotrophe a pour intermédiaires les produits toxiques hydroxylamine (NH_2OH) et hydrazine (N_2H_4) (Hulth *et al.*, 2005 ; Kirchman *et al.*, 2008). Certains champignons peuvent également réduire le nitrate en présence d' O_2 . Ils peuvent également produire du N_2O et du N_2 à partir de nitrite et de composés azotés (co-dénitrification). Enfin,

le nitrate peut également subir une autre transformation *via* la réduction dissimilative vers l'ammonium (DNRA) réalisée par certaines bactéries (anaérobies facultatifs, des réducteurs anaérobiques du fer, du soufre ou des SO_4^{2-} , ou par des bactéries anammox (Kraft *et al.*, 2011 ; Kirchman *et al.*, 2008). La DNRA est une composante du cycle de l'azote terrestre et océanique (Preisler *et al.*, 2007 ; Stief *et al.*, 2014). Contrairement à la dénitrification, elle oeuvre à la conservation l'azote biodisponible dans le système, produisant de l'ammonium soluble plutôt que du gaz dinitrogène non réactif (Marchant *et al.*, 2014). Les processus de fixation de l'azote atmosphérique, DNRA et Anammox sont généralement peu importants dans les agroécosystèmes parce que la fixation biologique du N_2 est extrêmement faible dans les systèmes où la disponibilité en azote minéral est suffisamment forte (pour la fixation ; Srikanthasamy, 2015) et où il n'existe pas de sols riches en matière organique subissant de longues périodes d'anoxie (Anammox ; Mulder *et al.*, 1995). Bien que les sols de la zone étudiée aient des teneurs relativement faibles en N minéral, les entrées d'azote par fixation restent faibles (Abbadie *et al.*, 1992).

III.1.2. Limitation du fonctionnement et de la production primaire par l'azote du sol dans la zone de savanes humides en Afrique de l'Ouest

La disponibilité de l'azote pour les plantes dépend principalement des activités microbiennes, notamment des étapes clés de la fixation, ammonification, nitrification et dénitrification (Figure 2). Tous ces processus sont des étapes clés pour le fonctionnement de l'écosystème, car leurs produits et substrats interviennent dans la nutrition des plantes. Ces différents processus microbiens ainsi que les interactions avec les végétaux et le sol vont moduler l'efficacité du recyclage de l'azote et son temps de résidence dans les différents compartiments épigés et hypogés.

Les sols de savanes étudiés sont des écosystèmes limités en éléments nutritifs, principalement en azote (N) et en phosphore (P) qui restreignent la production primaire (Leriche *et al.*, 2003). Cette limitation est due (1) à la texture (argilo-sableuse) ne favorisant pas l'adsorption des minéraux sur les surfaces minérales du complexe argilo-humique, (2) à différentes fortes perturbations comme feux ou herbivorie, et (3) au climat de type intertropical humide (alternance de saisons sèches et pluvieuses) favorisant les pertes par lessivage ou l'altération de l'activité microbienne par cycles de sécheresse-humectation.

III.2. Communautés microbiennes du sol impliquées dans des étapes clés du cycle de l'azote

III.2.1. Ecologie des communautés ammonifiantes du sol

Les bactéries ammonifiantes décomposent les substances organiques azotées en ammoniac ou en ions ammonium. Cette forme est transitoire et sera transformé ensuite en azote nitrique. Vu la diversité des micro-organismes ammonifiantes, l'ammonification est un processus sans exigence écologique particulière. En effet, quelles que soient les conditions de l'environnement, il se trouve toujours dans les sols des espèces microbiennes ammonifiantes adaptées à ces conditions, sauf bien sûr s'il s'agit de conditions incompatibles avec la vie. L'ammonification est la transformation de l'azote organique par lyse enzymatique qui aboutit à la production d'ammonium. Elle est assurée par la microflore ammonifiante (bactéries et champignons), qui intervient à des conditions très variées de pH, d'humidité ou de température (Roger et Garcia, 2001). L'ammonification: les molécules issues du métabolisme et présentes dans le milieu après excrétion, sont décomposées en ammoniac (une forme minérale de l'azote) par des bactéries (*Achromobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Nitrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*).

III.2.2. Ecologie des communautés nitrifiantes du sol

La niche écologique est un des concepts théoriques de l'écologie (Pocheville, 2011). Aussi, la niche écologique correspond au rôle d'une espèce dans le fonctionnement de l'écosystème. Dans les sols, il semble qu'il y ait un certain niveau de différenciation entre les niches écologiques des communautés AOA et AOB, principalement en relation avec le pH, les concentrations de NH_3 et les formes organiques de l'azote. En effet, des travaux antérieurs ont révélé une forte abondance de gènes *amoA* AOA dans de nombreux sols acides (Leininger *et al.*, 2006 ; Boyle *et al.*, 2008 ; Chen *et al.*, 2008 ; Stopnišek *et al.*, 2010 ; Isobe *et al.*, 2012) notamment aux pH inférieurs à 5,5 (Nicol *et al.*, 2008 ; Gubry-Rangin *et al.*, 2010 ; Yao *et al.*, 2013). Dans les sols fortement acides, l'abondance de l'AOA augmente ou reste inchangée avec la diminution du pH, tandis que l'abondance des AOB diminue (He *et al.*, 2007 ; Yao *et al.*, 2011 ; Taylor *et al.*, 2012). Les travaux de Wessén *et al.*, (2010) et Verhamme *et al.*, (2011) ont également indiqué une préférence des AOA pour les sols ayant de faibles concentrations en NH_4^+ et des teneurs en éléments nutritifs combinés sous forme organiques assez faibles (Erguder *et al.*, 2009). Les investigations menées sur des bases de données issues

des sols des régions tempérées ont révélé une forte influence de la composante biogéographique sur la distribution des phylotypes AOA et AOB. Ainsi, Prosser et Nicol, (2012) ont mis en évidence l'importance de la capacité des oxydatrices de l'ammonium à réaliser un développement mixotrophique. La présence de ce type de nitrifiants pourrait expliquer les taux appréciables de nitrification, observées dans certains écosystèmes pour lesquels les sols ont une teneur élevée en carbone (Stark et Hart, 1997).

Cependant, dans les sols tropicaux, très peu d'études révèlent l'effet des facteurs environnementaux sur l'activité des nitrifiants. Par exemple, l'embranchement de *Nitrosospira* cluster 2 a été trouvé en grande abondance dans les sols acides (Boyle *et al.*, 2008), et il a été suggéré qu'il pourrait être plus fréquent dans les sols forestiers tempérés froids que dans les sols tropicaux chauds (Avrahami et Conrad, 2005 ; Fierer *et al.*, 2009). Jusqu'à présent, les séquences du gène *amoA* des AOA et AOB ont été décrites à partir de sols de forêts tropicales humides de Trinidad (de Gannes *et al.*, 2014), de Porto Rico (Pett-Ridge *et al.*, 2013) et du Costa Rica (Carney *et al.*, 2004) ainsi que de deux différents sols forestiers subtropicaux en Chine (Yao *et al.*, 2011 ; Isobe *et al.*, 2012). Comme pour beaucoup de sols forestiers tempérés acides, les auteurs ont déduit que les AOA sont le principal groupe à conduire la nitrification dans les sols forestiers tropicaux (Yao *et al.*, 2011 ; Lammel *et al.*, 2015).

D'une manière générale, les AOB ont en commun la capacité d'utiliser l'ammoniac comme source unique d'énergie et de dioxyde de carbone comme principale source de carbone (Hooper *et al.*, 1997) : ce sont des chimiolitho-autotrophes et des aérobies strictes, bien que certaines espèces de bactéries oxydatrices de l'ammonium soient très tolérantes aux environnements peu oxygénés ou anoxiques (Bodelier *et al.*, 1996). Par ailleurs, des études en milieu marin, puis dans différents sols, ont montré l'existence mais également l'importance potentielle des archées oxydatrices de l'ammonium (AOA). D'autres travaux ont également rapporté que les AOA sont des acteurs potentiellement importants du cycle de l'azote dans de nombreux écosystèmes, même si certaines exceptions peuvent être observées en termes d'abondance d'AOA (Caffrey *et al.*, 2007 ; Santoro *et al.*, 2008). Par ailleurs, les auteurs ne s'accordent pas sur la prédominance entre AOA et AOB, qui pourrait varier suivant les conditions biotiques et abiotiques du sol (Prosser et Nicol, 2012).

Des travaux antérieurs ont également montré que la salinité était un facteur important capable de déterminer la diversité de la structure de la communauté d'AOA (Francis *et al.*, 2005 ; Mosier et Francis, 2008) et leur distribution spatiale (Sahan et Muyzer, 2008).

Selon ces auteurs, il est probable qu'en plus des espèces AOA tolérantes à la large gamme de conditions de salinité (en milieu marin ou y compris en sols salés), certains écotypes d'AOA soient spécifiques à une niche étroite. En effet, il semble que les AOA aient une grande diversité écologique et phylogénétique (Erguder *et al.*, 2009). Des analyses quantitatives moléculaires réalisées sur des échantillons de sol indiquent que les AOA sont plus dominants que les AOB dans la majorité des sols ayant des valeurs de pH aussi faibles que 3,7 (Leininger *et al.*, 2006; He *et al.*, 2007; Boyle *et al.*, 2008). Il semble qu'en général les écotypes d'AOA dans les terres arables soient plus tolérants aux valeurs de pH faibles que les écotypes AOB (Erguder *et al.*, 2009). De la même manière, il semble qu'il y ait une forte différenciation de niche écologique entre les *Nitrobacter* et les *Nitrospira* dans les sols. Par exemple, Le Roux *et al.*, (2016) ont caractérisé et prédit les réponses de groupes fonctionnels microbiens clés du sol aux changements globaux multifactoriels ; ils ont constaté des réponses contrastées entre trois groupes de bactéries oxydtrices du nitrite. Selon ces auteurs, les *Nitrobacter* affiliés à *N. hamburgensis*, les *Nitrobacter* non affiliés à *N. hamburgensis* et les *Nitrospira*, pourraient constituer 3 groupes fonctionnellement bien distincts possédant des traits écophysologiques contrastés. Les NOB de type *Nitrospira* ont des constantes de demi-saturation faibles pour NO₂ et O₂, alors que les NOB de type *Nitrobacter* se comporte mieux dans des conditions de haute disponibilité en NO₂ et O₂ (Schramm *et al.*, 2000; Wagner *et al.*, 2002). Ainsi, Bock *et al.* (1983) ont également montré que certains *Nitrobacter*, comme *N. hamburgensis*, peuvent avoir un meilleur développement en condition de mixotrophie (capable d'utiliser de façon concomitante NO₂ et le carbone organique) et ont une meilleure performance sous des teneurs en O₂ relativement faibles.

Toutefois, il existe une diversité parfois importante en termes d'écophysologie et de traits fonctionnels au sein de chacun de ces groupes. Cette diversité fonctionnelle a été suggérée par French *et al.*, (2012) et Prosser et Nicol (2012) respectivement pour les AOA et AOB. Plus récemment, Xie *et al.* (2014) ont démontré l'existence d'une diversité fonctionnelle substantielle au sein des AOA et AOB. Ces auteurs ont ainsi rapporté que les abondances des principaux groupes de AOB de sols du plateau Tibétain étaient corrélés positivement au pâturage, notamment les groupes 3a et 1-1. Le groupe 3a a été précédemment identifié comme un groupe majeur d'AOB promu par le pâturage dans le sol des prairies (Le Roux *et al.*,

2008). Xie *et al.* (2014) ont également rapporté qu'au niveau des principaux groupes d'AOA, une forte diversité fonctionnelle intragroupe a été observée. En effet, l'un des 5 principaux groupes (M1) représentant respectivement 81,1 %, 49,9 % et 8,7 % d'AOA a réagi négativement au pâturage soumis à différents traitements par perte d'abondance. En revanche, les 4 autres principaux groupes d'AOA dans ce sol (M2, M4, M5 et arable) ont réagi positivement au pâturage par augmentation d'abondance. Xie *et al.*, 2014 ont expliqué que, l'augmentation apparente de l'abondance de l'AOA avec le pâturage résulte en fait d'une augmentation marquée de l'abondance de plusieurs groupes AOA parallèlement à une forte diminution de l'abondance relative d'AOA du groupe M1.

Par exemple au niveau des communautés nitrifiantes du sol, Yan *et al.* (2003) et Banerjee et Siciliano (2012) ont révélé d'importantes différences dans l'écophysiologie et les réponses des communautés bactériennes porteuses des gènes fonctionnels *nirS* et *nirK*. Par ailleurs, Xie *et al.* (2014) ont affirmé que parmi les *nirK*, les abondances des communautés déterminées par le biais des gènes fonctionnels codant pour de 4 groupes majeurs (I-2, II-1, II-3 et III) ont également été corrélées positivement au pâturage (en continu et saisonnier) comparé à un traitement sans pâturage (témoin), leur abondance étant positivement liée à la concentration de nitrate et négativement à la concentration de C du sol. En revanche, l'abondance des dénitrifiants appartenant au groupe *nirK* I-1 a diminué avec le pâturage et a été positivement corrélée à l'humidité et au carbone.

Parallèlement, la plupart des groupes de *nirS* n'ont pas répondu de manière significative au pâturage, ou ont affiché des abondances les plus élevées. La plupart des derniers groupes (I-1, I-2, III-3) ont été corrélé négativement au pH du sol et, dans une moindre mesure, au nitrate du sol. En revanche, deux groupes majeurs de *nirS* (III-1 et III-4) ont répondu négativement à l'intensité du pâturage. Cela démontre bien qu'une grande diversité fonctionnelle existe dans le grand groupe des dénitrifiants de type *nirK* et *nirS*.

III.2.3. Ecologie des communautés dénitrifiantes du sol

La dénitrification dépend d'un grand nombre de micro-organismes taxonomiquement divers et qui ont acquis la capacité de dénitrifier par l'intermédiaire de différents mécanismes évolutifs (Tiedje *et al.*, 1983). La dénitrification dans le sol est principalement effectuée par des bactéries hétérotrophes aérobies facultatives, telles que certaines espèces de *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Paraccocus*, et des bactéries autotrophes, comme *Thiobacillus denitrificans* (Philippot *et al.*, 2007 ; Demanèche *et al.*, 2009). La dénitrification se retrouve

également chez quelques archaea (Cabello *et al.*, 2004, Bartossek *et al.*, 2010) et des champignons (Shoun *et al.*, 1992 ; Hayatsu *et al.*, 2008), Ascomycètes (par exemple *Fusarium oxysporum*, *Fusarium Solani*, *Cylindrocarpon tonkinense* et *Gibberella fujiiuroii*) et Basidiomycètes (par exemple, *Trichosporon cutaneum*).

L'importance de la dénitrification en tant que voie significative de perte d'azote dans les écosystèmes. Cependant, les sols tropicaux sont considérés comme les plus grandes sources naturelles de NO et de N₂O en raison de la combinaison des facteurs climatiques, des propriétés du sol et de l'importante rapidité avec laquelle l'azote est recyclé (Davidson *et al.*, 2001; Neill *et al.*, 2005 ; Stehfest et Bouwman, 2006). Toutefois, certaines études ont montré que les sols forestiers tropicaux sont caractérisés par une capacité de dénitrification généralement plus faible que les sols forestiers tempérés, avec une plus grande variabilité temporelle et spatiale due aux conditions édaphiques (Robertson et Tiedje, 1988 ; Xu et Cai, 2007 ; Zhang *et al.*, 2014).

Par ailleurs, des études indiquent que de nombreuses propriétés du sol peuvent affecter les communautés dénitrifiantes et les taux de dénitrification dans les sols y compris tropicaux : le pH, le potentiel redox, la pression partielle d'O₂, les taux de C et N organiques disponibles et la concentration de NO₃⁻. Par exemple, les abondances des gènes de dénitrification (*nirS* et *nosZ*) plus élevées dans un inceptisol (classification taxonomique du sol) qu'un oxisol (classification taxonomique du sol) en forêt tropicales humides de Porto Rico, ont été positivement corrélées avec les concentrations de C, N et P du sol (Stone *et al.*, 2015). Yu *et al.*, (2014) ont constaté que l'abondance des copies des gènes *norB* et *nosZ* était positivement corrélée avec le pH du sol. Ces auteurs ont également affirmé que les flux de NO et N₂O des sols forestiers acides (pH 4,4-4,7) étaient plus faibles que dans les sols de terres agricoles à pH plus élevé (5,0-5,3) dans une région subtropicale de la Chine. La composition des espèces végétales a également été suggérée comme un facteur important dans la détermination de la distribution et de l'abondance des dénitrifiants dans le sol (Bremer *et al.*, 2007 ; Le Roux *et al.*, 2013). Cependant, jusqu'à présent, une seule étude a examiné l'influence de la composition des espèces végétales (facteurs distaux vs facteurs proximaux) sur l'abondance des gènes fonctionnels du sol N dans les sols tropicaux (Reverchon *et al.*, 2015). Lammel *et al.*, (2015) ont constaté que les sols de forêt tropicale vierge en Amazonie présentaient une teneur en N et une abondance plus importante de gènes dénitrifiants (*nirK* et *nosZ*) que les pâturages et les champs de culture, cette abondance des gènes dénitrifiants (*nirK* et *nosZ*) étant corrélée aux émissions de N₂O.

Par exemple, le pH du sol est l'un des principaux facteurs qui contrôlent l'activité microbienne à grande échelle et le rapport N_2O/N_2 pour la dénitrification (Šimek *et al.*, 2002 ; Liu *et al.*, 2010), apparemment en raison de l'affaiblissement du fonctionnement de la N_2O -réductase à faible pH (Šimek *et al.*, 2002 ; Zhu *et al.*, 2013). A l'inverse, Xu et Cai (2007) ont montré que la capacité de dénitrification n'était pas corrélée au pH du sol dans les sols subtropicaux humides, mais à la teneur en carbone organique. En outre, aucune corrélation entre le pH du sol et le taux de dénitrification n'a été observée dans six types de sols forestiers dans différentes zones climatiques (forêts tempérées, tropicales et subtropicales (Zhang *et al.*, 2009). Toutefois, Yu *et al.*, (2014) ont signalé que le faible pH du sol (<4,7) a diminué les taux de dénitrification et les émissions de NO et de N_2O dans les sols forestiers subtropicaux de Chine. Zhang *et al.* (2014) ont montré que le potentiel redox, plutôt que le pH du sol ou le carbone organique, était la principale variable du sol influençant la capacité de dénitrification et l'abondance des dénitrifiants dans les sols forêts subtropicales de Chine. Étant donné que la dénitrification se produit lorsque l' O_2 du sol devient limitant, les dénitrifiants sont probablement plus répandus et plus résistants dans les sols tropicaux en raison de leur environnement redox (Pett-Ridge *et al.*, 2006).

Pett-Ridge *et al.* (2006) ont effectué une expérience d'incubation en condition redox fluctuante et en utilisant des sols de forêts tropicales de Porto Rico. Ils ont constaté que la dénitrification tendait à être la plus élevée dans les sols qui avaient été anoxiques pendant plusieurs semaines. Ces résultats indiquent que les dénitrifiants pourraient dominer dans des situations où l' O_2 est limitant de façon constante, alors que les microbes qui sont à l'origine de la DNRA (réduction de nitrates en ammonium) peuvent être plus compétitifs pour le NO_3^- dans un environnement redox fluctuant (Tiedje, 1988). D'autre part, des transitions oxydées / anoxiques fréquentes peuvent également inhiber l'expression de l'oxyde nitreux réductase, car son activité est plus sensible à O_2 comparée à d'autres enzymes dénitrifiantes (Morley *et al.*, 2008).

Les dénitrifiants peuvent avoir différents gènes impliqués dans la dénitrification (Zumft et Kroneck, 2006 ; Jones *et al.*, 2008). De même, alors que certains micro-organismes hébergent toutes les enzymes impliquées dans le processus de la dénitrification et peuvent potentiellement réaliser la voie complète, d'autres manquent du gène de l'oxyde nitreux réductase et ne produisent que du N_2O comme produit final de dénitrification (Philippot *et al.*, 2011). Jusqu'à récemment, la dénitrification était le seul processus biologique connu qui réduisait le N_2O par la N_2O réductase codée par le gène *nosZ* (Chapuis-Lardy *et al.*, 2007).

Cependant, une nouvelle lignée de la N₂O-réductase (*nosZ* appartenant au clade II), abondante et répandue dans les sols, a été identifiée (Jones *et al.*, 2013 ; Orellana *et al.*, 2014 ; Sanford *et al.*, 2012). En effet, Sanford *et al.*, (2012) et Jones *et al.*, (2013), ont identifié ces gènes comme étant des réducteurs de N₂O possédant des séquences *nosZ* atypiques, qui sont des facteurs potentiels de la réduction du N₂O dans les sols. Ainsi, la compréhension de l'écologie de ce groupe fonctionnel est potentiellement importante pour atténuer les émissions de N₂O des sols. Ce clade de réducteurs de N₂O, nouvellement identifié, est diversifié et répandu dans les environnements terrestres (Jones *et al.*, 2013), mais l'écologie de ce groupe est encore largement inconnue. Les organismes dénitrifiants peuvent avoir différentes combinaisons de gènes impliqués dans la voie de dénitrification (Zumft et Kroneck, 2006 ; Jones *et al.*, 2008).

III.2.4. Ecologie des communautés fixatrices du diazote du sol

La fixation biologique de N est la plus grande nouvelle source naturelle d'azote dans la plupart des écosystèmes terrestres (Galloway *et al.*, 2004). Cette fixation de l'azote est en réalité la réduction biologique de l'azote atmosphérique en ammonium, une étape qui est essentiellement réalisée par des bactéries qui hébergent le gène *nifH*, un gène clé codant pour la partie structurelle de la nitrogénase, la nitrogénase réductase (Reed *et al.*, 2011). Au cours de ce processus, les microorganismes diazotrophiques symbiotiques et libres réduisent l'azote atmosphérique (N₂) sous sa forme biologiquement active et disponible. Par ailleurs, le gène *nifH*, codant pour la sous-unité reductase de la nitrogénase, l'enzyme qui catalyse cette réaction, a été largement utilisé comme marqueur génétique pour étudier la diversité et l'abondance des diazotrophes (Zehr *et al.*, 2003; Gaby et Buckley, 2011). Des études réalisées dans la forêt tropicale humide du Costa Rica ont montré que les sols étaient dominés par des clones *nifH* apparentés au genre *Heliobacterium* (Phylum Firmicutes), ainsi que *Gluconacetobacter*, *Methylobacterium*, *Azospirillum* et *Zymomonas* (toutes des alpha-protéobactéries; Reed *et al.*, 2010).

Par exemple, des études antérieures réalisées sur des communautés diazotrophes des forêts tropicales primaires et secondaires de l'ouest du bassin de l'Amazonie (Brésil), ont rapportées que celles-ci étaient généralement ubiquitaires. De plus, ces auteurs ont montré que ces communautés étaient principalement composées de nombreuses alpha et bêta-protéobactéries (par exemple, celles des genres *Azospirillum*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*,

Méthyllobactérie, Burkholderia), Firmicutes (par exemple, *Paenibacillus, Heliobacterium*), et de cyanobactéries (par exemple, *Nostoc, Anabaena* ; Mirza *et al.*, 2014). En outre, jusqu'à ces dernières années, les diazotrophes libres étaient la forme dominante des bactéries fixatrices d'azote dans les sols forestiers tempérés et les diazotrophes symbiotiques étaient la forme dominante des bactéries fixatrices d'azote dans les forêts tropicales, où les légumineuses sont communes (Cleveland *et al.*, 1999). Cependant, des études récentes réalisées dans les forêts tropicales indiquent que les bactéries fixatrices de l'azote vivant librement dans la litière et dans le sol peuvent être plus importantes qu'on ne le pensait (Hobbie et Vitousek, 2000 ; Hedin *et al.*, 2009, Reed *et al.*, 2013). Par ailleurs, les écosystèmes tropicaux sont caractérisés par des taux de fixation de l'azote beaucoup plus élevés que la moyenne qui peuvent refléter l'hétérogénéité spatiale très faible des facteurs abiotiques affectant la dynamique de la communauté diazotrophique (Reed *et al.*, 2010). Alors que de nombreux sols tropicaux ont généralement des teneurs faibles en éléments nutritifs, il existe une grande hétérogénéité spatiale et temporelle de la disponibilité des éléments nutritifs, même pour des sols fortement altérés (Townsend *et al.*, 2008). La distribution et l'activité des organismes fixant l'azote dans les sols forestiers tropicaux sont principalement régies par l'humidité (Cusack *et al.*, 2009), le rapport C/N (Vitousek *et al.*, 2002) et la disponibilité du P et du molybdène (Pearson et Vitousek, 2002 ; Wurzbarger *et al.*, 2012). Par ailleurs, Stone *et al.* (2015) ont trouvé que les Inceptisols (classification taxonomique) (sols riches en minéraux primaires) peuvent fournir un environnement plus favorable aux communautés diazotrophes mais également aux communautés dénitrifiantes par rapport aux Oxisols (sols acides, riches en minéraux secondaires Fe et Al) dans deux forêts tropicales typiques de Porto Rico. En effet, des taux de perte d'azote plus élevés dus à la lixiviation dans les horizons profonds des Inceptisols pourraient produire une rétroaction sur les processus du cycle N de surface, augmentant la demande microbienne en N et stimulant finalement la fixation de l'azote. De plus, les conditions anaérobies peuvent augmenter significativement les taux de fixation de l'azote biologique car l'O₂ inhibe l'activité de l'enzyme nitrogénase. La teneur en eau est un facteur important dans la régulation des taux de fixation de l'azote biologique (Hicks *et al.*, 2003). Les concentrations en P et les oligo-éléments jouent un rôle important dans la régulation de la fixation de l'azote dans les forêts tropicales. La forte demande en P des diazotrophes pour fournir les grandes quantités d'énergie requises par ce processus crée un potentiel de limitation de la fixation symbiotique de l'azote. En outre, dans de nombreuses forêts tropicales de basse altitude, le phosphore est lié à des minéraux et à de la matière organique très altérés. Les microorganismes sont capables de libérer ce P en exsudant des enzymes notamment des

des phosphatases et leur synthèse nécessite de grandes quantités de N (Pajares et Bohannan, 2016).

Ainsi, la fixation d'azote dans les forêts tropicales peut conférer un avantage compétitif aux diazotrophes en facilitant l'absorption de P (Houlton *et al.*, 2008). En accord avec ces affirmations, certaines études expérimentales ont montré que le phosphore stimule ce processus (Reed *et al.*, 2007), et augmente l'abondance et la diversité des diazotrophes libres dans ces écosystèmes (Reed *et al.*, 2010). Par ailleurs, la phylogénie du gène *nifH* se diversifie très rapidement et de nouveaux organismes diazotrophes sont régulièrement découverts (Zehr *et al.*, 1998; Zehr *et al.*, 2000).

IV. Estimation de l'abondance de séquences de gènes microbiens

IV.1. ADN environnementale (ADNe)

IV.1.1. Définition et historique

L'ADN environnemental (ADNe) est défini comme l'ADN pouvant être extrait à partir d'échantillons environnementaux, tels que l'eau, le sol ou les fèces, sans avoir besoin d'isoler au préalable des organismes cibles. Il a été cité pour la première fois en 1987 par des microbiologistes (Ogram *et al.*, 1987).

Ce terme a réellement émergé dans les années 2000, avec diverses études menées sur les microorganismes présents dans le sol et dans l'eau (Rondon *et al.*, 2000). Ce n'est que bien plus tard que les études ont été étendues à la méiofaune puis à la macrofaune (Bhadury *et al.*, 2006 ; Ficetola *et al.*, 2008). L'ADNe est constitué d'un mélange d'ADN intracellulaire provenant de cellules vivantes et d'ADN extracellulaire issu de cellules dont la structure a été dégradée (Taberlet *et al.*, 2012). Il est caractérisé par un mélange complexe d'ADN nucléaire, mitochondrial ou chloroplastique provenant de différents organismes. La technique de détection d'espèces par l'ADNe est aussi bien utilisée pour les milieux terrestres (avec entre autres l'analyse des fèces, des poils ou même du sol) que pour les milieux aquatiques.

IV.1.2. Persistance

Par ailleurs, une fois libéré dans l'environnement, l'ADN va être dégradé par des facteurs biotiques (bactéries, champignons, endonucléases, etc.) et abiotiques (radiations UV, acidité, température, etc.), ou persister dans le milieu en étant adsorbé sur des particules organiques

ou inorganiques (Dejean *et al.*, 2011) capables de le protéger de la dégradation (Pedersen *et al.*, 2015). En général, des conditions froides et sèches permettent de ralentir la dégradation de l'ADNe. Dans des sols ou dans des sédiments lacustres ou marins, la persistance de l'ADNe peut varier de quelques mois à plusieurs milliers d'années en fonction des conditions environnementales (Dejean *et al.*, 2011).

IV.1.3. Importance et application en microbiologie du sol

La détection de l'ADN d'un organisme dans un environnement témoigne de la présence actuelle ou très récente de cet organisme dans le milieu échantillonné. En effet, L'ADNe peut être utilisé à de multiples fins. Par exemple dans le cas (1) d'une approche spécifique (barcoding ADNe) afin de détecter une espèce cible (espèce rare, cryptique, menacée ou invasive) ou bien dans le cas (2) d'une approche multispécifique (metabarcoding ADNe) afin d'évaluer la biodiversité d'un milieu terrestre ou aquatique en s'intéressant à un ou plusieurs groupes taxonomiques (Taberlet *et al.*, 2012). Il permet la détection d'une espèce quel que soit son stade de vie ou son sexe.

IV.2. PCR quantitative (qPCR)

IV.2.1. Définition

La réaction en chaîne par polymérase en temps réel (PCR en temps réel) ou PCR quantitative (qPCR) est une méthode particulière de réaction en chaîne par polymérase permettant de mesurer la quantité initiale d'ADN présente dans un échantillon. En réalité, la PCR quantitative mesure le nombre d'amplicon, qui est la portion d'ADN définie par un couple d'amorces (Coulpier, 2006).

IV.2.2. Historique

Russell Higuchi fut l'un des premiers à faire l'analyse des cinétiques de la PCR (polymerase Chain Reaction) en élaborant un système qui détectait le produit de la PCR au fur et à mesure qu'il s'accumulait. Ce système en « temps réel » utilisait le bromure d'éthidium comme agent intercalant dans chacune des réactions d'amplification et un thermocycleur modifié pour stimuler l'émission des échantillons par rayonnements ultra violet. L'émission de la

fluorescence était détectée à l'aide d'une caméra CCD (charge-coupled device). Une augmentation de l'émission de la fluorescence était observée lorsque le bromure d'éthidium se fixait à l'ADN double brin produit au cours de l'amplification. En traçant l'augmentation de l'émission de fluorescence en fonction du nombre de cycles, le système produit des courbes d'amplification exhibant un schéma plus complet du processus de la PCR que la simple détermination d'amplicons (produits d'amplification) accumulés en fin d'amplification (Higuchi *et al.*, 1992).

IV.2.3. Importance et application en microbiologie du sol

La réaction en chaîne par polymérase en temps réel est une technologie ayant de nombreuses applications, basée sur une réaction enzymologique, la PCR et sur la mesure en continue de son produit. A chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN total ou d'amplicon est mesurée grâce à un marqueur fluorescent. L'obtention de la cinétique complète de la réaction de polymérisation permet d'obtenir une quantification absolue ou relative de la quantité initiale d'ADN cible, ce qui était très difficile à obtenir sans biais en PCR en point final.

L'intensité de fluorescence émise à chaque cycle PCR est mesurée par un thermocycleur couplé à un spectrofluorimètre. En réalité, une expérience de qPCR exprime une « expression relative », c'est-à-dire une variation de l'expression d'un gène entre deux échantillons. Par ailleurs en cas de mesure de l'expression d'un gène, la méthode qPCR révèle le nombre d'ARNm spécifique des échantillons. Ainsi, cette méthode permet l'amplification d'une région de l'ARNm avec des oligos et une sonde fluorescente (Coulpier, 2006).

PARTIE B : Site d'étude, matériel et choix méthodologiques

I. Présentation de la mise en place des expérimentations

I.1. Localisation de la zone d'étude

L'étude a été menée dans la zone de savane guinéenne du centre de la Côte d'Ivoire, près de la réserve de Lamto (6 °13 latitude Nord et 5 °02 longitude Ouest, 105 m d'altitude) (Lamotte et Tireford, 1988), précisément dans le village d'Ahérérou 2 (Figure 3). Des parcelles de jachères ont été mises à la disposition du projet « Valorisation des jachères à base de *Chromolaena odorata* par la pratique d'une agriculture soutenable dans la zone des savanes humides en Côte d'Ivoire » (PAES-UEMOA) par les paysans sur la base du volontariat. Ainsi, neuf parcelles de jachère à base de *Chromolaena odorata* consécutive à une succession de culture vivrière (banane plantain, igname, manioc), et dont l'âge variait de 1 à 10 ans (Figure 3), ont été sélectionnées pour cette étude.

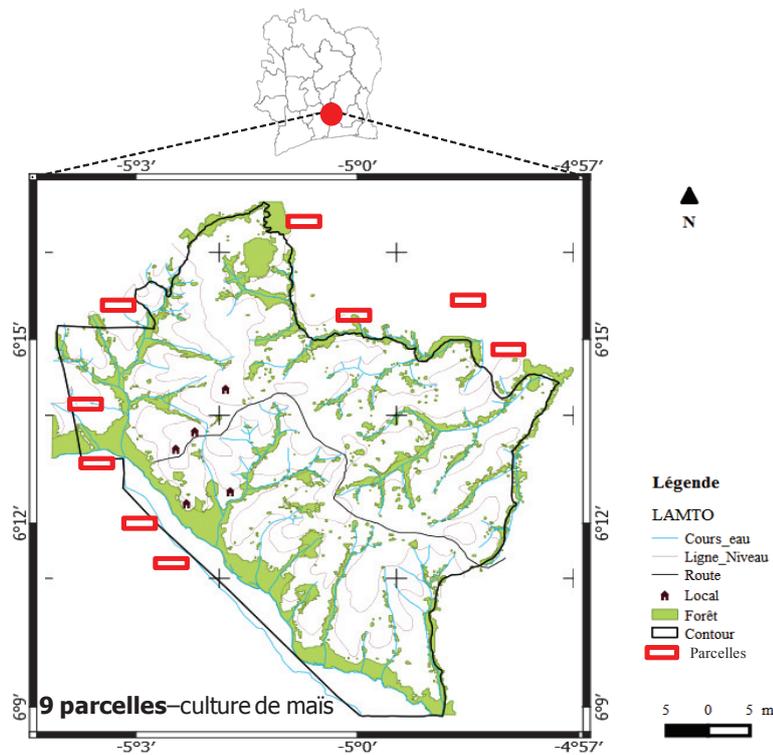


Figure 3. Image montrant l'emplacement de la zone d'étude en Côte d'Ivoire (Ville de Toumodi) et l'emplacement des parcelles d'étude dans la zone (Source : Traoré, 2016)

I.2. Caractéristiques du milieu naturel de la zone d'étude

I.2.1. Climat

Le climat de la région de Lamto est de type intertropical à pluviométrie bimodale, caractérisé par deux saisons des pluies et deux saisons sèches (Pagney, 1988 ; Le Roux, 2006) :

- (i) une grande saison des pluies, de mars à juillet;
- (ii) une petite saison sèche, en août ;
- (iii) une petite saison des pluies, de septembre à novembre ;
- (iv) une grande saison sèche, de décembre à février ;

Ce schéma classique de répartition des saisons est susceptible de connaître d'importantes modifications d'une année à l'autre, en raison de l'irrégularité du régime hydrique de la zone. Les données climatologiques recueillies à la station de Géophysique de la réserve de Lamto, couvrant la période 2002 à 2015 ont permis de décrire clairement l'évolution du climat. Ainsi, le diagramme ombrothermique de la zone d'étude (Figure 4 a, b, c) montre l'occurrence effective de quatre saisons climatiques bien marquées. Les précipitations moyennes annuelles oscillent autour de 1200 mm et la pluviométrie moyenne sur les dix années (2002-2012) précédant la phase expérimentale de notre étude est de 1258 mm (Figure 5). La pluviométrie annuelle observée est de 1106 mm, 992 mm et 1436 mm respectivement en 2013, 2014 et 2015 (Figure 4).

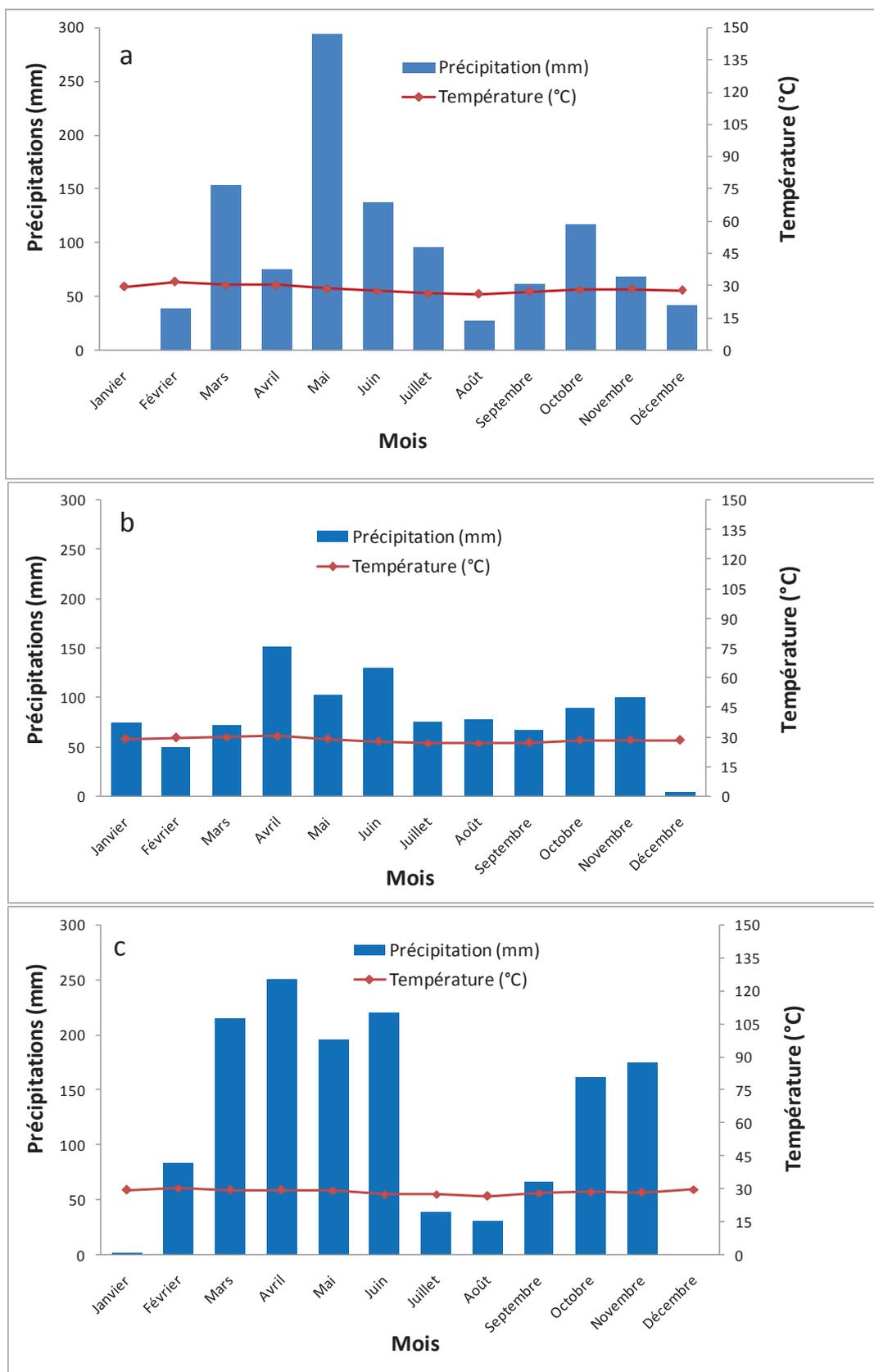


Figure 4. Diagramme ombrothermique de la région de Lamto sur les 3 années d'expérimentations : (a) 2013; (b) 2014 (c) 2015 (Source : Station géophysique de Lamto, Côte d'Ivoire)

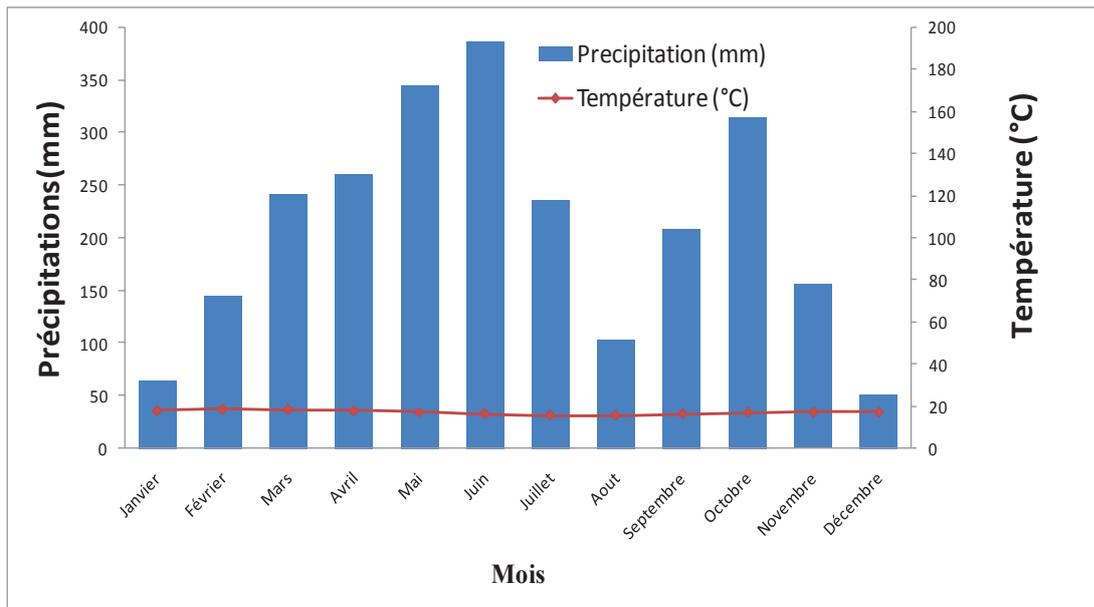


Figure 5. Diagramme ombrothermique de la région de Lamto sur les 10 ans avant l'étude (2002-2012) (Source: Station géophysique de Lamto, Côte d'Ivoire)

I.2.2. Humidité de l'air

Les fluctuations des moyennes mensuelles de l'humidité de l'air sont fortes. En effet, les valeurs moyennes obtenues avec les données de 2002 à 2015, représentant les 13 années, varient entre 64 et 83 %, avec une moyenne de 77 %. Les moyennes les plus faibles sont enregistrées en janvier et février, et les plus fortes entre juin et juillet, période où les précipitations sont les plus abondantes (Figure 6). Les variations interannuelles sont faibles.

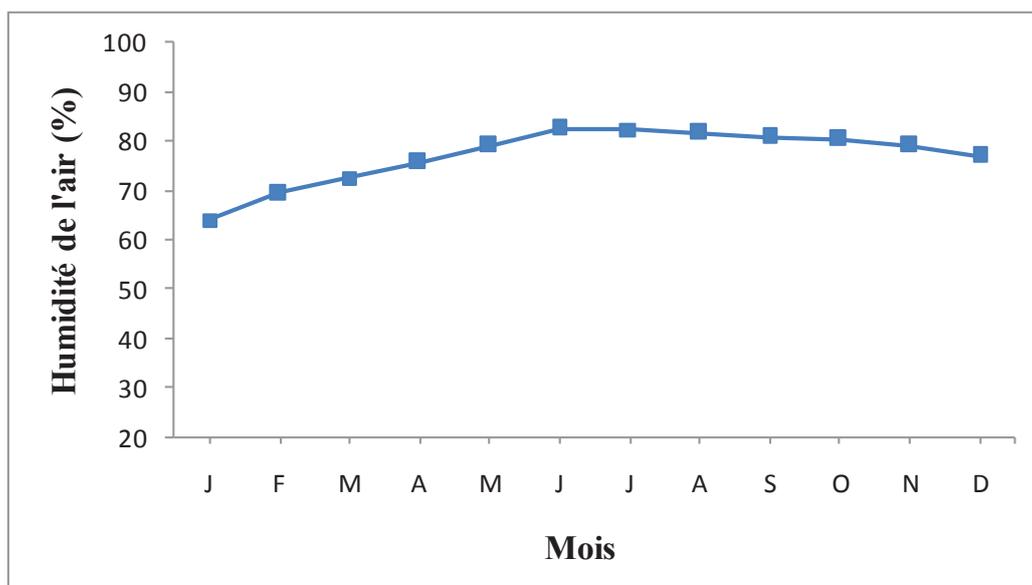


Figure 6. Variation de la valeur moyenne mensuelle de l'humidité de l'air de la région de Lamto, de 2002 à 2015 (Source: Station Géophysique de Lamto, Côte d'Ivoire)

I.2.3. Température

La température de l'air est généralement élevée, avec une moyenne annuelle de 28 °C, des minima mensuels variant entre 23,49 et 24,50 °C, et des maxima entre 29,54 et 32,87 °C (données de la Station Géophysique de Lamto, Côte d'Ivoire). Les températures les plus élevées se situent en février et en mars. Les plus basses sont observées en juillet et août, c'est-à-dire entre les deux pics pluviométriques (Figure 7). Entre 2002 et 2015, la température mensuelle moyenne est restée relativement constante d'une année à l'autre sauf pendant le mois d'avril où une légère baisse est observée.

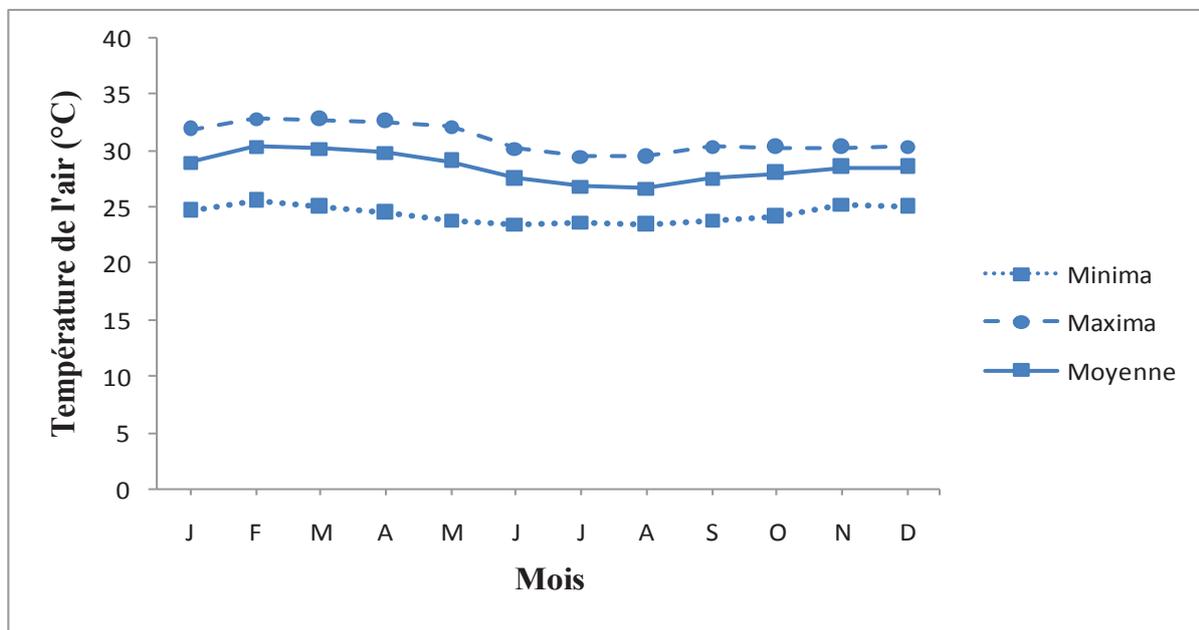


Figure 7. Variation de la valeur moyenne mensuelle de la température de l'air de la région de Lamto, pour la période 2002-2015 (Source: Station géophysique de Lamto, Côte d'Ivoire)

I.3. Végétation

Les parcelles d'étude sont des jachères dont l'âge varie entre 1 à 10 ans, consécutive à une succession de cultures d'igname, de banane et de manioc. Ces jachères sont des brousses à *Chromolaena odorata* qui, malgré leur apparente homogénéité, abrite environ 78 espèces végétales (Koné, 2009). Ces espèces sont réparties en 40 familles d'Angiospermes (32 Dicotylédones et 8 Monocotylédones). Le groupe le plus représenté est celui des légumineuses, avec 14 taxons dont 10 Papilionaceae, 2 Caesalpiniaceae et 2 Mimosaceae.

I.4. Pédologie

Les sols de cette région sont majoritairement des acrisols (World Reference Base - IUSS Working group, 2015) moyennement désaturés (Riou, 1974) reposant sur une roche mère granitique. Les couches supérieures sont généralement de texture sableuse (60 à 80 % des éléments ont des tailles supérieures à 500 μm). Les argiles sont constituées d'illites et de kaolinites légèrement cristallisées, avec une faible capacité d'adsorption (Delmas, 1967). Ces sols sont des lixisols ou luvisols, accessoirement acrisols ou nitisols de la classification WRB avec des couches supérieures de limon argileux (0-30 cm) et argile sablonneuse (30-70 cm) et horizons pierreux (70 cm) (Koné *et al.*, 2008a). Dans la classification française CPCS (Commission de Pédologie et de Cartographie des Sols) (1967), les sols sont considérés comme des sols ferrugineux peu lessivés, jeunes, et des sols ferralitiques remaniés modaux à appauvris (Perraud, 1971).

II. Matériel végétal et choix méthodologiques

II.1. Matériel végétal

Dans cette étude, trois cultures ont été pratiquées soit en rotation, soit en continu. Ce sont le maïs et deux légumineuses alimentaires.

Le maïs (*Zea mays*) a été choisi comme culture-test, en raison de son cycle de développement relativement intéressant. La variété utilisée pour ces travaux est le «maïs jaune, type PIONEER ». Il s'agit d'un type de maïs très utilisé par les paysans de la zone d'étude. Cette variété de maïs à cycle semi tardif (110 à 130 jours) est issue du croisement entre le maïs jaune variété Bouaké et le maïs blanc variété IRAT 8 (EXECO Agriculture, Abidjan, Côte d'Ivoire).

Notre choix s'est porté sur le niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) et le soja vert (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek, 1954), légumineuses alimentaires appartenant à la famille des Fabacées et très répandues dans le monde notamment dans la plupart des pays d'Afrique subsaharienne. En Côte d'Ivoire et principalement dans la zone de savanes humides, ces légumineuses sont cultivées pour la consommation familiale, la vente ainsi que le fourrage des animaux. Par exemple, le soja vert est particulièrement proposé aujourd'hui comme une précieuse source de protéines alternative au manque de protéines animales. En outre, elles

sont prisées sur le marché local et entrent dans la confection de plusieurs mets (gâteau, pain, aliments infantiles, lait et yaourt etc.). Il est important de souligner que la valeur économique des graines de soja vert sur le marché local (300 à 600 FCFA le kg) est quelque fois supérieure à celle du café. D'une manière générale, l'utilisation des légumineuses dans la présente étude avait pour objectif d'accroître à la fois les rendements des cultures et la diversification des sources de revenus des paysans.

II.2. Choix méthodologiques

II.2.1. Enquête et sélection des parcelles paysannes

Ces travaux ont débuté par une enquête informelle auprès des autorités villageoises d'Ahérérou 2, en vue d'identifier les paysans possédant des jachères à base de *Chromolaena odorata* dont l'âge est compris entre 1 à 10 ans. A l'issue de cette enquête, 9 parcelles de jachères à *Chromolaena odorata* dont 3 jachères âgées de 1-3 ans, 3 autres de 4-6 ans et enfin les 3 dernières âgées de 7-10 ans ont été sélectionnées, début juin 2013. Par ailleurs ces regroupements d'âge de jachères se sont appuyés sur les travaux de Bouadi (2009) réalisés dans cette zone. Selon cet auteur, une enquête sur l'utilisation des jachères à base de *Chromolaena odorata* a révélé que 4 % de la population interrogée pratique des jachères de plus de 10 ans, tandis que 44 % utilise des jachères de 5 à 10 ans. Le reste de la population active (52 %) se contente ou préfère des jachères de 2 à 5 ans. Selon cette frange de la population, cette période est suffisante pour régénérer la fertilité des sols.

II.2.2. Délimitation des parcelles

Les parcelles expérimentales ont été délimitées à l'aide d'un décamètre de 50 m (Proact, France) puis géo-référencées à l'aide d'un GPS (Garmin, Oxford, Royaume Uni). Ces parcelles (19 m x 12 m) étaient situées dans des zones en friche envahie par *Chromolaena odorata* (Figure 10) et implantées sur les domaines d'exploitation de paysans.



Figure 8. Aperçu de la délimitation d'une parcelle de jachère à base de *Chromolaena odorata* âgée de 5 ans avant le semis et la mise en place des itinéraires agricoles

II.2.3. Dispositif expérimental

Les parcelles de *Chromolaena odorata* sélectionnées ont été marquées à l'aide de pancartes indiquant les différents traitements qui ont été mis en place sur chacune d'entre elles. Ces parcelles, réparties à l'échelle du paysage, s'étendaient sur une superficie de 228 m² (12 m x 19 m) chacune. Chaque parcelle comprend six sous-parcelles de 20 m² (4 m x 5 m), représentant chacun un traitement. Ces sous-parcelles étaient séparées par des allées larges de 2 m (Figure 9). Il s'agit d'un dispositif en blocs aléatoires complet de 9 parcelles, composées de 6 sous-parcelles composées chacune d'un traitement.

Sur chaque parcelle, le dispositif mis en place comprenait les six traitements (Figure 9) suivants:

- 1^{er} traitement : Sol désherbé cultivé en maïs (témoin) + maïs (bMM), caractérisé par le semis de maïs (1^{er} cycle) sur le sol entièrement désherbé et débarrassé des débris végétaux; puis de 3 cycles supplémentaires de maïs en continu sans aucun apport sur le sol ; ce traitement constitue le traitement-témoin.
- 2^{ème} traitement : Brûlis + maïs, caractérisé par le semis du 1^{er} cycle de maïs après brûlis de *Chromolaena odorata* dont les cendres ont été réparties sur toute la surface de la parcelle (sMM); puis trois cycles supplémentaires de maïs, le brûlis étant pratiqué avant chaque cycle cultural;

- 3^{ème} traitement : Mulching + maïs, technique de paillage avec une rotation de maïs continu (mMM) où la biomasse présente sur le terrain avant la plantation est coupée et répandue à la surface du sol sur toute la superficie de la parcelle. Ainsi le semis pour le 1^{er} cycle de maïs est pratiqué sur le mulch de *Chromolaena odorata* ; Et les 3 cycles de maïs suivants sur les résidus de récolte de la culture de maïs précédente ;
- 4^{ème} traitement : Mulching + maïs, technique de paillage avec une rotation maïs-soja vert (mMS); Le 1^{er} cycle est une culture de maïs sur le mulch de *Chromolaena odorata*, le second cycle une culture de soja vert sur mulch de maïs, puis maïs sur résidus de soja vert et finalement soja vert sur résidus de maïs, pour respectivement les 3^{ème} et 4^{ème} cycles;
- 5^{ème} traitement : Mulching + maïs, technique de paillage avec une rotation maïs-niébé (mMB); caractérisé par le semis pour le 1^{er} cycle de maïs sur le mulch de *Chromolaena odorata* ; Le cycle suivant semé en niébé sur résidus de maïs et puis maïs sur résidus de niébé et enfin niébé sur résidus de récolte du maïs;
- 6^{ème} traitement : Sol nu + maïs + engrais (fMM), caractérisé par le semis de maïs pour le 1^{er} cycle, sur le sol nu, préparé comme dans le traitement témoin, c'est-à-dire désherbé et débarrassé des débris végétaux; puis suivi par trois autres cycles de maïs. Chaque cycle cultural dans ce traitement reçoit un épandage d'engrais NPK (15-15-15) + 13 SO₃ + 9CaO (15g-N m⁻², N étant du sulfate d'ammonium) la veille du semis puis d'urée (10g-N m⁻²) le 40^{ème} jour après chaque semis de maïs (Figure 10).

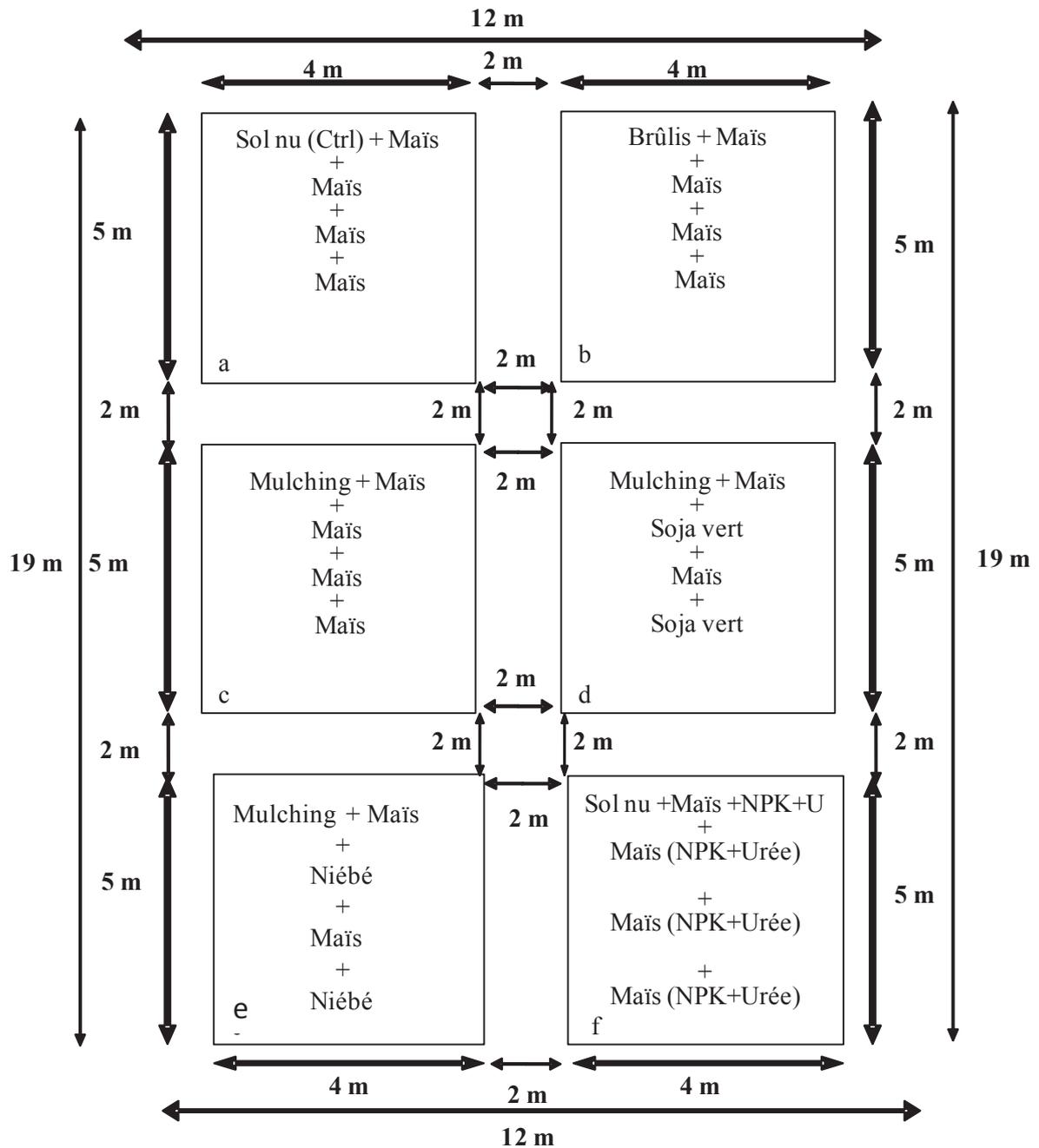


Figure 9. Dispositif expérimental présentant la taille des sous-parcelles et les traitements appliqués : (a) Sol nu (témoin) +Maïs+Maïs+Maïs+Maïs; (b) Brûlis+Maïs+Maïs+Maïs+ Maïs (c) Mulching+Maïs+Maïs+Maïs+Maïs (d) Mulching+Maïs+Soja vert+ Maïs+Soja vert (e) Mulching+Maïs+niébé+Maïs+niébé (f) Sol nu+Maïs+(NPK+Urée)+Maïs+(NPK+Urée) Maïs+(NPK+Urée)+Maïs+(NPK+Urée).

II.2.4. Préparation des parcelles et semis des cultures

II.2.4.1. Préparation des parcelles

Le sol des parcelles a été préparé avant la mise en place des différents traitements. Cette préparation a consisté à défricher à la machette les friches de *Chromolaena odorata*. Les souches de *Chromolaena odorata* ont été déterrées. Les arbustes peu abondants, ont ensuite été abattus, les troncs et les branches ont été ramassés et jetés à l'extérieur des limites des parcelles. La biomasse végétale de *Chromolaena odorata* obtenue après défrichage a été utilisée différemment d'une sous-parcelle à une autre, en fonction des traitements mis en place. Les résidus végétaux de *Chromolaena odorata* ont été séchés, puis brûlés et la cendre obtenue a été répartie sur toute la surface de toutes les sous-parcelles du traitement brûlis. La biomasse de *Chromolaena odorata* a été répandue sur toute la surface des sous-parcelles des traitements de mulching. Les sous-parcelles témoins et fertilisées ont été défrichées et débarrassées toute la biomasse végétale.

II.2.4.2. Semis des cultures et entretien des parcelles

Le maïs a été semé à raison de 50 poquets par sous-parcelle ce qui correspond à 5 lignes de 10 poquets chacun. Ces poquets étaient espacés de 75 cm x 50 cm, soit 75 cm entre les lignes et 50 cm sur la ligne, avec 2 à 4 grains semés par poquet. Le semis a été réalisé à une profondeur d'environ 3 à 4 cm. Deux semaines environ après les premiers semis, un second et dernier passage a été effectué pour les poquets où il n'y avait pas eu de germination. Par ailleurs, deux semaines après la germination, les plants excédentaires les moins vigoureux ont été arrachés de façon à obtenir la densité recherchée (à savoir un pied de maïs par poquet). Les parcelles ont été sarclées manuellement trois fois, pendant la phase végétative des plants afin d'éliminer les mauvaises herbes et permettre une bonne levée des jeunes plants. Le premier sarclage a été réalisé pendant le démariage (15 jours après semis JAS). Le second sarclage a été réalisé sur toutes les parcelles 40 à 45 jours après le semis, c'est-à-dire au même moment que l'intervention pour l'apport d'urée dans le traitement avec engrais. Enfin, un troisième sarclage a été réalisé avant la récolte (à 70 JAS). Un cycle de culture de maïs a été réalisé pendant la première année de culture (2013) sur toutes les parcelles, à partir du mois d'octobre 2013 correspondant à la petite saison des pluies. Au cours de la deuxième année d'expérimentation (2014), le maïs a été semé uniquement sur quatre des six sous-parcelles expérimentales, correspondant aux traitements (témoin-bMM), brûlis (sMM), mulch-maïs (mMM) et fertilisant (fMM) en juin 2014 et octobre 2014.

Les légumineuses alimentaires (soja vert et niébé) ont été semées respectivement aux mois de juin 2014, octobre 2014 et octobre 2015 (Figure 11) périodes correspondant respectivement à

la grande et petite saison des pluies. Sur chaque parcelle, le niébé a été semé sur l'une des sous-parcelles, à raison de 4 à 5 grains pour chacun des 250 poquets (poquets distants de 40 cm entre les lignes et 20 cm sur la ligne ; soit 10 lignes de 25 poquets) 3 à 4 mois après la récolte du maïs. Sur les sous-parcelles de soja vert, 4 à 5 grains de soja vert ont été semés sur les 400 poquets par sous-parcelle (poquets distants de 50 cm entre les lignes et 10 cm sur la ligne ; soit 8 lignes de 50 poquets). Avant la mise en place de la culture de soja vert et de niébé aux périodes indiquées ci-dessus, les résidus de récolte de la culture du maïs ont été utilisés pour recouvrir ces sous-parcelles en guise de paillage.

Pour les sous-parcelles fertilisées avec l'engrais chimique, le NPK (avec N sous forme d'ammonium) a été appliqué à une dose de 150 kg-N ha^{-1} (soit 15 g-N m^{-2}) la veille du semis. L'application de l'urée s'est faite à la dose de 100 kg-N ha^{-1} (10 g-N m^{-2}) environ 40 à 45 jours après le semis. L'épandage du NPK s'est fait sur toute la surface à cultiver le jour précédent le semis et l'urée autour de chaque plant de maïs. L'entretien des sous-parcelles a été effectué à la houe, le premier étant intervenu entre 10 et 21 jours après semis (Kling, 1991). Une mise en défend des sites de culture contre les attaques de rongeurs a également été réalisée pour les derniers cycles de cultures (Figure 12).

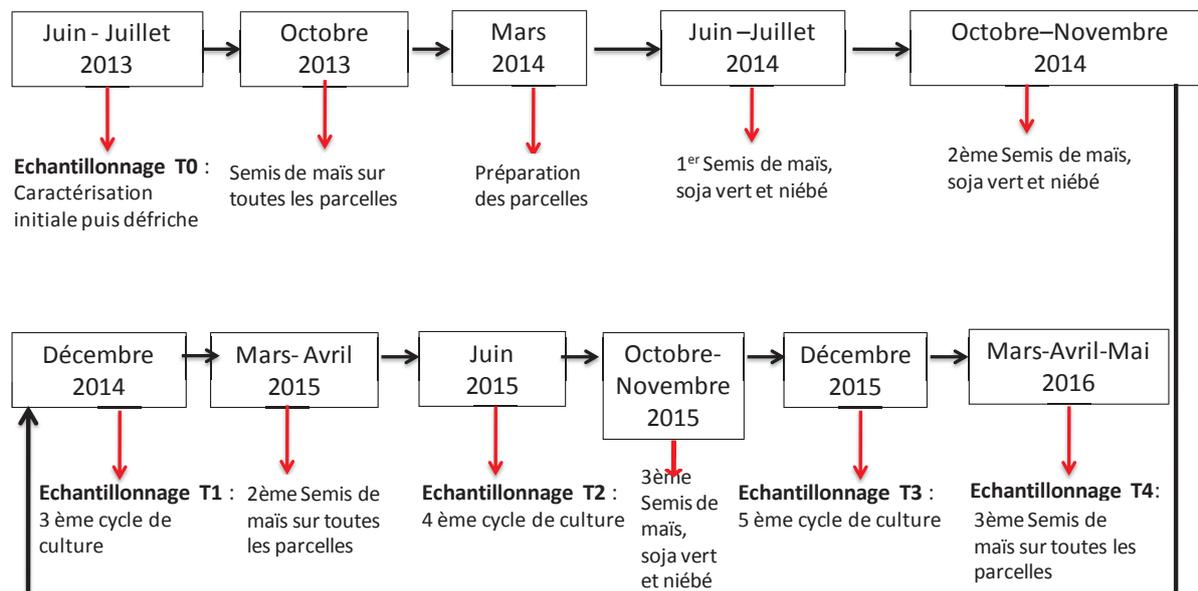


Figure 10. Frise temporelle des différentes dates de prélèvement et de succession des cultures

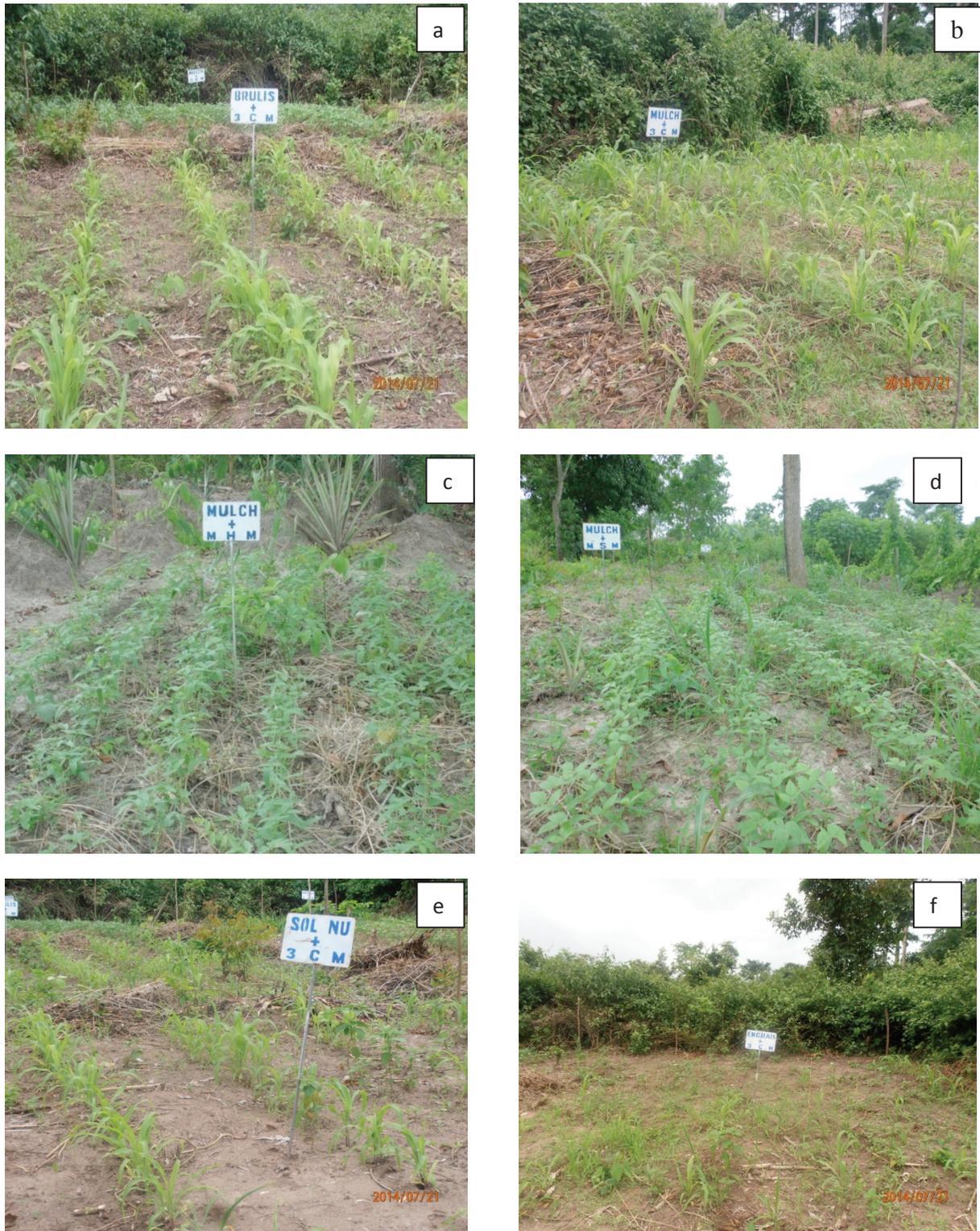


Figure 11. Aperçu de six sous-parcelles expérimentales : (a) brûlis+Maïs+Maïs+Maïs+Maïs (b) Mulch+Maïs+Maïs+Maïs+Maïs (c) Mulch+Maïs+Niébé+Maïs+Niébé (d) Mulch+Maïs+Soja vert+ Maïs+Soja vert (e) Sol nu (témoin) +Maïs+Maïs+Maïs+Maïs, et (f) Sol nu+Maïs+(NPK+Urée)+Maïs+(NPK+Urée) Maïs+(NPK+Urée)+Maïs+(NPK+Urée), 20 jours après les semis



Figure 12. Vue d'ensemble des sous-parcelles expérimentales sur l'une des 9 parcelles lors du suivi et entretien des parcelles



Figure 13. Aperçu de cultures de soja vert (a) et de niébé (b) se développant sur paillis de légumineuses (soja vert et niébé) 20 jours après le semis

II.3. Stratégie d'échantillonnage du sol

Pour caractériser l'état initial du sol sur chaque parcelle c'est-à-dire avant application des traitements, des sous-échantillons de sol ont été recueillis à l'aide d'une tarière (5 cm de diamètre) à quatre profondeurs (0-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm, 30-40 cm) du sol au hasard à 5

endroits distincts et mélangés pour obtenir un échantillon composite (Figure 14). Soit au total quatre échantillons composites (un par profondeur) par parcelle. Les échantillons composites ont été emballés dans des sacs en plastique à fermeture hermétique et transportés en conditions réfrigérées dans une glacière au laboratoire. Une fois au laboratoire, les échantillons ont été séchés à 4 °C pendant 72 heures dans un réfrigérateur et tamisés à (2 mm). Des sous-échantillons ont été utilisés pour les mesures des activités enzymatiques, des paramètres chimiques (pH, phosphore assimilable, carbone organique et azote total) et des éléments nutritifs du sol (Ca, Mg, K).

Pour étudier l'effet des 6 traitements, trois autres échantillonnages ont été réalisés aux mois de décembre 2014 (après 3 cycles de culture), juin 2015 (après 4 cycles de culture) et décembre 2015 (après 5 cycles de culture) généralement dans les 24 h à 48 h avant l'épandage d'urée. Les échantillons ont été prélevés, transportés et conditionnés comme précédemment. A chacune de ces dates de prélèvement, et pour l'horizon 0-10 cm seulement, un premier sous-échantillon de chaque échantillon composite frais a été utilisé pour les mesures des activités nitrifiantes, dénitrifiantes et pour l'extraction du nitrite, nitrate et ammonium du sol, alors qu'un second sous-échantillon a été conditionné à -20 °C pour l'extraction d'ADN des microorganismes du sol. Par ailleurs, à chaque date de prélèvement et pour chacune des 4 profondeurs du sol, un sous-échantillon a été séché à 4 °C pendant 72 heures dans un réfrigérateur et tamisé comme précédemment pour les mesures des activités enzymatiques (phosphatasiques, glycosidasiques et deshydrogénasiques) et des mesures des paramètres chimiques (pH, phosphore assimilable, carbone organique et azote total) du sol.



Figure 14. Technique de prélèvement du sol à l'aide d'une tarière

III. Mesures des activités enzymatiques potentielles des sols

III.1. Activités phosphatasiques

Les échantillons de sol acheminés au laboratoire et conservés à 4 °C ont été utilisés pour la mesure des activités phosphatasiques acides et alcalines dans le milieu réactionnel suivant :

- 400 µl de tampon (acétate 100 mM pH 5,6 ou Tris HCl pH 8) ;
- 100 µl de substrat (*para*-nitrophényl-phosphate 10 mM) ;
- 0,1g de sol.

L'incubation à 37 °C est conduite pendant 30 min avec un bain marie (Zhengji, Instruments Co., Ltd. Jiangsu, China Model HH-W600). L'arrêt de la réaction s'est fait par l'ajout successif de 1 ml de CaCl₂ (0,5 M) et de 2 ml de NaOH (0,5 M). Ce nouveau milieu réactionnel obtenu a été centrifugé à 12.000 tours/min pendant 15 min dans une centrifugeuse de marque SIGMA 3-16P selon la méthode de Tabatabai (1969) légèrement modifiée. La quantité de *para*-nitrophénol libérée a été dosée au spectrophotomètre (HACH DR/2010) à 410 nm. L'activité enzymatique a été exprimée en µmol de *para*-nitrophénol g⁻¹ de sol h⁻¹. Les essais ont été réalisés en triple pour chaque échantillon de sol.

III.2. Activités glycosidasiques

Les activités N-acétylβD-glucosaminidase et β-glucosidase ont été mesurées dans le milieu réactionnel suivant :

- 400 µl de tampon (acétate 100 mM pH 5,6 ou phosphate pH 5,6) ;
- 100 µl de substrat (*para*-nitrophényl-βD-glucosaminide ou *para*-nitrophényl-βD-glucopyranoside 10 mM)
- 0,2 g de sol.

L'incubation à 37 °C a duré 1 heure. L'arrêt de la réaction et le dosage du *para*-nitrophénol ont été réalisés selon les méthodes décrites par Eivazi et Tabatabai (1988) et Parham et Deng (2000). L'activité enzymatique a été exprimée en µmol de *para*-nitrophénol g⁻¹ de sol h⁻¹. Les essais ont été réalisés en triple pour chaque échantillon de sol.

III.3. Activité déshydrogénasique

Pour la mesure de l'activité déshydrogénasique, les échantillons de sol ont été utilisés dans le milieu réactionnel suivant :

-1g de sol

-1 ml de substrat (*Iodophenyl*-nitrophényl-phenyltétrazolium chloride 0,5 %)

La solution a été vortexée, puis incubée à 25 °C pendant 24 heures. L'arrêt de la réaction s'est fait par l'ajout de 5 ml d'acétone. Le nouveau milieu réactionnel obtenu a été vortexé, puis homogénéisé à température ambiante à 120 tours/min pendant 2 heures grâce à un agitateur mécanique et centrifugé à 120 tours/min pendant 15 min selon la méthode de Thalmann (1968) légèrement modifiée. La quantité de triphenylformazan libérée a été dosée au spectrophotomètre (HACH DR/2010) à 546 nm. L'activité enzymatique est exprimée en μg de triphenylformazan g^{-1} de sol h^{-1} . Les essais ont été réalisés en triple.

III.4. Activité nitrifiante

La mesure de la nitrification du sol s'est faite selon les méthodes décrites par Niboyet *et al.* (2011). La nitrification potentielle est définie par la production de nitrites et de nitrates pour l'échantillon mesurée après 0, 5, 24, 48 et 72 heures d'incubation dans des conditions aérobies et d'ammonium non limitant. L'incubation s'est déroulée dans une étuve agitatrice maintenue à 28 °C, l'agitation permettant de maintenir l'aérobiose. Pour chacun des échantillons de sol à chaque date (soit 6 traitements X 1 profondeur X 9 parcelles), un sous-échantillon de sol frais (3 g de masse sèche équivalente de sol) a été placé dans un flacon plasma de 150 ml. Du sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $2\mu\text{g}$ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \text{ g}^{-1}$ sol sec est ajouté dans une solution de 24 ml d'eau distillée. 1 ml de la suspension de sol est prélevé dans chaque flacon d'analyse à chaque temps. Pour stopper toute activité microbienne, chaque suspension est filtrée à $0,2 \mu\text{m}$ et stockée à -20 °C avant analyse des teneurs en nitrites et nitrates avec un chromatographe ionique (Thermo Scientific™ Dionex™ ICS-900 passeur AS, France). La cinétique obtenue est quantifiée par une régression linéaire dont la pente a permis de rendre compte de la production de NO_3^- en $\mu\text{g N- NO}_3^- \text{ g}^{-1}$ de sol sec h^{-1} . D'après des analyses préliminaires effectuées sur certains sols pour différents traitements après 3 cycles de culture, la quantité d'ammoniaque ajoutée ($2 \mu\text{g}$ de $\text{N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1}$ de sol) a été identifiée comme étant celle permettant un taux de nitrification maximal. Pour la dernière date seulement, l'activité de nitrification a également été mesurée pour chacun des 54 échantillons à un niveau d'ammonium 5 fois plus élevée, c'est-à-dire $10 \mu\text{g}$ de $\text{N- NH}_4^+ \text{ g}^{-1}$ de sol pour tester la sensibilité de la nitrification à de plus forts niveaux d'ammonium.

Par ailleurs, le Tableau 2 (partie A-synthèse bibliographique) a permis de mettre en évidence pour chaque étude, l'effet de la fertilisation sur la nitrification. Aussi cet effet a été exprimé comme la variation en pourcentage par rapport à la nitrification dans des sous-parcelles témoins non fertilisées, et traduit par le calcul suivant :

$$100 * ((\text{Nitrif fertilisé} - \text{Nitrif non fertilisé}) / \text{Nitrif non fertilisé}) \text{ avec}$$

Nitrif fertilisé = nitrification mesurée dans les sous-parcelles fertilisées

Nitrif non fertilisé = nitrification mesurée dans les sous-parcelles non fertilisées

III.5. Activité dénitrifiante

La mesure de l'activité de dénitrifiante du sol s'est faite selon le protocole décrit par Patra *et al.* (2005). La dénitrification potentielle est quantifiée par la cinétique de production de protoxyde d'azote (N_2O) durant une incubation de 6 heures à 28 °C, dans des conditions anaérobies (c'est-à-dire sans oxygène) et de substrats non limitants pour les dénitrifiants du sol (c'est-à-dire apport de sources de carbone organique et de nitrate), en utilisant un chromatographe en phase gazeuse (Agilent P200, Santa Clara, CA, USA). Pour chacun des échantillons de sol à chaque date, un aliquote de sol frais (10 g de sol équivalent de masse sèche) a été placé dans un flacon de 150 ml. Pour parvenir aux conditions anaérobies, l'air de chaque flacon a été remplacé par de l'hélium (He). De plus, un ajout d'acétylène (C_2H_2) a permis d'inhiber l'activité de l'oxyde nitreux réductase et éviter la production de diazote (N_2). Par ailleurs, la source d'azote a été réalisée par l'ajout de nitrate de potassium (KNO_3), à raison de $50 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1}$ sol sec (c'est-à-dire 50 ppm). Le glucose ($500 \mu\text{g C. g}^{-1}$ sol sec) et l'acide glutamique ($500 \mu\text{g C. g}^{-1}$ de sol sec) ont été utilisés comme sources de carbone et d'azote et apportés en solution dans chaque échantillon. L'humidité du sol a été portée à 100 % de la capacité de rétention d'eau par ajout d'eau distillée dans chaque flacon. La concentration de N_2O atmosphérique contenu dans le flacon plasma a été mesurée toutes les 0,5 h pendant 6 heures d'incubation. La cinétique obtenue est quantifiée par une régression linéaire dont la pente rend compte de la production de N_2O en $\mu\text{g N-N}_2\text{O g}^{-1}$ de sol sec h^{-1} . La production nette de N_2O a également été mesurée sur les échantillons de sol gelé (soit 3,5 g de sol équivalent de masse sèche) en utilisant les mêmes conditions expérimentales que la dénitrification potentielle mais sans ajout d'acétylène (C_2H_2).

IV. Mesures des paramètres édaphiques du sol

IV.1. Humidité du sol

L'humidité pondérale du sol a été mesurée selon la méthode d'Anderson et Ingram (1996). Pour chacun des échantillons de sol de chaque date de prélèvement, un sous-échantillon de 10 g de sol a été pesé dans un creuset de masse connue, porté à l'étuve ventilée à 105 °C pendant 24 h. Puis, l'ensemble creuset-échantillon a été refroidi dans un dessiccateur (pyrex, France) et pesé à l'aide d'une balance électronique (denver instrument S-234 ; Fishersville, Virginia, United States). Les résultats ont été exprimés en pourcentage (%). Trois répétitions ont été réalisées.

IV.2. pH_{eau} du sol

Les échantillons de sol ont été séchés pendant 72 heures à température ambiante puis tamisés à l'aide d'un tamis à mailles de 2 mm (AFNOR, prolabo France). Le pH_{eau} du sol a été mesuré pour chacune des quatre strates (0-10 ; 10-20 ; 20-30 ; 30-40 cm) lors du premier prélèvement puis uniquement pour la strate 0-10 cm aux trois autres dates de prélèvements. Vingt (20) grammes de sol ont été ajoutées à 50 ml d'eau distillée, représentant ainsi un rapport sol:eau de 1:2,5. Après 30 min d'agitation, la mesure du pH_{eau} du sol a été faite selon la méthode de Anderson et Ingram (1993). Trois répétitions ont été réalisées.

IV.3. Concentrations en ammonium, nitrite et nitrate du sol

L'ammonium (NH_4^+), les nitrites (NO_2^-) et les nitrates (NO_3^-) des échantillons de sols ont été extraits des sols sous agitation avec une solution de chlorure de calcium (CaCl_2) à raison de 12 ml de solution pour 3 g de sol en équivalent masse sèche, à 140 tours/min pendant 2 heures, à 10 °C. Ces suspensions sont filtrées avec des filtres avec la taille des pores allant de 0,8 μm à 2 μm et conservées à -20 °C. Celles-ci sont analysées par chromatographie ionique afin de mesurer les quantités de NH_4^+ , NO_2^- et NO_3^- .

IV.4. Phosphore assimilable du sol

Le phosphore assimilable ($\text{P}_{\text{assimilable}}$) a été extrait des échantillons, selon la procédure Bray-1 (Olsen et Sommers 1982). Sa concentration a été déterminée en utilisant un auto-analyseur Technicon (Industrial Systems Technicon 1977 Tarrytown, New York, USA). Trois répétitions ont été réalisées.

IV.5. Carbone organique et azote total du sol

Le carbone organique (C. org) du sol a été déterminé après calcination des échantillons de sol au four à moufle suivant la méthode de Walkley et Black (1934). L'azote total (N_{tot}) a été déterminé après minéralisation du sol suivant la méthode du Kjeldahl (BUCHI Speed Digester K-425, Allemagne). Trois répétitions ont été réalisées.

IV.6. Composition en minéraux du sol

Le potassium (K), le magnésium (Mg) et le calcium (Ca) et d'autres oligo-minéraux ont été analysés au microscope électronique à balayage (SEM) à pression variable (SEM FEG Zeiss Supra 40 VP). Ce microscope est équipé d'un détecteur de rayons X (Oxford Instruments) relié à une plateforme de microanalyse à spectrométrie de diffusion d'énergie (EDS) (Inca cool dry, sans azote liquide). Environ 10 mg de l'échantillon de sol ont été broyés puis appliqués uniformément sur une plate-forme apprêtée avec du carbone adhésif double face pour analyse. Ces mesures ont été réalisées uniquement pour les 36 échantillons de la caractérisation initiale du sol dans les 4 profondeurs du sol (0-10 ; 10-20 ; 20-30 ; 30-40 cm).

V. Mesures des paramètres chimiques des plantes

V.1. Détermination de la concentration en azote dans les grains, les gousses, les feuilles, les tiges et les racines des cultures

Pour la troisième date d'échantillonnage, environ 50 jours (correspondant au stade de la sortie de l'inflorescence) avant la fin du 5^{ème} cycle de culture, trois plants de maïs, de soja vert et de niébé ont été recueillis sur 18 des 54 sous-parcelles expérimentales (3 sous- parcelles par traitement). Les racines, les tiges, les feuilles, les graines et les coques ont été triés et séchés à 45 °C dans une étuve ventilée (New Brunswick Scientific, EDISON, USA) pendant une semaine. Les compartiments des plantes séchées ont été broyés individuellement pour obtenir une poudre fine en utilisant un broyeur TissueLyser II (Qiagen, France) et des billes métalliques. Trois (03) mg de poudre de chaque échantillon ont été placés dans des capsules en étain "Ultra Clean" de 5 x 8 mm (Elemental Microanalysis, Royaume Uni) et la concentration en N a été mesurée à l'aide d'un analyseur élémentaire (Thermo FlashEA 1112, ThermoElectron, USA). L'acide aspartique (10,52 % de N) a été utilisé pour la droite d'étalonnage, et des étalons internes de feuilles de bouleau (2,12 % de N) ont été insérés tous

les dix échantillons. Par ailleurs un dernier semis de maïs a été réalisé juste après le 5^{ème} cycle de culture sur toutes les parcelles (fMM, sMM, bMM, mMM, mMS, mMB). A la fin de ce cycle, un prélèvement d'échantillons a également été réalisé à raison de trois plants de maïs par traitement (soit 3 plants de maïs X 6 traitements) sur les 18 sous-parcelles expérimentales échantillonnées ci-dessus. Cet échantillonnage complémentaire a été réalisé afin de déterminer les concentrations de N dans les compartiments des plants de maïs (racines, tiges et feuilles) et les comparer à ceux du cycle précédent. Par ailleurs, ces mesures de concentration en N ont également été mesurées comme décrit précédemment.

V.2. Détermination des préférences nutritionnelles azotées de la variété de maïs étudiée

Une manipulation en pots, en conditions contrôlées a été réalisée afin de déterminer les préférences nutritionnelles de la variété de maïs étudiée. Ainsi, vingt (20) pots de 10 cm de diamètre x 21,5 cm de profondeur contenant 1,8 kg de sable ont été utilisés. Trois (3) grains de maïs ont été plantés par pot, et les plantes ont été cultivées dans une chambre climatique à 21 °C, à raison de 16 heures d'ensoleillement par jour. Pendant 5 semaines, les plants de maïs ont été arrosés trois fois par semaine: 2 fois avec 80 ml d'eau distillée et une fois avec 80 ml de solution hydroponique contenant 6 ppm de nitrate d'ammonium (quantités égales des deux formes N). Après 5 semaines de culture, correspondant au stade 6 feuilles, les racines des trois plantes gardées intactes de chaque pot ont été lavées délicatement avec de l'eau distillée et ont été placées dans un bocal de 0,5 l rempli d'une solution nutritive avec un rapport nitrate:ammonium de 5:1. Deux concentrations en N minéral total ont été utilisées: 6 ppm de N minéral (5 ppm de N-NO₃⁻ et 1 ppm de N-NH₄⁺) et 17 ppm de N minéral (14,15 ppm de N-NO₃⁻ et 2,83 ppm de N-NH₄⁺). 5 répétitions ont été réalisées par concentration. Pour chaque flacon, la solution a été prélevée avec une seringue (1,5 ml) au début de l'expérience et après 25, 50, 75 et 100 minutes. Les échantillons ont été filtrés à l'aide d'un filtre de 25 µm et stockés à -20 °C avant analyse par chromatographie ionique (Thermo Scientific™ Dionex™ ICS-900, France). Les taux d'absorption d'ammonium et de nitrate par les racines ont été calculés à partir des diminutions linéaires des concentrations d'ammonium et de nitrate dans la solution avec le temps, et ont été exprimés en mg-N h⁻¹ g⁻¹ de racine de maïs sèche.

VI. Mesures des abondances et de la diversité des communautés nitrifiantes et dénitrifiantes des sols

VI.1. Extraction et quantification de l'ADN des microorganismes du sol

L'ADN des microorganismes du sol a été extrait à partir de 0,5 g de chacun des échantillons (profondeur 0-10cm) pour chacune des 3 dernières dates de prélèvement (après 3, 4 et 5 cycles de culture) à l'aide d'un Kit commercial Power Soil DNA Isolation Kit (MO BIO laboratories, Carlsbad, CA, USA), suivant le protocole fourni par le fabricant. L'ADN extrait a été quantifié grâce au Kit commercial Quant-iT™ PicoGreen® dsDNA Reagent and kit (Molecular Probes, USA). La quantification de l'ADN a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre UV Xenius (Safas, Monaco) à 520 nm (Simonin *et al.*, 2016), et l'ADN conservé à -20 °C pour les analyses ultérieures.

VI.2. Quantification des abondances des nitrifiants et des dénitrifiants du sol

Toutes les quantifications ont été effectuées en utilisant une gamme réalisée à l'aide de plasmides contenant les différents gènes cibles : un plasmide contenant les gènes *AOA-amoA/AOB-amoA/nxrA/16S-Nitrospira* et un autre plasmide contenant les gènes *nirK, nirS, nosZ, narG et napA*.

VI.2.1. Quantification des abondances des nitrifiants du sol

Les abondances des microorganismes nitrifiants, AOA et AOB (respectivement Archaea Oxydatrices de l'Ammonium et Bactéries Oxydatrices de l'Ammonium), ont été mesurées à l'aide d'une réaction de polymérisation quantitative en chaîne (qPCR). L'amplification du gène cible a été réalisée à partir de 10 ng d'ADN du sol en utilisant respectivement les amorces CrenamoA23f (5'-ATGGTCTGGCTWAGACG-3') et CrenamoA616r (5'-GCCATCCABCKRTANGTCCA-3') pour les AOA (Tourna *et al.*, 2008) ; et AmoA_1F (5'-GGGGHTTYTACTGGTGGT-3') et AmoA_2R (5'-CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC-3') pour les AOB (Rotthauwe *et al.*, 1997). Le volume réactionnel final était de 20 µl pour une concentration de 0,75 µM de CrenamoA23f et 1 µM CrenamoA616r pour les AOA et 0,5 µM pour chacune des amorces des AOB. A ce milieu réactionnel ont été ajoutés 2 % de sérum d'albumine (BSA) et du Sybergreen Master Mix Qiagen dilué de moitié. Les essais ont été analysés en double sur le lightcycler 480 (Roche, Diagnostics, Meyland, France). Les protocoles utilisés étaient les suivants : pour les AOA 15 minutes à 95 °C, 45 cycles d'amplification (45 s à 94 °C, 45 s à 55 °C et 45 s à 72 °C) et 10 s à 40 °C ; pour les AOB 15 minutes à 95 °C, 45 cycles d'amplifications (30 s à 94 °C, 45 s à 54 °C et 45 s à 72 °C) et 15 s

à 80 °C. Les abondances des *Nitrobacter* sont mesurées par qPCR ciblant le gène de fonction *nxrA* (Attard *et al.*, 2010). L'amplification est réalisée à partir de 40 ng d'ADN de sol en utilisant les amorces F1norA (5'-CAGACCGACGTGTGCGAAAG-3') (Poly *et al.*, 2008) et R2norA (5'-TCCACAAGGAACGGAAGGTC-3') (Wertz *et al.*, 2008). Le volume réactionnel final est de 20 µl pour une concentration de 0,5 µM pour chacune des amorces. A ce milieu réactionnel est ajouté du Sybergreen Master Mix Qiagen dilué de moitié. Les essais ont été réalisés en double pour chaque échantillon sur un lightcycler 480 (Roche, Diagnostics, Meyland, France), selon le protocole suivant : 15 minutes à 95°C, 45 cycles d'amplifications (30 s à 95 °C, 45 s à 55 °C et 45 s à 72 °C). Les abondances des *Nitrospira* ont été mesurées par pPCR ciblant un fragment du 16 S (71 paires de bases) de *Nitrospira*. L'amplification du gène est réalisée à partir de 10 ng d'ADN de sol, en utilisant les amorces Ns675f (5'-GCGGTGAAATGCGTAGAKATCG-3') et Ns646r (5'-TCAGCGTCAGRWAYGTTCCAGAG-3') (Graham *et al.*, 2007). Le volume réactionnel final était de 25 µl pour une concentration de 0,4 µM pour chacune des amorces. A ce milieu réactionnel sont ajoutés du Sybergreen Master Mix Qiagen (Qiagen, Courtaboeuf, France) dilué de moitié. Les essais ont été réalisés en double sur un lightcycler 480 (Roche, Diagnostics, Meyland, France), selon le protocole suivant : 15 minutes à 95 °C, et 45 cycles d'amplifications (30 s à 95 °C, 30 s à 66 °C et 1 min à 72 °C). Les abondances sont exprimées en logarithme du nombre de copies du gène (*amoA-AOA*, *amoA-AOB*, *nxrA*, *16S-Nitrospira*) par gramme de sol sec.

VI.2.2. Quantification des abondances des dénitrifiants du sol

Les abondances de 4 groupes de bactéries dénitrifiantes ont été estimées par qPCR ciblant des gènes codant des enzymes clés de la voie de dénitrification (Figure 2). L'amplification du gène *nirK* a été réalisée à partir de 5 ng d'ADN, en utilisant les amorces nirK876 (5'-ATYGGCGGVCA YGGCGA-3') et nirK1040 (5'-GCCTCGATCAGRTRTGGTT-3') (Henry *et al.*, 2004). Le volume réactionnel final était de 20 µl pour une concentration de 1 µM pour chacune des amorces. A ce milieu réactionnel ont été ajoutés du Sybergreen Master Mix Qiagen (Qiagen, Courtaboeuf, France) dilué de moitié et 0,1 % de T4 gène 32 Qbiogène. Les essais ont été réalisés en double sur un lightcycler 480 (Roche, Diagnostics, Meyland, France), selon le protocole suivant : 15 minutes à 95 °C, et 45 cycles d'amplifications (15 s à 95 °C, 30 s à 63 °C et 30 s à 72 °C). L'amplification du gène *nirS* a été réalisée à partir de 12,5 ng d'ADN de sol, en utilisant les amorces nirScd3aF (5'-AACGYSAAGGARACSGG-

3') (Kandeler *et al.*, 2006) et nirSR3cd (5'-GASTTCGGRTGSGTCTTSAYGAA-3') (Throback *et al.*, 2004). Le volume réactionnel final était de 25 µl pour une concentration de 1 µM pour chacune des amorces. A ce milieu réactionnel ont été ajoutés du Sybergreen Master Mix Qiagen (Qiagen, Courtaboeuf, France) dilué de moitié et 0,1 % de T4 gène 32 Qbiogene. Les essais ont été réalisés en double sur un lightcycler 480 (Roche, Diagnostics, Meyland, France), selon le protocole suivant : 15 minutes à 95 °C, puis 45 cycles d'amplifications (15 s à 95 °C, 30 s à 59 °C, 30 s à 72 °C et 30 s à 80 °C). L'amplification du gène *nosZI* a été réalisée à partir de 12,5 ng d'ADN du sol, en utilisant respectivement les amorces nosZ2F (5'-CGCRACGGCAASAAGGTSMSSGT-3') et nosZ2R (5'-CAKRTGCAKSGCRTGGCAGAA-3') (Henry *et al.*, 2006). Le volume réactionnel final était de 25 µl pour une concentration de 1,25 µM pour chacune des amorces. A ce milieu réactionnel ont été ajoutés du Sybergreen Master Mix Qiagen (Qiagen, Courtaboeuf, France) dilué de moitié et 0,1 % de T4 gène 32 Qbiogene. Les essais ont été réalisés en double sur un lightcycler 480 (Roche, Diagnostics, Meyland, France), selon le protocole suivant : 15 minutes à 95 °C, 6 cycles de touchdown (15 s à 95 °C, 30 s à 65 °C, 30 s à 72 °C, 15 s à 80 °C), et 40 cycles d'amplification (15 s à 95°C, 15s à 60 °C, 30s à 72°C et 15 s à 80 °C). L'amplification du gène *nosZ-II* a été réalisée à partir de 20 ng d'ADN du sol, en utilisant respectivement les amorces nosZ-II-F (5'-CTIGGICCIYTKCAYAC-3') et NosZ-II-R2 (5'-IGARCARAAITCBGTR-3') (Jones *et al.*, 2013). Le volume réactionnel final était de 25 µl pour une concentration de 1 µM pour chacune des amorces. A ce milieu réactionnel ont été ajoutés du Sybergreen Master Mix Qiagen (Qiagen, Courtaboeuf, France) dilué au trois quart et 3,75 % de sérum d'albumine (BSA). Les essais ont été réalisés en double sur un lightcycler 480 (Roche, Diagnostics, Meyland, France), selon le protocole suivant : 15 minutes à 95 °C, 45 cycles d'amplifications (30 s à 95 °C, 60 s à 53 °C, 60 s à 72 °C) et 30 s à 40 °C. Les abondances sont exprimées en logarithme du nombre de copies du gene (*nirS*, *nirK*, *nosZI*, *nosZII*) par gramme de sol sec.

VI.3. Diversité des nitrifiants

Un séquençage des gènes *amoA* des AOB a été réalisé sur une plate-forme Illumina MiSeq® (Molecular Research DNA) USA pour les 54 échantillons de la dernière date d'échantillonnage (c'est-à-dire après 5 cycles de culture). Une combinaison des outils disponibles sur le site Web RDP FunGene (Fish *et al.*, 2013) et le logiciel open source Mothur (v.1.33.3) (Schloss *et al.*, 2009) a été utilisée pour traiter et analyser les séquences obtenues.

Les produits de séquençage ont d'abord été appariés en extrémités de paires se chevauchant. Les données de séquences brutes résultantes ont ensuite été triées afin de n'en retenir que les séquences de bonne qualité. C'est-à-dire les séquences ayant moins de deux erreurs (<2 erreurs) au niveau de l'amorce, moins d'une erreur dans les codes barres (<1 erreur) nucléiques de multiplexage. La formation de chimères potentielles a été recherchée en utilisant UCHIME (Edgar *et al.*, 2011) mis en oeuvre dans Mothur. Les chimères putatives ont été retirées de l'ensemble de données. Les séquences de nucléotides *amoA* ont été traduites en acides aminés et les problèmes de trame de lecture ont été détectés et corrigés en utilisant l'algorithme FRAMEBOT (Wang *et al.*, 2013). Les séquences *amoA* ont alors été regroupées en unités fonctionnelles opérationnelles (OFUs) en fixant un seuil de regroupement à 5 % (Kim *et al.*, 2011). La similarité entre les séquences *amoA* extraites des sols et des séquences de référence a été évaluée en utilisant 15212 séquences d'AOB *amoA* extraites de la base de données FunGene. Pour chaque échantillon, des courbes de raréfaction basées sur des OFUs identifiées et un estimateur de richesse spécifique ACE (*Abundance-based Coverage Estimator*) représentant le niveau de couverture de l'échantillonnage (Good, 1953) en utilisant le logiciel Mothur ont été générés.

VII. Analyses statistiques

Dans le chapitre I, pour tester les effets de la profondeur du sol et de la durée de la jachère sur les variables édaphiques et les activités enzymatiques, des analyses en composantes principales (ACP) ont été effectuées, en utilisant le logiciel ADE 4 (Thioulouse *et al.*, 1997). Par ailleurs, les données ont été transformées en logarithmes avant l'analyse pour garantir la conformité avec les hypothèses de normalité et d'homogénéité des variances lorsque cela s'est avéré nécessaire.

Dans une première analyse anova, seule la profondeur du sol a été prise en compte. Une deuxième analyse a été effectuée pour tous les échantillons de chaque couche de sol, en tenant compte de la durée de la jachère. Cette analyse a permis de caractériser l'effet de profondeur du sol et l'effet de la durée de la jachère.

Des régressions linéaires et non linéaires ont été testées pour déterminer la relation la plus significative entre les paramètres chimiques du sol ou les activités enzymatiques et la profondeur du sol ou la durée de la jachère. Des analyses de corrélation de Pearson ont été

utilisées pour tester la significativité de ces relations au seuil $\alpha = 5 \%$. Toutes les régressions ont été réalisées à l'aide du logiciel JMP® (version 12, SAS Institute Inc., Cary, NC, 2007).

En ce qui concerne les résultats obtenus au chapitre II, toutes les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel JMP® Pro (version 12, SAS Institute Inc., Cary, NC, 2007) au seuil $\alpha = 5 \%$. Des ANOVA à un facteur ont été utilisées pour tester les effets possibles du traitement agronomique sur les variables édaphiques du sol (humidité du sol, pH_{eau} et N minéral), l'activité de nitrification, et les abondances des *AOB*, *AOA*, *Nitrobacter* et *Nitrospira*. Une des ANOVA à un facteur a également permis d'évaluer le taux d'absorption d'azote (ammonium et nitrate) par les racines sèches de maïs à 2 concentrations différentes d'azote minéral. Pour chaque date, les tests Tukey HSD ont été appliqués pour les comparaisons moyennes entre les paires de traitement. Des différences significatives ont été considérées pour $p < 0,05$. Pour la dernière date d'échantillonnage, la corrélation linéaire entre (i) le pourcentage de changement de nitrification mesuré avec 10 ppm par rapport à 2 ppm d'ammonium (c'est-à-dire $100 * (\text{Nitrif}_{10} - \text{Nitrif}_2) / \text{Nitrif}_2$) et (ii) le rapport *AOB* / *AOA* ou le rapport *Nitrobacter* / *Nitrospira* a été testée. De plus, l'identification de quelques clusters de séquences *amoA* réalisée ont montré une abondance relative accrue dans les sous-parcelles fertilisées par rapport aux sous-parcelles de référence. Le pourcentage de changement de nitrification mesuré pour 10 ppm par rapport à 2 ppm d'ammonium a été comparé à la somme des abondances relatives de ces groupes d'*AOB* promus par fertilisation.

Dans le chapitre III, des analyses de corrélation ont été effectuées pour étudier les relations entre les abondances des 4 groupes de dénitrifiants et les variables édaphiques du sol (nitrate, pH_{eau} , C. org, humidité du sol). Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel JMP® Pro (version 12, SAS Institute Inc., Cary, NC, 2007). Des analyses de corrélation de Pearson ont été utilisées pour tester l'importance des relations entre ces variables édaphiques et les abondances étudiées. Une ANOVA à un facteur a été utilisée pour tester les effets éventuels des traitements agronomiques sur les abondances *nirK*, *nirS*, *nosZI* et *nosZII* et sur les variables édaphiques du sol (pH_{eau} , Corg, humidité du sol, nitrate). Une Path Analysis (Shipley, 2002) a également été utilisé avec le logiciel Amos18® (Amos Development Corporation, Crawfordville, FL, USA) pour examiner les relations causales possibles entre les variables édaphiques du sol, l'abondance des groupes microbiens et l'activité enzymatique de dénitrification. Les voies de ce modèle ont été considérées significatives au seuil de $p < 0,05$.

Dans le chapitre IV, une analyse en composantes principales (ACP) un test a été réalisée afin de mettre en évidence les effets des traitements agronomiques sur les sept activités enzymatiques et sur les variables édaphiques du sol à l'aide du logiciel ADE 4 (Thioulouse *et al.*, 1997). Dans une première analyse, seules les activités enzymatiques potentielles ont été prises en compte. Une deuxième analyse a été effectuée en tenant compte des variables environnementales. Des régressions linéaires et non linéaires ont été réalisées pour étudier les relations entre les activités enzymatiques du sol, le nombre de cycle de culture et les traitements. Les analyses de corrélation de Pearson ont été utilisées pour tester le niveau de significativité et l'importance des relations. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel JMP[®] (version 12, SAS Institute Inc., Cary, NC, 2007).

PARTIE C : Résultats et Discussion

CHAPITRE I : EFFET DE LA PRATIQUE DE LA JACHÈRE A BASE DE *CHROMOLAENA ODORATA* SUR LES CARACTÉRISTIQUES CHIMIQUES ET ENZYMATIQUES DES SOLS

I.1. Introduction partielle

L'effet de la jachère à base de *Chromolaena odorata* sur les caractéristiques chimiques et enzymatiques du sol a été évalué en fonction de la profondeur du sol et de la durée de mise en jachère. Ce chapitre "préliminaire" a concerné les échantillons de sols collectés avant la préparation des parcelles. Les hypothèses suivantes ont été testées vérifiées :

(1) Les activités des enzymes du sol telles que les hydrolases et les oxydoréductases sont plus sensibles aux jachères à *Chromolaena odorata* car la litière dérivée des feuilles de *Chromolaena odorata* est un substrat favorable pour ces enzymes ;

(2) La durée de la jachère module donc l'effet de la jachère sur la qualité du sol, et l'influence de la durée de jachère diffère selon les paramètres chimiques du sol et les activités enzymatiques considérées. Cette hypothèse a été faite en supposant que carbone organique (C. org), l'azote totale (N_{tot}) et la concentration de nombreux minéraux du sol augmenteraient avec l'augmentation de la durée des jachères en raison de l'accumulation de la litière produite par les jachères à base de *Chromolaena odorata* et sa dégradation par les organismes du sol. Cependant, cette hypothèse a été faite en craignant d'observer une diminution du C. org dans les anciennes jachères, car celles-ci sont particulièrement exposées aux feux de brousse étant donné le fait que la biomasse aérienne augmente pendant la période de jachère ;

Et (3) l'effet de la jachère et de la durée de la jachère est principalement détecté dans la couche superficielle du sol, tandis que les couches sous-jacentes du sol ne sont pas tellement influencées, même pendant une longue période de jachère. Si cette dernière hypothèse était vérifiée, cela aurait une implication importante, par exemple pour les pratiques de culture de l'igname qui dépendent également de la fertilité de la couche de sol de 20 à 40 cm.

I.2. Résultats

I.2.1. Effet de la profondeur du sol sur les paramètres chimiques et les activités enzymatiques du sol

I.2.1.1. Analyse des paramètres chimiques du sol et des activités enzymatiques en fonction de la profondeur du sol

Les tests statistiques (anova à 1 facteur) utilisés pour comparer les quatre profondeurs, ont montré que les paramètres chimiques et enzymatiques étudiés dans la couche arable (0-10 cm) étaient significativement différents des trois autres profondeurs (10-20 cm, 20-30 cm et 30-40 cm) du sol ($p= 0,0001$).

Par ailleurs, l'analyse en composantes principales (ACP) réalisée pour évaluer l'influence globale de la profondeur du sol sur les paramètres chimiques et les activités enzymatiques est présentée dans la Figure 15. Les axes 1 et 2 expliquent respectivement 34,4 et 19,7 % de la variance totale, soit plus de 54 % de l'inertie totale. La profondeur 0-10 cm diffère fortement des 3 autres profondeurs (10-20 cm, 20-30 cm, 30-40 cm) du sol, avec une distribution claire des échantillons le long du premier axe de l'ACP (Figure 15).

Tous les paramètres étudiés ont permis de discriminer les échantillons des quatre couches du sol le long du premier axe, avec un rôle prépondérant de la β -Glu et de la DH. Pour chaque profondeur de sol donnée, la variance observée le long du deuxième axe de l'ACP, discrimine 2 groupes de variables contraste entre le premier groupe de variables (K, Mg, Ca, pH_{eau} , C.org) et le deuxième groupe (Pac, Pal, Nac, β -Glu, DH, N_{tot} , $P_{assimilable}$) (Figure 15). Par ailleurs, ces résultats montrent une influence significative de la strate 0-10 cm du sol sur le groupe de variables composé de Pac, Pal, Nac, β -Glu, DH, N_{tot} , et $P_{assimilable}$ ($p<0,05$).

De plus, cette influence donne un excellent indice sur la connaissance de la qualité des strates des sols de cette zone.

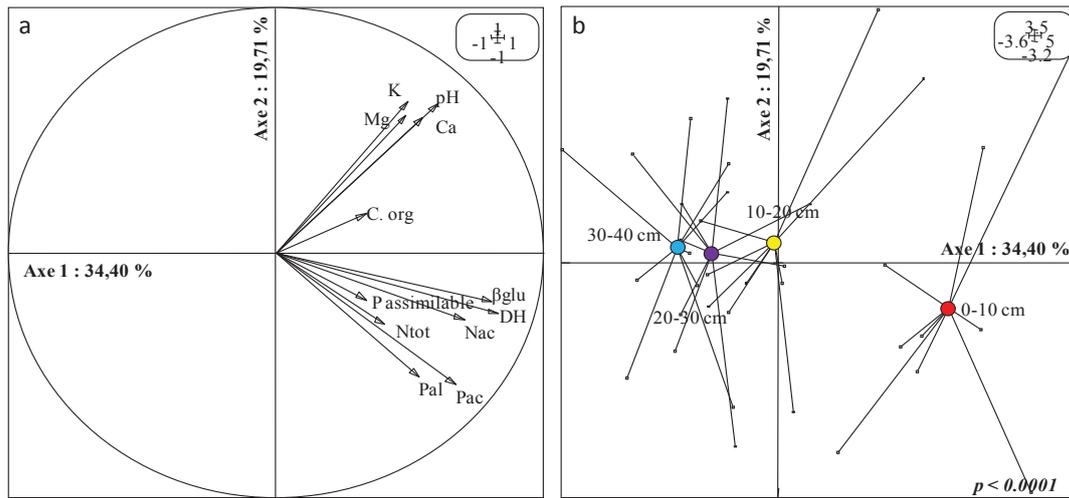


Figure 15. Analyse en composantes principales (ACP) des profondeurs du sol en fonction des cinq activités enzymatiques du sol et de sept paramètres chimiques des neuf parcelles de jachères à base de *Chromolaena odorata*. (a) Cercle de corrélation et (b) projection des différents échantillons de sol dans le plan factoriel défini par les axes 1 et 2. Pac: phosphatase acide; Pal: phosphatase alcaline; β-Glu: β-glucosidase; Nac: N-acétyl-β-glucosaminidase; DH: déshydrogénase; pH_{eau}: potentiel d'hydrogène; N_{tot}: azote total; P_{assimilable}: phosphore assimilable; Mg: Magnésium; K: potassium; Ca: Calcium; C.org: carbone organique du sol. Les profondeurs du sol sont : 0-10 cm (rouge); 10-20 cm (jaune); 20-30 cm (violet); et 30-40 cm (bleu).

I.2.1.2. Effet de la profondeur sur les paramètres chimiques du sol

Les paramètres chimiques du sol mesurés ont eu tendance à diminuer en fonction de la profondeur du sol. En effet, la teneur en C.org (Figure 16a ; $p = 0,012$) et en Mg (Figure 16d ; $p = 0,0003$) ont significativement diminué avec des valeurs allant respectivement de 3,02 à 2,23 % et de 0,09 à 0,04 % pour le C.org et le Mg. La teneur en K quant à elle, a diminué de manière non significative (Figure 16c ; $p = 0,06$) avec des valeurs allant de 0,28 à 0,17 %. En revanche, N_{tot} n'a pas été significativement influencé par la profondeur du sol (Figure 16b ; $p = 0,34$), avec des valeurs comprises entre 0,27 et 0,30 %. En ce qui concerne les autres paramètres, le P_{assimilable} a varié entre 0,27 et 0,29 mg kg⁻¹, cependant aucune différence significative n'a été observée en fonction de la profondeur du sol (Figure 16g ; $p = 0,53$) idem pour le pH_{eau} du sol (Figure 16h ; $p = 0,19$). Par ailleurs, la Figure 16 a montré que pour la plupart des paramètres chimiques observés notamment le C.org, Mg, Ca et K, lorsque la strate du sol augmente ces paramètres chimiques ont tendance à diminuer. Par contre pour les paramètres telles que le pH_{eau} du sol, N_{tot} et le P_{assimilable} la tendance était plutôt mitigée, puisque l'augmentation de la strate n'a pas entraîné d'augmentation ou de baisse de ces paramètres.

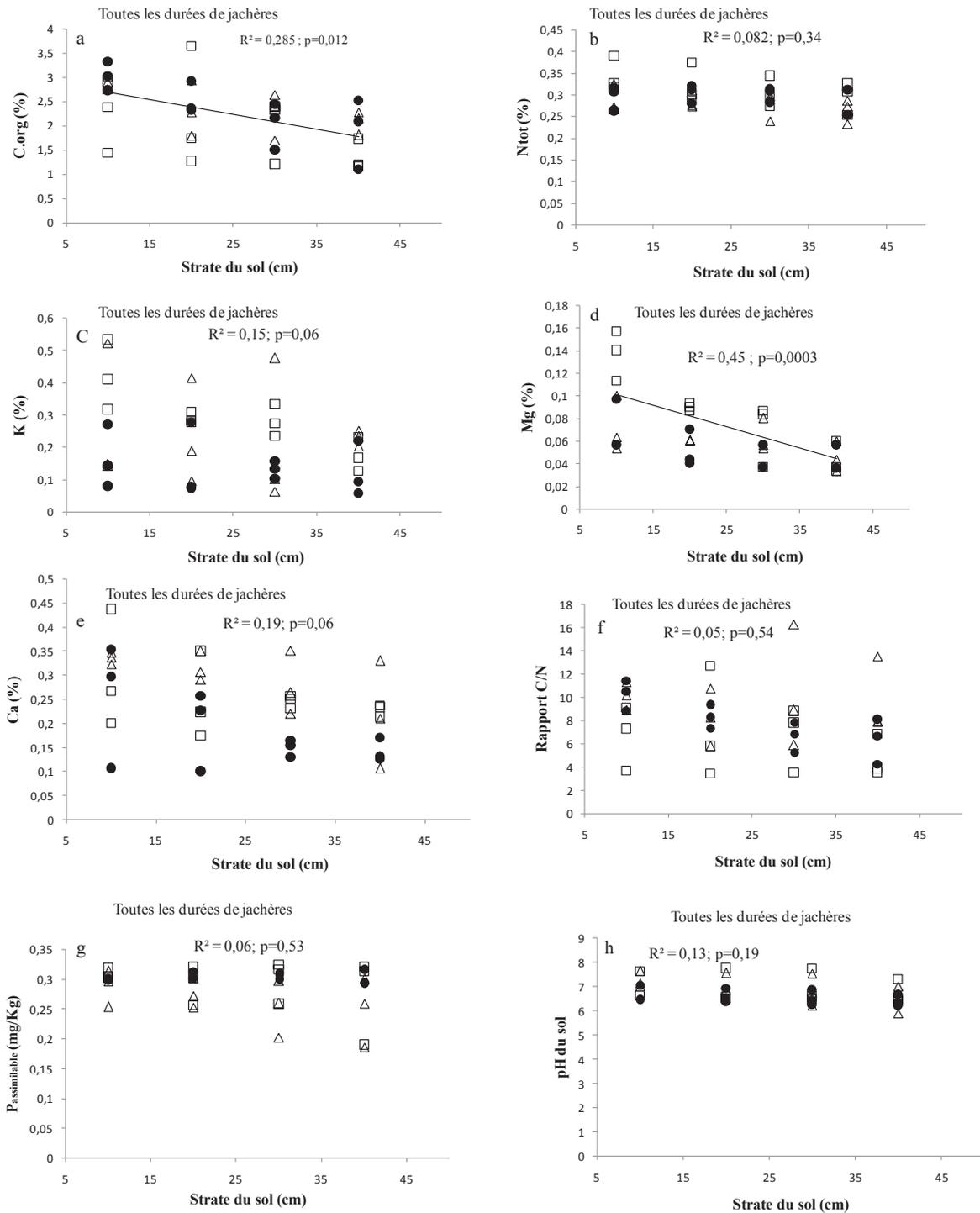


Figure 16. Variables édaphiques des neuf parcelles de jachères à base de *Chromolaena odorata* en fonction de la profondeur du sol. Lorsque $p < 0,05$, les corrélations étaient considérées comme significatives. Les âges des parcelles de jachères à base de *Chromolaena odorata* sont : 1 à 3 ans (Δ), de 4 à 6 ans (\bullet) et de 7 à 10 ans (\ddot{y}).

I.2.1.3. Effet de la profondeur du sol sur les activités enzymatiques

Les résultats des mesures des activités enzymatiques révèlent que toutes les activités enzymatiques étudiées ont été détectées sur le site d'étude et ont montré une tendance à la baisse en fonction de l'augmentation des profondeurs du sol considérées (Figure 17). En effet, l'activité phosphatasique acide (Pac) (Figure 17a ; $p = 0,0001$), l'activité β -Glucosidasique (β -Glu) (Figure 17c ; $p < 0,0001$) et l'activité déshydrogénasique (DH) (Figure 17d ; $p < 0,0001$) ont montré une baisse très significative en fonction de l'augmentation de la profondeur du sol. Une tendance similaire à la baisse a été également observée pour l'activité phosphatasique alcaline (Figure 17b ; $p = 0,06$). Ces résultats montrent que lorsque la profondeur du sol augmente les activités enzymatiques étudiées diminuent.

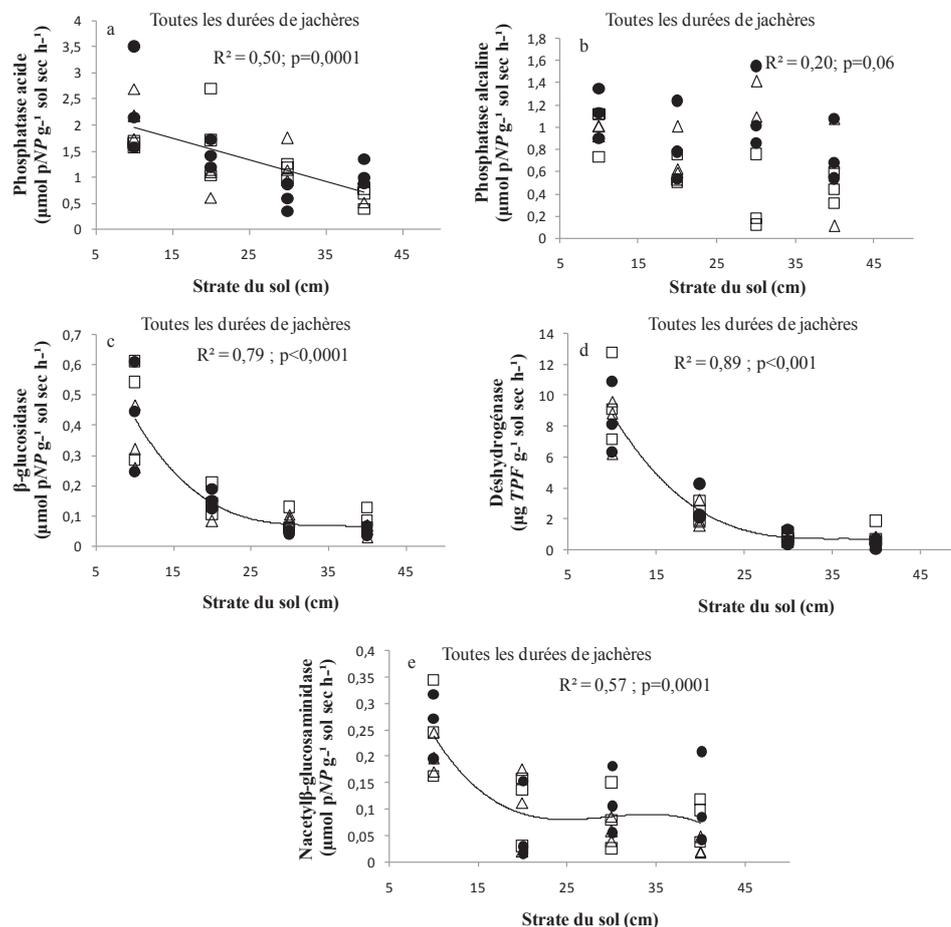


Figure 17. Activités enzymatiques du sol des neuf parcelles de jachères à base de *Chromolaena odorata* en fonction de la profondeur du sol. Lorsque $p < 0,05$, les corrélations étaient considérées comme significatives. Les âges des parcelles de jachères à base de *Chromolaena odorata* sont : 1 à 3 ans (Δ), de 4 à 6 ans (\bullet) et de 7 à 10 ans (\ddot{y}). Les lettres a, b, c, d et e désignent respectivement les activités enzymatiques (Pac, Pal, β -Glu, DH, Nac) mesurées.

I.2.2. Effet de la durée de la jachère sur les paramètres chimiques et les activités enzymatiques de l'horizon de surface du sol

I.2.2.1. Analyses des paramètres chimiques et des activités enzymatiques en fonction de l'âge des jachères

L'influence de la durée de mise en jachère a été évaluée sur tous les paramètres chimiques et enzymatiques mesurés. Ainsi, une seconde ACP a été effectuée en tenant compte des paramètres chimiques et des activités enzymatiques du sol mesurés pour examiner l'effet global de la durée de jachère sur les deux premières profondeurs du sol (0-10 cm et 10-20 cm) (Figure 18). En observant la profondeur 0-10 cm du sol, il a été remarqué que la durée de la jachère a influencé l'emplacement des échantillons le long du premier axe de l'ACP, ce qui a expliqué 34,6 % de la variance totale (Figure 18a₁₋₂). Les jachères d'âge compris entre 1 et 5 ans sont pour la plupart regroupées au niveau de la partie gauche du premier axe. En revanche, les échantillons dont l'âge de mise en jachère est compris entre 6 et 7 ans sont situés sur la partie droite du premier axe. Les teneurs en K, Mg et le pH_{eau} du sol avaient les valeurs les plus élevées dans les jachères de 1 à 6 ou 7 ans et étaient corrélées positivement à l'axe 1. La Nac avec les valeurs les plus élevées observées dans les jachères de 4 à 5 ans étaient négativement corrélés à l'axe 1. Le long du deuxième axe, le contraste principal a été observé entre les jachères de 1 an et 10 ans, avec un rôle prépondérant des teneurs en N_{tot} et C.org (Figure 18a₁₋₂). Autrement dit, les teneurs en K, Mg et le pH_{eau} sont liés aux jachères de 1 à 6 ou 7 ans. Tandis que la Nac, aux jachères de 4 à 5 ans et le N_{tot} et C.org, aux jachères de 1 an et 10 ans.

L'observation des autres profondeurs c'est-à-dire des strates de sol inférieures (10-20 cm ; 20-30 ; 30-40 cm) notamment la strate 10-20 cm, a révélé que le premier axe de l'ACP n'explique que 25,2 % de la variance totale (Figure 18b₁₋₂). Aucun regroupement clair n'a pu s'observer en fonction de l'âge à partir de cette strate.

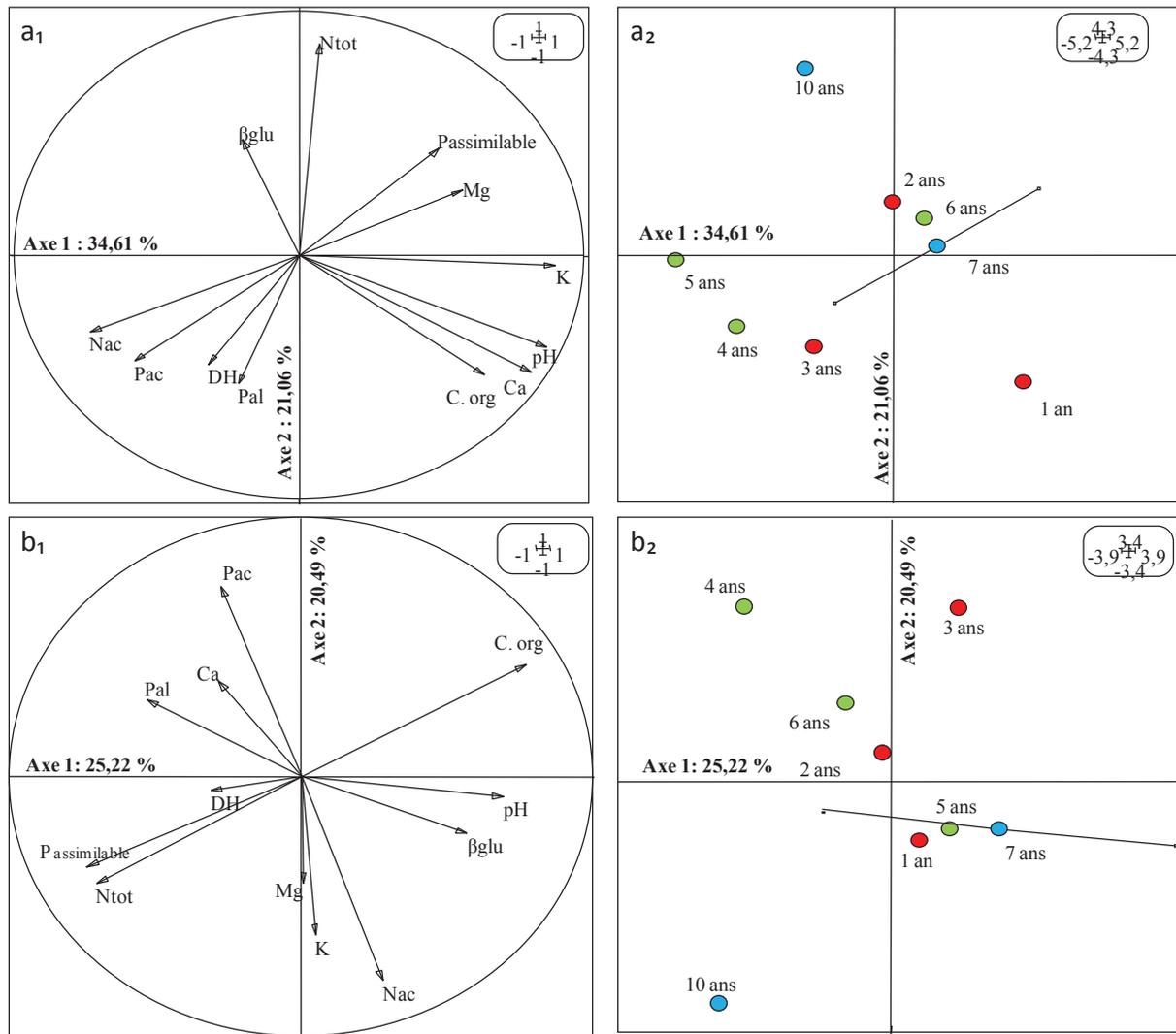


Figure 18. Analyse des composantes principales (ACP) des cinq activités enzymatiques du sol et des sept variables édaphiques des neuf parcelles de jachères à base de *Chromolaena odorata*. a₁ et a₂ : ACP effectuée avec les données de la profondeur 0-10 cm. b₁ et b₂ : ACP réalisée avec les données de la profondeur 10-20 cm. (a₁ et b₁) cercles de corrélation et (a₂ et b₂) projections des différents échantillons de sol dans le plan factoriel. Pac: phosphatase acide; Pal: phosphatase alcaline; β-Glu: β-glucosidase; Nac: N-acétyl-β-Glucosaminidase; DH: déshydrogénase; pH_{eau}: potentiel d'hydrogène; N_{tot}: azote Total; P_{assimilable}: phosphore assimilable; Mg: Magnésium; K: potassium; Ca: Calcium; C.org: carbone organique du sol. L'âge des jachères est compris entre 1 à 3 ans (rouge), 4 à 6 ans (vert) et 7 à 10 ans (bleu).

I.2.2.2. Effet de la durée de mise en jachère sur les paramètres chimiques du sol

Les résultats ont indiqué que quatre des paramètres chimiques mesurés ont significativement été influencés par la durée de la jachère (Figure 19). Parmi ceux-ci, la N_{tot} a augmenté linéairement avec des teneurs allant de 0,28 à 0,34 % (Figure 19b ; p = 0,021). Le Mg a également eu tendance à augmenter avec des valeurs allant de 0,07 à 0,13 % (Figure 19d ;

$p=0,06$). Par contre, le C.org a diminué de 3,02 à 2,23 % avec l'augmentation de la durée de mise en jachère (Figure 19a ; $p= 0,06$). Le K du sol a montré une réponse plus complexe en fonction de l'augmentation de la durée de la jachère. En effet, la teneur en K a brusquement chuté pour les jachères dont l'âge est compris entre de 2 et 5 ans et a augmenté dans celles dont l'âge est compris entre 6 et 10 ans (Figure 19c ; $p<0,001$). Cependant, les autres paramètres chimiques étudiés n'ont pas été affectés par la durée de la jachère. Par exemple, pour le $P_{\text{assimilable}}$ des teneurs comprises entre 0,28 et 0,30 mg kg^{-1} ont été enregistrées sans effet significatif en fonction de la durée de la jachère (Figure 19g ; $p= 0,25$). Cette même observation a été faite pour le Ca qui a varié de 0,25 à 0,33 % (Figure 19e ; $p=0,80$) et le pH_{eau} du sol de 6,90 à 7,26 (Figure 19h ; $p = 0,24$). Par ailleurs, la Figure 19 a montré que pour la plupart des paramètres chimiques observés (C.org, Ca, pH_{eau} et K), plus la durée de jachère augmente plus les paramètres chimiques observés diminuent. En revanche, pour les paramètres tels que Mg et N_{tot} , l'augmentation de la durée de jachère entraîne l'augmentation de ces paramètres dans le sol.

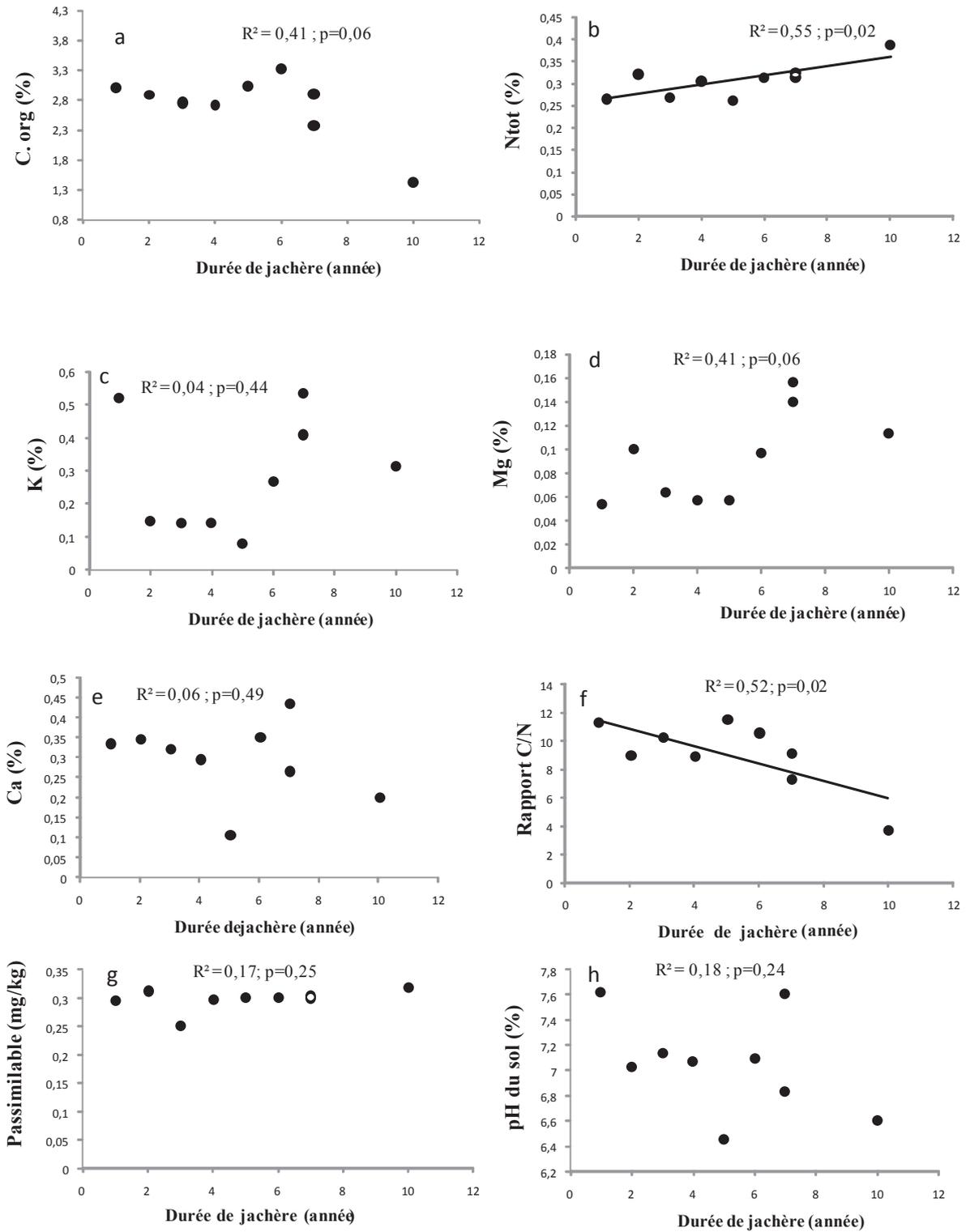


Figure 19. Variables édaphiques du sol de neuf parcelles de jachères à base de *Chromolaena odorata* en fonction de la durée des jachères dans la strate 0-10 cm. Lorsque $p < 0,05$, les corrélations étaient considérées comme significatives.

I.2.2.3. Effet de la durée de mise en jachère sur les activités enzymatiques

Concernant les activités enzymatiques du sol, les résultats ont montrés que celles-ci n'ont pas été influencées par la durée de la jachère en générale même celle de la profondeur 0 à 10 cm (Figure 18). Aussi la figure 18 révèle que la Nac, la Pac, la Pal et la DH sont regroupés dans un même quadra et sont sans doute gouvernées par des facteurs partagés. La Figure 22 a montré que pour la plupart des activités enzymatiques observées, l'augmentation de la durée de la jachère n'a pas entraîné de changements de ces activités enzymatiques dans le sol.

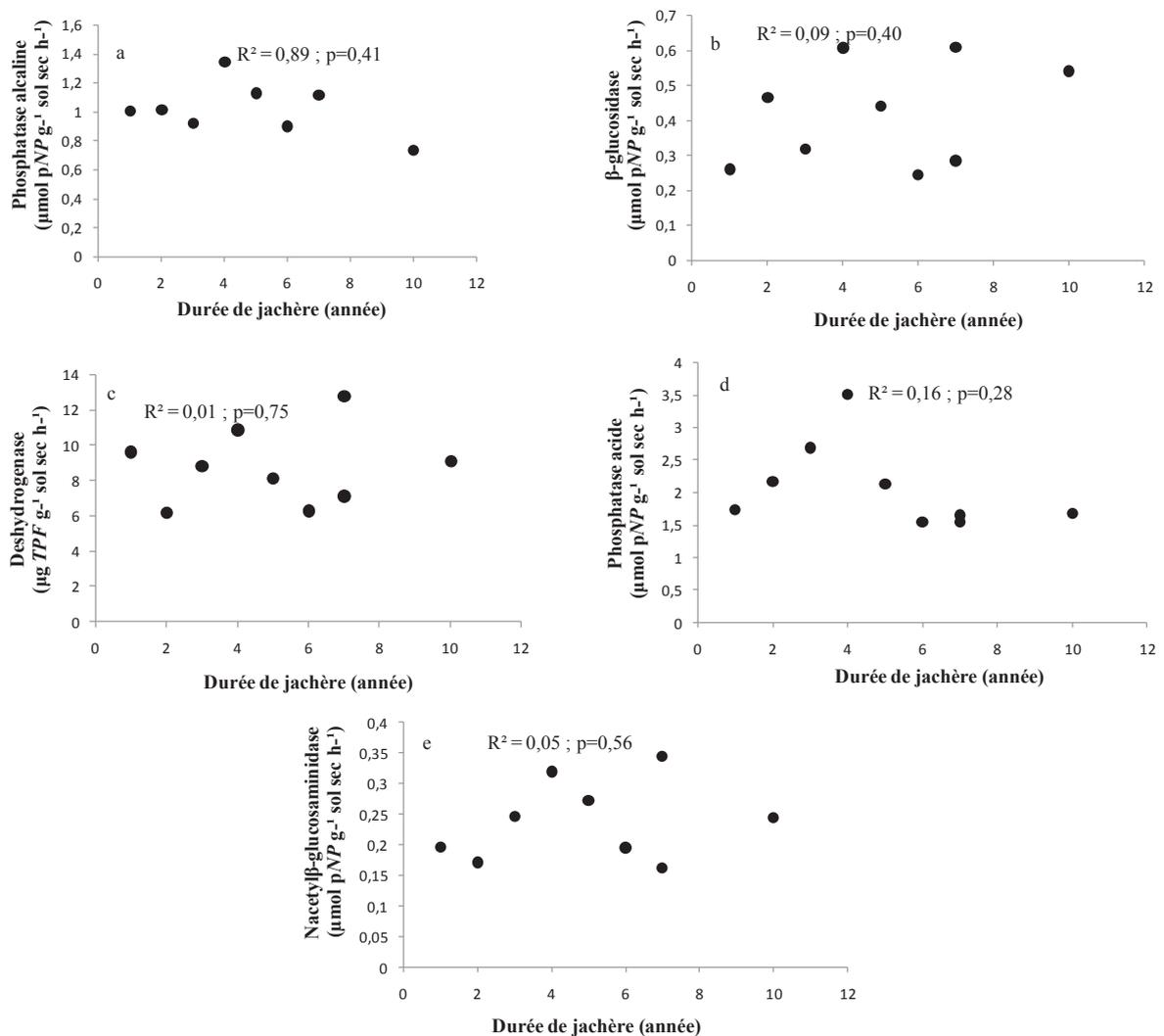


Figure 20. Activités des enzymes du sol des neuf parcelles de jachères à base de *Chromolaena odorata* en fonction de la durée de la jachère dans la strate 0-10 cm. Lorsque $p < 0,05$, les corrélations étaient considérées comme significatives.

I.2.3. Corrélations entre les paramètres chimiques et les activités enzymatiques du sol

Les tests de corrélations de Pearson réalisés entre tous les paramètres du sol étudiés ont révélé des corrélations positives et significatives entre certains paramètres. En effet, toutes les activités enzymatiques, hormis la Pal, ont été positivement et significativement corrélées ($\alpha = 5\%$; $r \geq 0,48$) entre elles. Cette activité n'est pas significativement corrélée à la β -Glu et à la Nac (Tableau 3), mais fortement à la Pac. De plus, une corrélation plus faible de la Pal avec la DH ($r = 0,37$) a également été observée. En outre, Pac et Pal sont positivement corrélés à C.org. Les activités Nac et β -Glu sont principalement liées à la teneur en Mg dans le sol, tandis que la DH est principalement corrélée positivement au Mg et au C.org (Tableau 3). Le tableau 3 a montré que la corrélation entre la plupart des activités enzymatiques étudiées (Pac, Pal, Nac, β -Glu) et l'activité DH est significative. Lorsque l'activité DH augmente dans le sol, le pourcentage des activités enzymatiques (Pac, Pal, Nac, β -Glu) augmentent.

Tableau 3. Relations entre les variables édaphiques chimiques et les activités enzymatiques du sol (0-10 cm). Valeurs de r extraites des corrélations de Pearson entre les paramètres du sol (demi-partie inférieure gauche du tableau). Valeurs de p pour les mêmes corrélations (moitié droite-supérieure du tableau). NS: pas significatif. 0,5 < * < 0,1 ; ** < 0,01 ; *** < 0,001. Les abréviations pour les paramètres du sol sont Pac: phosphatase acide; Pal: phosphatase alcaline; β -Glu: β -glucosidase; Nac: N-acétyl- β -Glucosaminidase; DH: déshydrogénase, pH_{eau}: hydrogène potentiel; K: Potassium; Mg: Magnésium; Ca: Calcium; C. org: carbone organique du sol; N_{tot}: azote total; C/N: rapport azote carbone; P_{assimilable}: phosphore assimilable.

	Pac	Pal	Nac	β -Glu	DH	pH _{eau}	K	Mg	Ca	C. org	N _{tot}	C/N	P _{assimilable}
Pac	•	0,0001	0,0025	0,0001	0,0001	NS	NS	NS	NS	0,0013	NS	NS	NS
Pal	0,66	•	NS	NS	0,0282	NS	NS	NS	NS	0,0155	NS	NS	NS
Nac	0,48	0,27	•	0,0001	0,0001	NS	NS	0,0103	NS	NS	NS	NS	NS
β -Glu	0,66	0,31	0,69	•	0,0001	NS	NS	0,0010	0,0350	NS	NS	NS	NS
DH	0,68	0,37	0,78	0,83	•	NS	0,0395	0,0005	0,0377	0,0062	NS	NS	NS
pH _{eau}	0,16	0,02	0,17	0,28	0,30	•	0,0002	NS	0,0206	0,0024	NS	0,0400	NS
K	-0,08	0,07	0,12	0,23	0,34	0,58	•	0,0047	0,0089	NS	NS	NS	NS
Mg	0,17	0,11	0,42	0,53	0,55	0,31	0,46	•	0,0279	NS	NS	NS	NS
Ca	0,27	0,15	0,05	0,35	0,34	0,38	0,42	0,37	•	NS	NS	NS	NS
C.org	0,51	0,40	0,23	0,32	0,44	0,48	0,17	0,26	0,18	•	NS	0,0001	NS
N _{tot}	0,16	0,22	0,27	0,28	0,22	0,02	0,24	0,25	0,20	-0,12	•	0,0001	0,0001
C/N	0,24	0,16	0,03	0,10	0,21	0,34	-0,00	0,12	-0,01	0,75	-0,69	•	0,0005
P _{assimilable}	0,14	0,22	0,24	0,19	0,20	0,11	0,21	0,12	0,02	-0,08	0,78	-0,55	•

I.3. Discussion

I.3.1. Effet de la profondeur du sol sur les propriétés chimiques et les activités enzymatiques du sol

L'influence de la profondeur du sol a fortement varié d'un paramètre chimique du sol à un autre dans les jachères à base de *Chromolaena odorata*. La teneur en Carbone organique (C.org) a diminué avec l'augmentation de la profondeur du sol pour toutes les parcelles de jachère étudiées. La diminution du C.org en fonction de la profondeur du sol est communément rapportée dans de nombreux écosystèmes (Jobbagy et Jackson, 2000). Cette diminution s'explique par le rôle clé que jouent les plantes dans la répartition verticale du C.org par leurs apports en litière au sol (Jobbagy et Jackson, 2000). Contrairement au C.org, aucune variation significative de la teneur en Azote total (N_{tot}) et du Phosphore assimilable ($P_{assimilable}$) n'a été observé en fonction de la profondeur du sol. Ce résultat suggère que les éléments nutritifs ne s'accumulent pas ou que ce taux d'accumulation est très lent au cours du temps dans les couches supérieures du sol, probablement en raison de la forte intensité de la lixiviation et du lessivage dans cette zone d'étude. En effet, le brûlis est une pratique agricole courante dans cette zone de savane, qui se caractérise également par des précipitations très élevées, qui accélèrent les processus de lixiviation de l'azote, de lessivage du Phosphore, et l'érosion des sols par ruissellement.

Ajouté à ce constat, notons que la nature argilo sableuse de ce sol est la conséquence du niveau élevé de la lixiviation des cations basiques, notamment le calcium des horizons superficiels (Abua *et al.*, 2010).

Toutefois, les résultats contrastés pour ce qui concerne le C.org et le N_{tot} peuvent également suggérer que l'apport de C.org dans les sols pourrait être principalement due à l'apport de litière se trouvant au-dessus du sol c'est-à-dire dans la profondeur 0-10 cm du sol.

Les résultats ont également montré que dans les jachères à base de *Chromolaena odorata*, les activités enzymatiques du sol étaient plus intenses dans la couche superficielle du sol, avec des valeurs relativement élevées dans la couche 0 à 10 cm comparée à celles des trois autres couches (10-20 cm ; 20-30 cm ; 30-40 cm). Ces résultats sont conformes à ceux rapportés par Zaman *et al.* (2002) et Moreno *et al.* (2003) sur la distribution de différentes activités

enzymatiques (protéase, désaminase, uréase, phosphatase et β -glucosidase) selon des profils (0-5 cm ; 10-20 cm) de sols dans différents écosystèmes. La diminution des activités enzymatiques avec la profondeur du sol a été également rapportée par plusieurs auteurs (Taylor *et al.*, 2002; Venkatesan et Senthurpandian, 2006; Snajdr *et al.*, 2008b; Gelsomino et Azzellino, 2011; Steinweg *et al.*, 2013). Sardans et Peñuelas (2010) ont, en effet, signalé que la plus grande quantité de litière et la bonne aération des sols observée dans la couche supérieure sont à l'origine des plus fortes activités enzymatiques dans les profondeurs 0-15 cm à 15-30 cm du sol. Okpamen *et al.* (2013) ont également indiqué que la profondeur influence l'absorption des nutriments par les racines des plantes, car la plupart des plantes ont leurs racines fonctionnelles situées dans la partie supérieur du sol. En outre, la biomasse microbienne et les pools de substrats diminuent généralement avec la profondeur du sol (Blume *et al.*, 2002; Fierer *et al.*, 2003a; Fang et Moncrieff, 2005; Krämer *et al.*, 2013). D'ailleurs, il a été observé dans cette strate du sol, les valeurs de l'activité déshydrogénasique (DH) dans la profondeur 0-10 cm du sol étaient en fait 4 fois plus élevées que dans la profondeur 30 à 40 cm. Ces résultats sont en accord avec ceux de Xiang *et al.* (2008) qui ont observé une activité DH approximativement 4 fois plus élevée dans la couche supérieure du sol (5 cm de profondeur) que dans (90-100 cm de profondeur). Les résultats de la présente étude suggèrent donc que la profondeur 0-10 cm est le siège d'une activité biologique intense, probablement synonyme d'une disponibilité en éléments nutritifs.

I.3.2. Effet de la durée de la jachère sur les propriétés chimiques et les activités enzymatiques du sol

Les résultats obtenus ont montré des effets significatifs et parfois inattendus de la durée de mise en jachère sur les paramètres chimiques du sol (N_{tot} , rapport C/N) en particulier dans la profondeur de 0 à 10 cm du sol. De toute évidence, N_{tot} et Mg ont eu tendance à augmenter avec la durée de la jachère, même si cette augmentation n'était pas significative au seuil 5 % pour le Mg. Ce résultat était prévisible en supposant une accumulation progressive des débris végétaux en fonction de l'augmentation de la durée de mise jachère. Il a été inattendu d'observer que la teneur en C.org soit restée plutôt stable au cours des six premières années de jachère et, a même eu tendance à diminuer pour les jachères de 7 à 10 ans. En revanche, des études antérieures ont montré une accumulation de matières organiques et d'éléments nutritifs du sol après la mise en place de prairies ou de jachères sur des systèmes

précédemment cultivés (Feller *et al.*, 1993 ; Koné *et al.*, 2012b ; Attard *et al.*, 2016) en particulier pendant les cinq premières années après l'abandon des cultures (Ibrahim *et al.*, 2010). Par exemple, Koné *et al.* (2012b) ont noté que la durée minimale requise pour une amélioration significative du stock de matière organique du sol était de 4 à 8 ans. Koutika *et al.* (2004) ont rapporté des valeurs élevées de C.org dans une jachère de 2 ans dominée par *Chromolaena odorata* au Cameroun, par rapport aux jachères de *Pueraria phaseoloides* et *Calliandra calothyrsus*. Slaats (1995) a signalé de grands changements dans la biomasse de brousse de *Chromolaena odorata* au fil du temps, avec des valeurs de 8, 14 et 18t ha⁻¹ de biomasse sèche respectivement pour les jachères de 1, 2 et 3 ans, révélant ainsi une augmentation de l'apport de litière et de nutriments en fonction de la durée de la jachère.

En outre, Manlay (2000) a mis l'accent sur l'efficacité des jeunes jachères à restaurer rapidement au sol de grands stocks N et P_{assimilable}. Cet auteur a indiqué que le taux d'augmentation des stocks de N et P était maximal après un an de jachère et quasiment nul après 10 ans. Les résultats de cette étude diffèrent donc de ceux de ces études antérieures. Cela pourrait être dû à plusieurs raisons. Premièrement, les vieilles jachères sont généralement composées de brousses que les agriculteurs exploitent pour le fourrage et le bois (Gillon, 1993), ce qui diminue l'apport de biomasse dans le sol. Deuxièmement, dans la zone d'étude, les jachères sont éventuellement exposées aux feux de brousse et la probabilité pour celles-ci de brûler augmente avec la biomasse au fur et à mesure que la période de jachère augmente. En effet, de nombreux auteurs ont signalé que la fréquence et l'intensité du feu de brousse augmentaient avec la biomasse disponible lorsque le feu survient. Il est donc probable que les jachères de 7 à 10 ans soient plus propices à la combustion, ce qui entraîne une perte importante de biomasse, en particulier de la litière présente de la couche superficielle du sol. La tendance temporelle observée pour les teneurs en K et en Mg dans la couche supérieure du sol (avec les valeurs les plus faibles mesurées pour les jachères de 2 à 6 ans) est compatible avec celle-ci. En effet, alors que la pratique du brûlis fournit des apports annuels de cendres dans la couche supérieure du sol (les cendres étant riches en K et Mg), les jachères correspondent pendant les premières années à l'arrêt de cette pratique et des apports en cendres. *Chromolaena odorata* présente des teneurs foliaires relativement élevées en N, P et K (Saxena et Ramakrishnan 1983b ; Vanderwoude *et al.*, 2005). La probabilité croissante pour les vieilles jachères ayant des biomasses plus élevée de brûler explique les nouveaux apports de cendres dans la couche supérieure du sol et donc des concentrations accrues de K et Mg dans la couche supérieure du sol. En fait, de nombreux auteurs ont révélé que les plants

secs de *Chromolaena odorata*, deviennent un combustible qui peut favoriser les feux de forêt et les feux de brousse (Moore, 2004; PIER, 2003; PIER, 2004a, Ministère des Ressources Naturelles et des Mines, 2005). Ces raisons, associées à la composition boisée spécifique de la végétation des jachères (Harmand *et al.*, 2000 ; Manlay, 2000) expliquent les différences observées.

En outre, les sols de la zone d'étude qui sont très sableux avec des teneurs en limon et en argile très faibles (respectivement entre 14 et 7 % en générale) favoriseraient ce processus. La quantité de Calcium (Ca) du sol a généralement eu tendance à baisser en fonction de l'âge de la jachère, cependant cette baisse n'était pas significative ($p=0,49$). Ce résultat est contraire à ceux rapportés par Amiolemen *et al.* (2012) dans leur étude sur l'évaluation de l'état nutritif du sol sous jachères à base de *Chromolaena odorata* L. (siam weed) à moniya, (état d'Oyo sud-ouest du Nigéria). En effet, ces auteurs ont rapporté que les quantités de calcium échangeable (Ca) augmentaient sensiblement avec l'âge de *Chromolaena odorata*. Par ailleurs, Edoukou *et al.* (2013) en observant les paramètres de diversité des vers de terre soumis à un système de jachère (*L. purpureus* vs *Chromolaena odorata*) ont constaté que malgré la quantité de litières plus élevée et moins riche en carbone sous *L. purpureus*, la densité des vers de terre (globale et par catégorie écologique) n'a pas montré de différence significative avec *Chromolaena odorata*. Selon ces auteurs, ce constat pourrait être attribué, en partie, à la teneur plus élevée en calcium des litières de *L. purpureus* par rapport à celles de *Chromolaena odorata*, cet élément comptant dans la rigidité des litières de feuilles. Ainsi, il semblerait que la teneur en Ca de la biomasse des feuilles de *Chromolaena odorata* soit relativement moins importante.

Ce constat pourrait donc expliquer le fait que dans les résultats observés dans cette étude, la teneur en Ca du sol ait tendance à baisser avec l'âge de la jachère et pourquoi cette baisse n'est pas significative. Le pH_{eau} a eu tendance à baisser avec l'âge de la jachère, comme si le sol s'acidifiait au fil des années de jachères. Ce résultat laisse présager que de longues années de jachère seraient capables *in fine* de conduire à une acidification progressive du sol.

I.3.3. Relations entre les propriétés chimiques et les activités enzymatiques du sol

Les résultats ont montré des corrélations significatives et positives entre le groupe d'activités enzymatiques composés de la Pac, Pal, β -Glu, Nac et celle l'activité DH. Cette corrélation observée entre ce groupe d'activités enzymatiques et la DH pourrait trouver une explication

dans l'origine de ces enzymes et le rôle de la DH. En effet, la DH est une activité enzymatique intracellulaire répandue chez de nombreux microorganismes. Celle-ci est considérée comme un indicateur de la biomasse microbienne viable dans les sols (Liu *et al.*, 2008 ; Wolińska et Stepniewska, 2012). Par exemple, Salazar *et al.* (2011) ont indiqué que les activités DH sont utilisées comme indicateur de l'activité globale microbienne du sol.

Dans cette étude, la forte corrélation entre l'activité de la DH et le C. org traduit effectivement que la DH est l'expression de l'activité de la fraction microbienne du C. org mesurée dans la zone de l'étude. Les corrélations observées entre la DH et les autres activités suggèrent donc que ces enzymes détectés dans les sols de la zone de savanes humides de la Côte d'Ivoire, sont principalement d'origine microbienne. En outre, le fait que les activités β -Glu et Nac ont été significativement et positivement corrélée entre elles suggère que ces deux activités ont une origine et une persistance similaires dans le sol, ce qui est en accord avec des rapports antérieurs (Bandick et Dick 1999 ; Acosta-Martínez *et al.*, 2007). En effet, cette corrélation observée entre ces deux activités glycosidasiques du sol pourrait s'expliquer par l'action synergique de ces deux enzymes, car celles-ci interagissent dans le processus de décomposition de la matière organique et libèrent des molécules (tel que le glucose), source d'énergie pour les microorganismes du sol (Deng et Tabatabai, 1996).

Les résultats ont également montré une corrélation importante entre les activités Pac, Pal, DH et la teneur en C. org. En effet, le C.org de la zone d'étude pourrait contenir des glucides riches en sucres phosphorylés qui sont des substrats spécifiques des phosphatases. Une étude récente sur les sols forestiers tempérés en Allemagne a aussi démontré que les microorganismes du sol utilisaient la fraction organique des composés phosphorylés comme source de carbone, tout en minéralisant le P sans pour autant en faire usage (Spohn et Kugyakov, 2013). Par ailleurs, la corrélation entre ces enzymes et C. org pourrait s'expliquer par la disponibilité du substrat, c'est-à-dire la matière organique qui induit la synthèse de ces enzymes par les microorganismes du sol. Zhang *et al.* (2010) ont aussi rapporté que les déshydrogénases jouent un rôle important dans l'oxydation biologique de la matière organique du sol grâce à leur capacité à transférer l'hydrogène des substrats organiques aux accepteurs inorganiques. En outre, plusieurs résultats ont également révélé que l'activité de la phosphatase alcaline était corrélée avec la matière organique du sol (Guan, 1989 ; Jordan et Kremer, 1994 ; Aon et Colaneri, 2001).

Une corrélation significative a été observée entre les glycosidases (β -Glu et Nac) et le Mg d'une part, et entre la DH et Mg d'autre part. Ce résultat suggère que les ions Mg^{2+} présents dans la solution du sol augmenteraient l'activité de ces enzymes. En effet, le rôle activateur du Mg^{2+} chez les glycosidases (Cristóbal *et al.*, 2016) et les oxydoréductases (Cowan, 2002 ; Green *et al.*, 1983) a souvent été rapporté. Prises ensemble, toutes ces observations indiquent que l'activité des enzymes étudiées serait gouvernée à la fois par le pool de la matière organique et la teneur en Mg^{2+} du sol. Or, ces deux paramètres chimiques varient dans le sens contraire en fonction de la durée de mise en jachère. Cela explique le fait que les activités enzymatiques n'aient pas été influencées par la durée de mise en jachère.

I.4. Conclusion partielle

L'objectif de ce chapitre était d'étudier l'impact de la jachère à base de *Chromolaena odorata* sur les propriétés chimiques et les activités enzymatiques du sol en fonction de la durée de la mise en jachère et de la profondeur du sol, dans la zone de savanes humides de la Côte d'Ivoire. Les résultats n'ont pas permis de conclure à un effet de l'âge des jachères sur les paramètres considérés, à l'exception de l' N_{tot} et du K du sol qui étaient élevés dans les vieilles jachères. Le C. org a diminué en fonction de la durée de la jachère tandis que le Mg a suivi une tendance inverse.

En outre, le C. org, le K, le Mg et les activités enzymatiques du sol ont diminué avec la profondeur du sol, indiquant un faible taux d'accumulation des éléments nutritifs en profondeur. Sur la base des paramètres mesurés, l'analyse en composante principale a permis de discriminer les parcelles de jachère seulement dans la première couche de sol (0-10 cm), en mettant en évidence une trajectoire des propriétés du sol en fonction de l'âge des jachères. Ainsi, la fertilité des sols des jachères de *Chromolaena odorata* de la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire dépendrait principalement de la composition de la couche de sol de 0-10 cm, car l'accumulation des éléments nutritifs dans les couches inférieures du sol ne semble pas être efficace. Cela pourrait poser un problème, par exemple pour la culture de l'igname (aliment principale dans cette région) qui nécessiterait une amélioration de la qualité du sol, même dans les couches plus profondes du sol. L'hypothèse des feux de brousse

justifierait ces résultats. Ainsi, l'accumulation de matière organique et le processus de fertilisation seraient perturbés par l'apparition de feux de brousse.

Pour mieux apprécier le type de pratique appropriée à cette zone d'étude dont la fertilité des sols dépend principalement de la strate 0-10 cm, l'impact de six pratiques agricoles dites traditionnelles (le brûlis), conventionnelles (la fertilisation avec engrais chimique) et innovantes (le paillage avec insertion ou non de légumineuses alimentaires) sur la fertilité des sols a été évalué. Dans un premier temps, cet impact a été étudié sur les microorganismes du sol impliqués dans le cycle de l'azote notamment les nitrifiants et les dénitrifiants, dans un deuxième temps à travers ces différents systèmes de culture sur les paramètres chimiques et enzymatiques des sols.

CHAPITRE II : EFFET DES PRATIQUES AGRICOLES SUR LES NITRIFIANTS DU SOL ET LEUR RÔLE SUR L'EFFICACITÉ DE LA FERTILISATION CHIMIQUE

II.1. Introduction partielle

Cette partie du travail avait pour but de comparer et de comprendre les effets de six pratiques agricoles sur les nitrifiants du sol (couche superficielle, 0-10 cm) en zone de savanes humides. Les six pratiques étudiées étaient : (1) brûlis avec culture continue du maïs; (2) fertilisation chimique avec culture continue du maïs; (3) mulching avec culture continue du maïs; (4) mulching avec la rotation maïs-soja vert; (5) mulching avec la rotation du maïs-niébé; et (6) sol nu avec culture continue du maïs (témoin). Ces pratiques ont été appliquées 2,5 ans avec 2 cycles de culture par an (soit 5 cycles). La réponse des quatre principaux groupes de nitrifiants du sol (*AOB*, *AOA*, *Nitrobacter* et *Nitrospira*) a été observée en termes d'activité (nitrification), d'abondance, et de diversité. Les variables édaphiques clés associées (humidité, ammonium, nitrate, pH_{eau}) ont également été mesurées.

Trois hypothèses ont été émises :

- (1)) les communautés nitrifiantes dans les sols de la zone de savanes humides résultent d'une adaptation à des niveaux de N très faibles, de sorte que la fertilisation pourrait influencer négativement la nitrification dans ces sols.
- (2) la stimulation de la nitrification par fertilisation chimique nécessite d'abord des changements profonds dans la communauté nitrifiante, c'est-à-dire le remplacement des nitrifiants dominants adaptés à des niveaux de N très faibles par des nitrifiants adaptés à des niveaux de N plus élevés. L'hypothèse de travail est celle selon laquelle, le temps requis pour observer ces changements dans la communauté nitrifiante après la fertilisation ou l'utilisation de légumineuses peut être si important qu'il aurait des implications agronomiques (c'est-à-dire que ce délai correspondrait à un ou plusieurs cycles de culture).
- (3) la technique de mulching avec insertion de légumineuses dans les rotations culturales pourrait permettre une augmentation plus progressive de la disponibilité d'azote dans le sol, ce qui serait favorable à l'adaptation des nitrifiants à de plus fortes teneurs en N et *in fine* à la nutrition azotée des plantes.

II.2. Résultats

II.2.1. Effet des pratiques agricoles sur les variables édaphiques du sol après différents cycles de cultures

II.2.1.1. Humidité du sol

L'humidité du sol dans sa couche superficielle (0-10 cm) était la plus élevée (13-14 %) après 4 cycles de culture (juin 2015 ; Figure 10), intermédiaire (7-8 %) après 3 cycles de culture (décembre 2014 ; Figure 10) et plus faible (4-5 %) après 5 cycles de culture (décembre 2015 ; Figures 10 et 21). À chacune des dates d'échantillonnage, l'humidité du sol n'a pas été influencée de façon significative par les traitements ($p = 0,99, 0,94$ et $0,33$ respectivement après 3, 4 et 5 cycles de culture). Les pratiques agricoles n'ont donc pas eu d'effet sur l'humidité du sol.

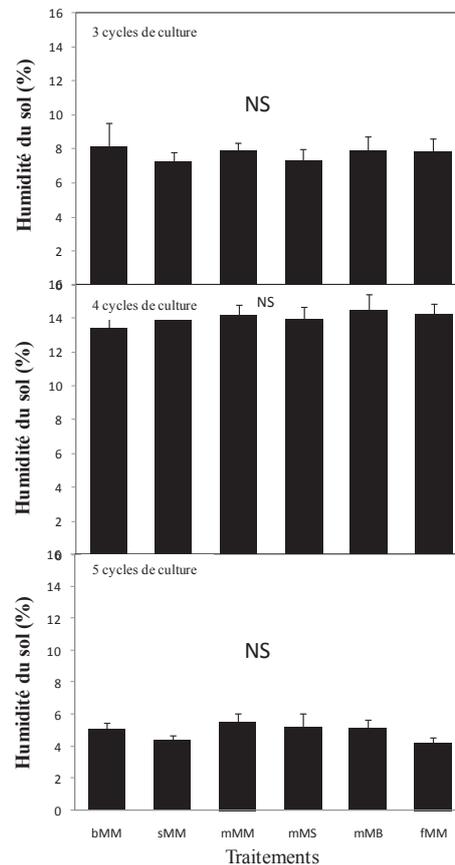


Figure 21. Teneur en eau gravimétrique du sol en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture. Les barres d'erreur sont des erreurs standard ($n = 9$). NS (non-significatif) signifie qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements. Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

II.2.1.2. pH_{eau} du sol

Le traitement statistique appliqué à chaque date révèle que le pH_{eau} du sol (0-10 cm) n'a pas été influencé de façon significative par les traitements ($p = 0,97, 0,94$ et $0,52$ respectivement après 3, 4 et 5 cycles de culture). Les valeurs de pH_{eau} (tous traitements confondus) étaient comprises entre 6,5 et 6,7 (Figure 22). Les pratiques agricoles n'ont pas eu d'effets sur le pH_{eau} du sol.

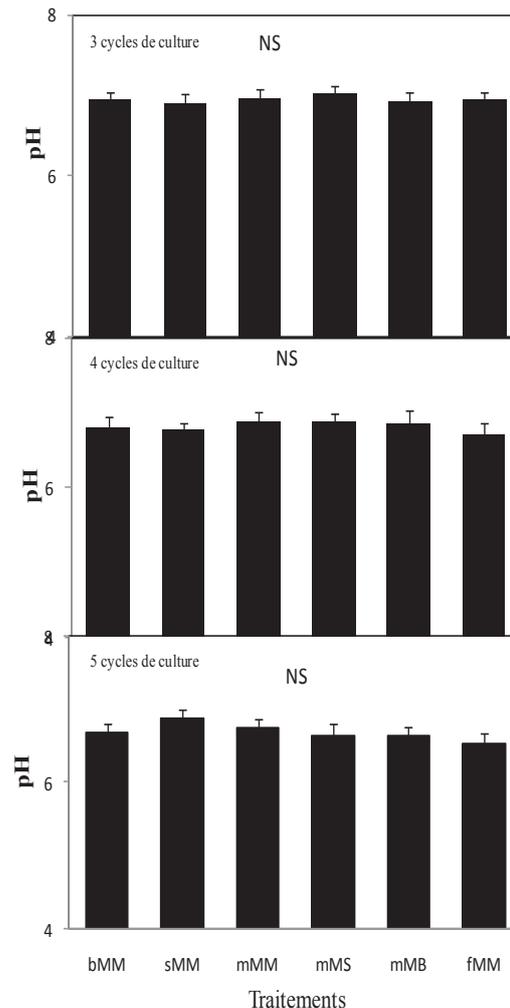


Figure 22. pH_{eau} du sol en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture. Les barres d'erreur sont des erreurs standard ($n = 9$). NS (non-significatif) signifie qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements. Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

II.2.1.3. Ammonium et nitrate du sol

Pour chacune des trois dates d'échantillonnage, aucun effet significatif des traitements n'a été observé sur la concentration en ammonium dans la couche superficielle du sol (p toujours $> 0,43$; Figure 23). La concentration en ammonium a été inférieure à $0,8$ et $0,4$ $\mu\text{g N-NH}_4^+\text{g}^{-1}$ sol sec respectivement aux première et seconde dates. À la dernière date d'échantillonnage (après 5 cycles de culture), la concentration d'ammonium a été plus élevée (de $1,5$ à $3,0$ $\mu\text{g N-NH}_4^+\text{g}^{-1}$ sol sec) qu'aux deux premières dates (après 3 et 4 cycles de culture), et elle tendait à être la plus élevée dans les sous-parcelles fertilisées et la plus faible dans les sous-parcelles témoins. Cependant, cette tendance n'était pas statistiquement significative ($p_{3\text{ème cycle de culture}}=0,91$ et $p_{4\text{ème cycle de culture}}=0,70$; Figure 23). Après 5 cycles de culture, la concentration en NO_3^- du sol n'a pas varié entre les différents systèmes de culture ($p = 0,80$) (Figure 24) avec une valeur moyenne de $1,68 \pm 0,24$ $\mu\text{g N-NO}_3^-\text{g}^{-1}$ sol sec. Pour une date donnée, les pratiques agricoles n'ont pas eu d'effets sur les concentrations en ammonium et en nitrate dans le sol. Seules les teneurs en ammonium ont varié entre les cycles de culture.

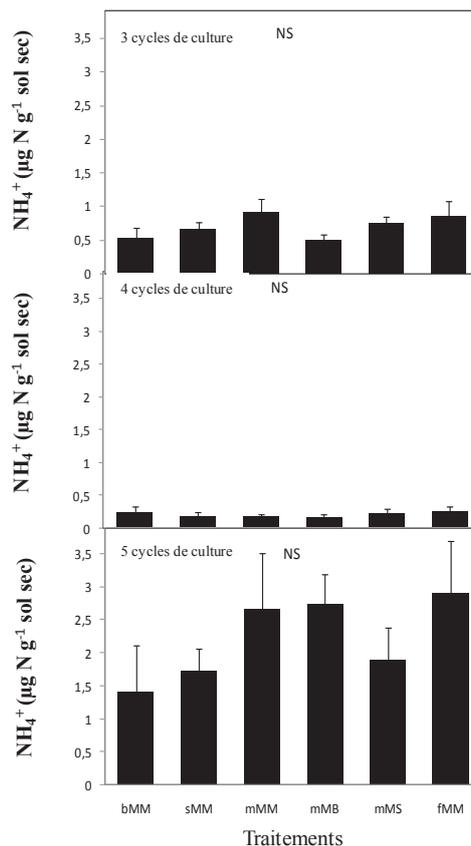


Figure 23. Concentration en ammonium en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture. Les barres d'erreur sont des erreurs standard ($n = 9$). NS indique l'absence de différence significative entre traitements pour une date. Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

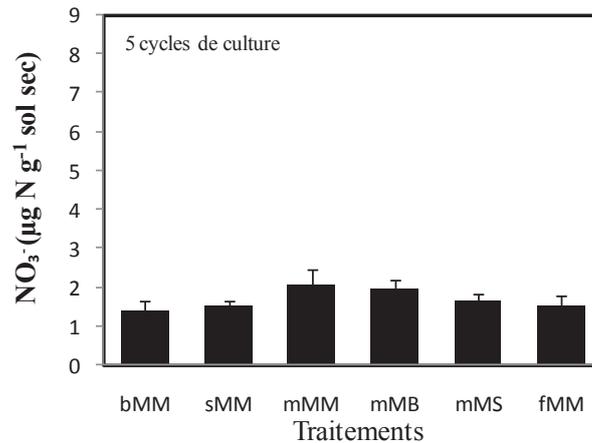


Figure 24. Concentration en nitrate du sol en fonction des traitements après 5 cycles de culture. Les barres d'erreur sont des erreurs standard ($n = 9$). NS signifie qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements pour une date. Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

II.2.2. Effets des pratiques agricoles sur l'activité nitrifiante potentielle du sol

II.2.2.1. Activité nitrifiante potentielle

L'activité nitrifiante a varié généralement de 0,12 à 0,31 μg de N g^{-1} de sol h^{-1} . Elle n'a toutefois pas été influencée de façon significative par les traitements quelle que soit la date d'échantillonnage ($p = 0,27, 0,09$ et $0,71$ respectivement après 3, 4 et 5 cycles de culture) (Figure 25). En particulier, l'activité nitrifiante était similaire dans toutes les sous-parcelles, même après 5 cycles de culture, soit 2,5 ans après la mise en place des différents itinéraires agricoles. Les pratiques agricoles n'ont pas eu d'effets sur l'activité nitrifiante potentielle.

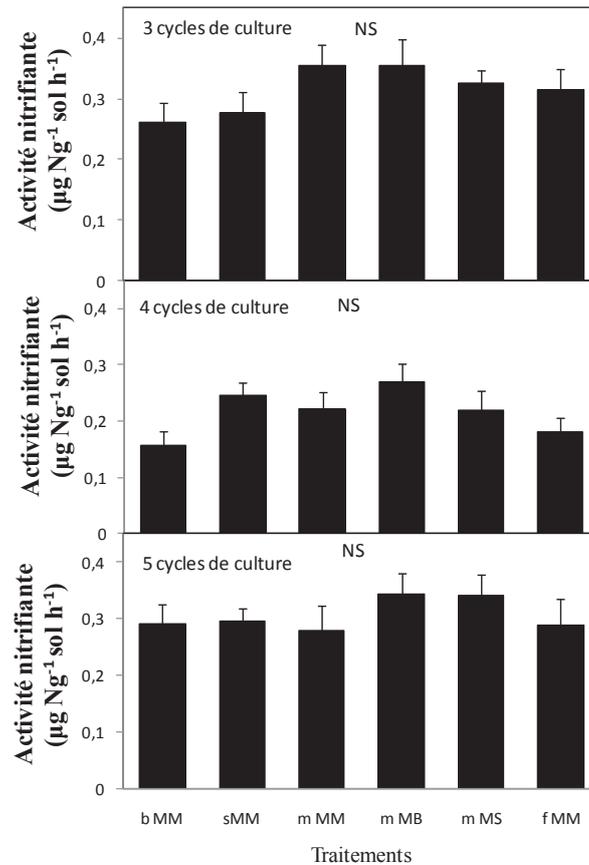


Figure 25. Activité nitrifiante potentielle en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture. Les barres d'erreur sont des erreurs standard ($n = 9$). NS signifie pas de différence significative entre les traitements ($p > 0,05$). Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

II.2.2.2. Comparaison des effets de la fertilisation sur la nitrification avec des études sur d'autres agroécosystèmes

Les résultats de ces travaux ont montré une absence de stimulation de la nitrification après fertilisation. Autrement dit la fertilisation n'a eu aucun effet après 2,5 ans, malgré les apports de 25 g-N m^{-2} par saison de croissance. Ce résultat est plutôt inhabituelle (Figure 26) en comparaison à la revue de littérature menée (rapportée dans la partie A-synthèse bibliographique) sur les effets des engrais sur la nitrification dans les cultures et dans les prairies (Tableau 2). En effet, la nitrification a tendance à être fortement stimulée par la fertilisation azotée dans la plupart des prairies et dans les systèmes de culture. Les niveaux de stimulation signalés varient de + 45 % à + 182 % pour des apports d'engrais variant de 5 à 7

g-N m⁻² par saison de croissance; et de + 72 % à + 220 % pour des apports d'engrais de 10 à 30 g-N m⁻² par saison de croissance, à l'exception d'une des deux valeurs rapportées par Philipps *et al.* (2000) (Figure 27).

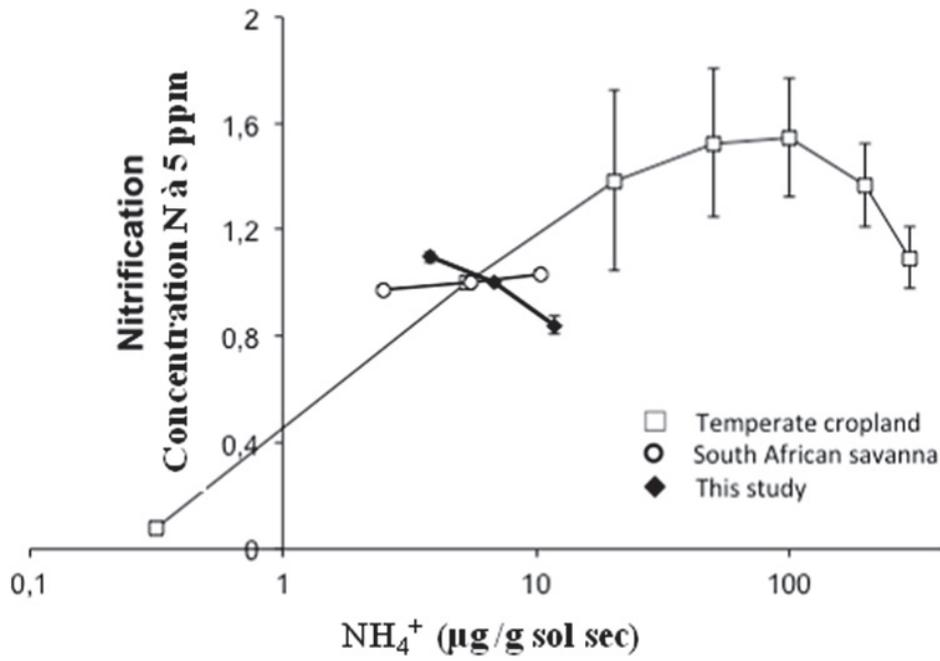


Figure 26. Comparaison des réponses de la nitrification à la concentration en ammonium du sol entre un sol tempéré cultivé et fertilisé, un sol de savane sud-africain, et le sol étudié. Pour chaque sol, le taux de nitrification est exprimé par rapport au taux observé pour 5 ppm d'ammonium (une extrapolation linéaire entre 2 et 10 ppm a été utilisée pour le sol étudié). Les barres d'erreur sont des erreurs standard (elles sont masquées par le symbole pour la savane Sud-africaine).

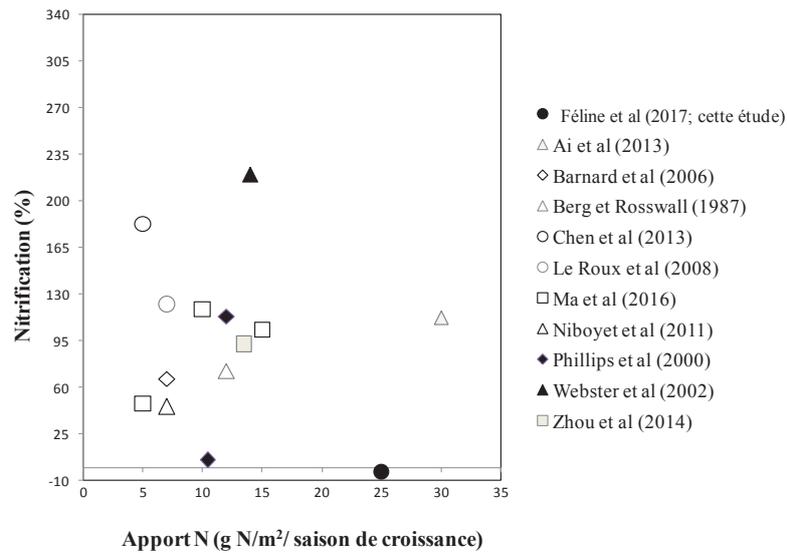


Figure 27. Comparaison des effets de la fertilisation azotée sur la nitrification rapportés pour différentes terres cultivées et prairies, y compris les agroécosystèmes étudiés. Pour chaque étude, l'effet de la fertilisation est exprimé comme la variation en pourcentage par rapport à la nitrification dans des sous-parcelles témoins non fertilisées, c'est-à-dire : $100 * ((\text{Nitrif fertilisé} - \text{Nitrif non fertilisé}) / \text{Nitrif non fertilisé})$. Chaque symbole correspond à une étude publiée.

II.2.3. Effet des pratiques agricoles sur l'abondance des communautés nitrifiantes du sol

II.2.3.1. Abondance des archées et bactéries oxydatrices de l'ammonium

Dans les sols étudiés, l'abondance des archées oxydatrices de l'ammonium (AOA) a été supérieure à celle des bactéries oxydatrices de l'ammonium (AOB) (environ 100 fois plus d'AOA que d'AOB). L'abondance des AOA a toujours été autour de 10^8 copies du gène *amoA* AOA g^{-1} de sol sec, et n'a pas été influencée de façon significative par les différentes pratiques agricoles quelle que soit la date d'échantillonnage ($p > 0,05$; Figure 28a). En outre, l'abondance des AOB était beaucoup plus faible (environ 10^6 copies du gène *amoA* AOB g^{-1} de sol sec) et tendait à être plus élevée dans les sous-parcelles fertilisées ce qui était non significatif ($p = 0,078$) à la dernière date d'échantillonnage (Figure 28b).

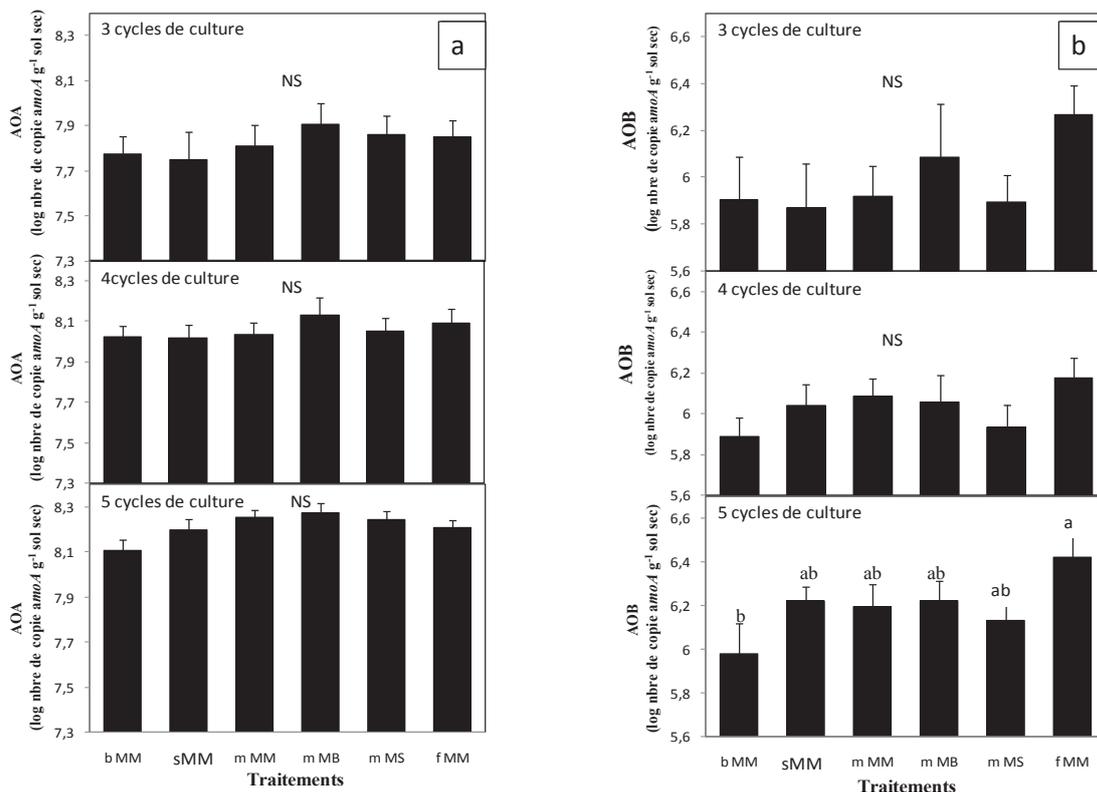


Figure 28. (a) Abondance des archées oxydant l'ammonium (AOA) et (b) des bactéries oxydant l'ammonium (AOB) en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture. NS indique qu'il n'y a pas de différence significative entre traitements pour une même date ($p > 0,05$) ; l'effet du traitement est non significatif ($p = 0,078$) pour les AOB après 5 cycles de culture. Six traitements ont été étudiés : bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu ; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch ; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

II.2.3.2. Abondance des bactéries oxydatrices du nitrite

Parmi les bactéries oxydatrices du nitrite, l'abondance des *Nitrospira* a été 300 à 1000 fois plus élevée que celle des *Nitrobacter*. Par ailleurs, l'abondance des *Nitrospira* a toujours été autour de $2 \cdot 10^7$ copies de 16S g^{-1} de sol sec et n'a pas été influencée par les différentes pratiques agricoles après 3, 4 et 5 cycles de culture ($p > 0,05$; Figure 29a). L'abondance des *Nitrobacter* a été d'environ $5 \cdot 10^4$ copies de *nxrA* g^{-1} de sol sec. L'abondance des *Nitrobacter* la plus élevée a été enregistrée dans les sous-parcelles fertilisées et la plus faible dans les sous-parcelles de sol nu à toutes les dates, cette tendance étant statistiquement significative ($p = 0,028$) à la dernière date d'échantillonnage (Figure 29b).

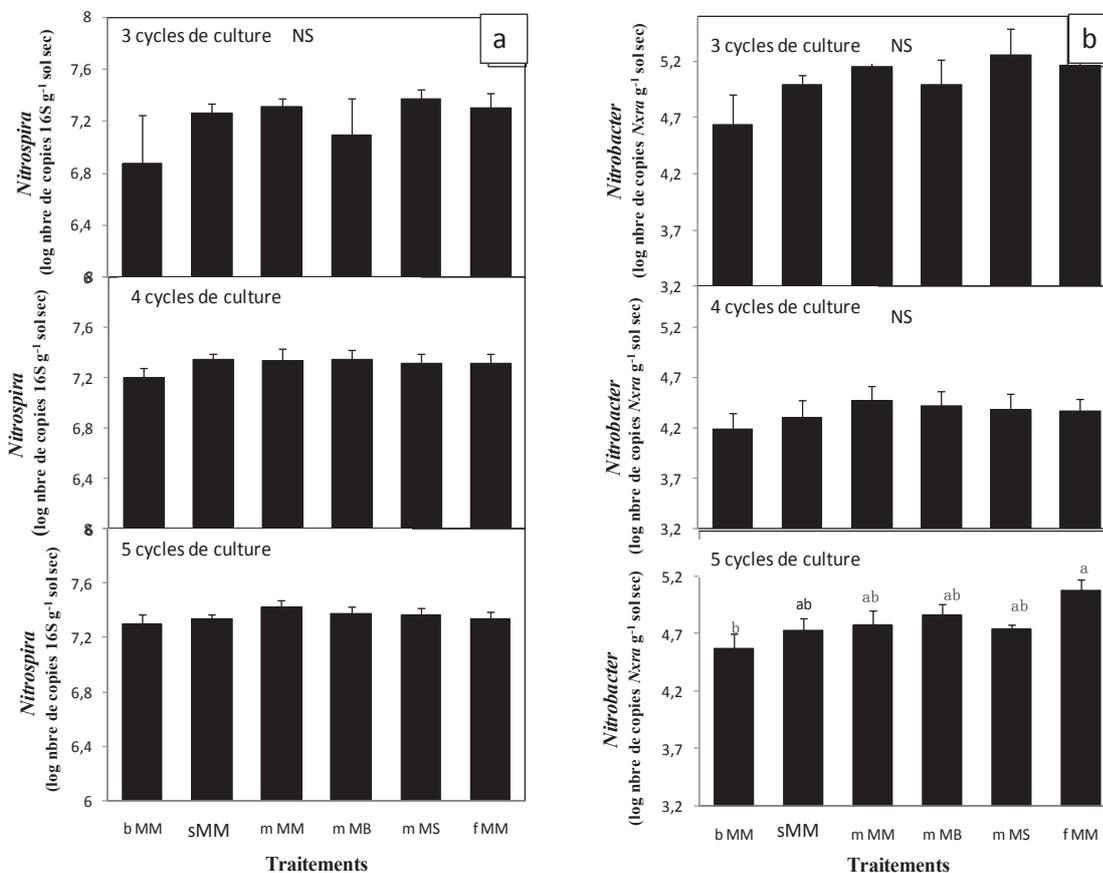


Figure 29. (a) Abondance des bactéries oxydatrices du nitrite du genre *Nitrobacter* et (b) *Nitrospira* en fonction des traitements après 3, 4 et 5 cycles de culture. Les barres d'erreur sont des erreurs-types ($n = 9$). Les diagrammes portant la même lettre ne sont pas statistiquement différents ($p > 0,05$); NS indique l'absence de différence significative entre traitements pour une même date ($p > 0,05$). Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

II.2.3.3. Relations entre les abondances des différents groupes microbiens oxydant l'ammonium et le nitrite

Les corrélations entre les abondances des différents groupes de nitrifiants ont changé avec le temps (Figure 30). En effet, aucune corrélation significative n'a été observée entre les abondances de *Nitrobacter* et AOB après 3 et 4 cycles de culture (Figure 30a ; Figure 30d), mais la corrélation est devenue significative et très forte après 5 cycles (Figure 30g).

De même, aucune corrélation significative n'a été observée entre les abondances de *Nitrospira* et AOA après 3 et 4 cycles de culture (Figure 30c ; Figure 30f), mais la corrélation est devenue significative après 5 cycles (Figure 30i). En revanche, une forte corrélation a été observée entre les abondances de *Nitrobacter* et de *Nitrospira* après 3 cycles de culture, mais cette corrélation est devenue plus faible après 4 cycles et n'était plus significative après 5 cycles (Figure 29).

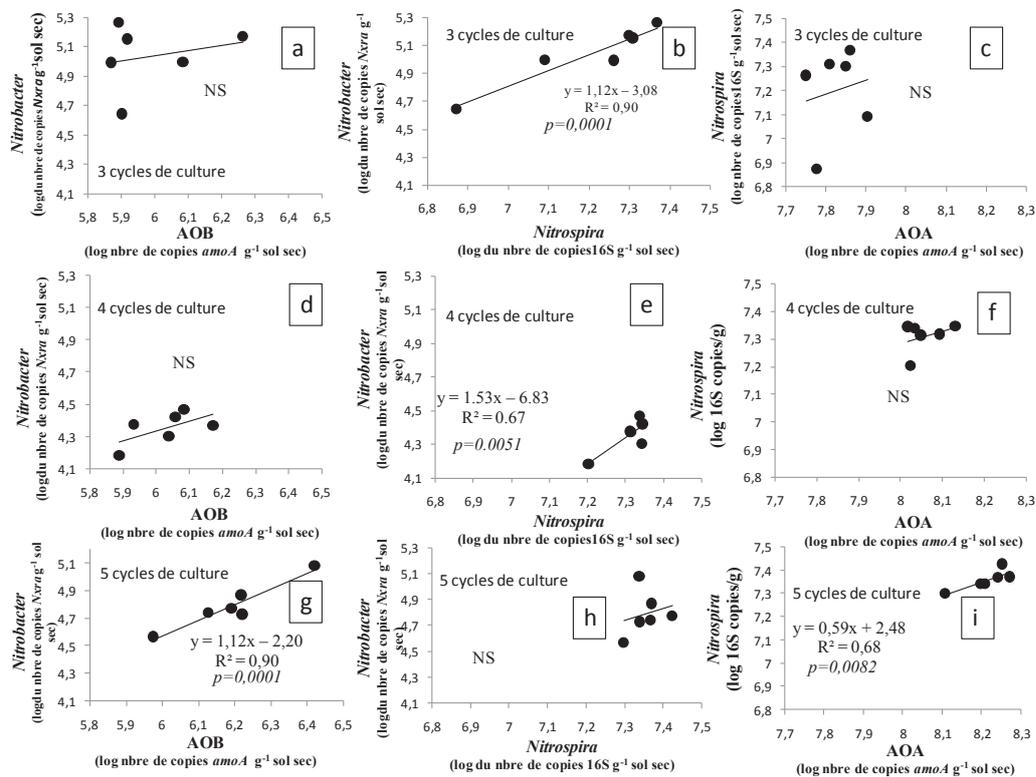


Figure 30. Corrélations entre les abondances des différents groupes nitrifiants. Les corrélations sont présentées entre les *Nitrobacter* et les bactéries oxydatrices de l'ammonium AOB, en (a) (d) et (g) ; les *Nitrobacter* et les *Nitrospira* en (b) (e) (h) ; et entre les *Nitrospira* et les Archées oxydatrices de l'ammonium, AOA en (c) (f) (i). Chaque point correspond à la moyenne pour un traitement (n = 9). Pour les corrélations significatives, les valeurs R^2 et p sont indiquées. NS indique l'absence de corrélation significative.

II.2.4. Diversité et phylogénie des bactéries nitrifiantes (AOB) du sol

L'arbre phylogénétique obtenu pour les séquences *amoA* d'AOB des sols étudiés est présenté à la Figure 31. L'abondance relative des séquences *amoA* de 17 clusters (cluster C1 ; cluster C3 ; cluster C4 ; cluster C6 ; cluster C7 ; cluster C10 ; cluster C11 ; cluster C12abc ; cluster C14 ; cluster C17 ; cluster C18 ; cluster C21 ; cluster C22a ; cluster C30 ; cluster C33 ; cluster C35 ; cluster C36) a augmenté en réponse à la fertilisation (ces clusters apparaissent en noir dans l'arbre présenté à la Figure 31). Ces séquences ont représenté plus de 17 % des AOB dans les sous-parcelles fertilisées, et seulement 5,8 % et 6,7 % respectivement dans les sols nus (témoins) et les sols soumis au brûlis. Les séquences *amoA* de trois de ces 17 groupes promus par la fertilisation sont affiliées à des AOB connues (Figure 31): les séquences d'un cluster sont affiliées à celles de *Nitrosospira multiformis* ; pour un second cluster, les séquences sont affiliées à celles de *Nitrosospira briensis* ; et les séquences d'un troisième cluster correspondaient à celles d'une *Nitrosospira sp.* précédemment identifié par He *et al.* (2007) dans un ferrosol agri-udic sous un climat subtropical en Chine.

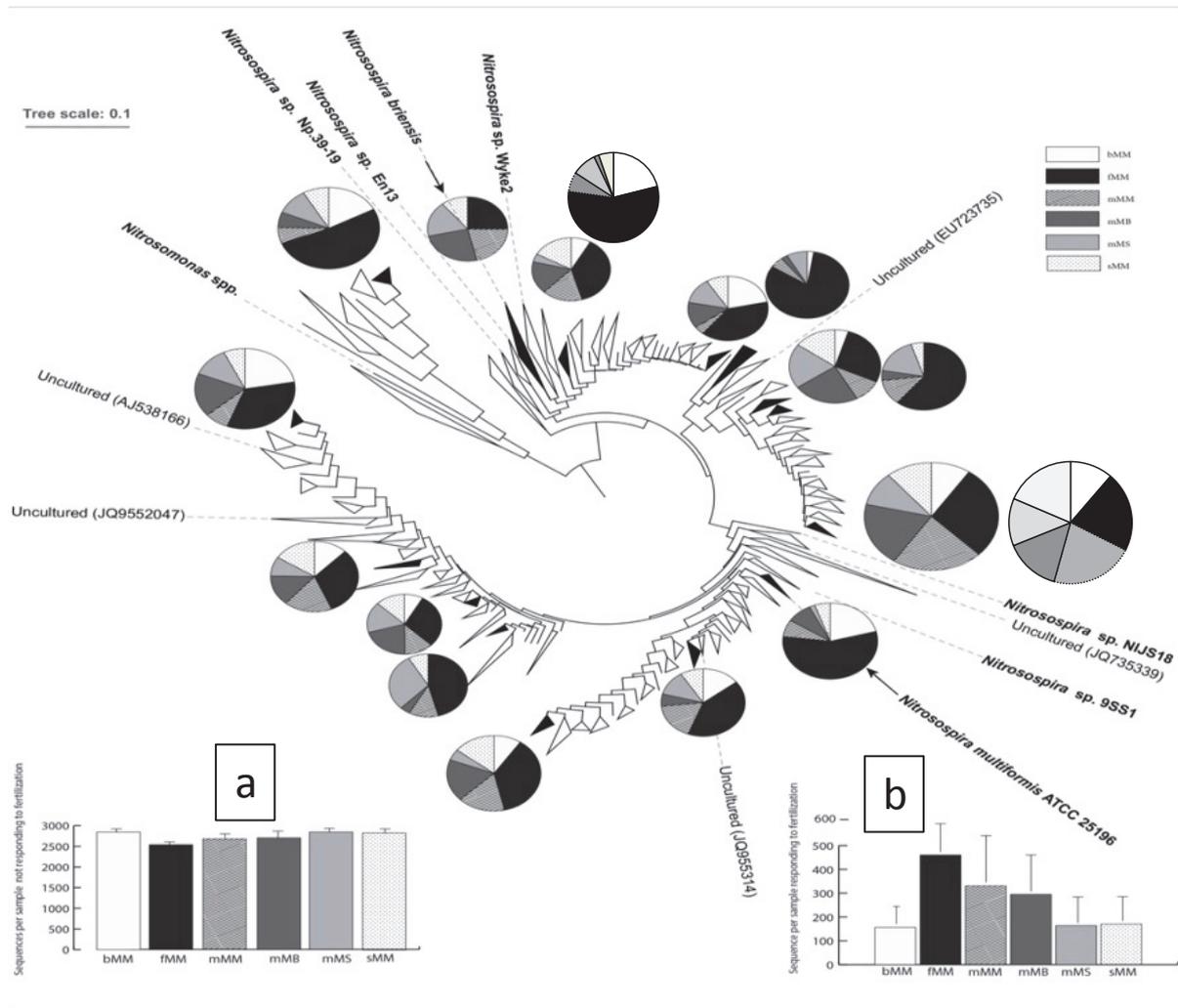


Figure 31. Relations phylogénétiques entre les séquences *amoA* d'AOB issues des sols sous les six traitements après 5 cycles de culture. Les triangles noirs et blancs correspondent respectivement à des clusters de séquences dont l'abondance relative a augmenté et n'a pas changé ou a diminué en réponse à la fertilisation. Les disques indiquent la distribution des séquences *amoA* entre les six traitements pour chaque triangle noir (la taille du disque correspond à l'abondance totale de ces séquences, suivant à une échelle logarithmique). Les noms indiquent l'emplacement des séquences *amoA* des souches cultivées et des séquences de référence. Les encarts présentent le nombre total de séquences appartenant aux grappes blanches (a) et aux grappes noires (b) par traitement.

II.2.5. Sensibilité de la nitrification à différents niveaux d'ammonium et lien avec la composition des communautés nitrifiantes du sol

Le pourcentage de changement de la nitrification mesurée à un niveau moyen d'ammonium comparée à la nitrification mesurée au faible niveau d'ammonium (c'est-à-dire $100 * (\text{Nitrif}_{10} - \text{Nitrif}_2) / \text{Nitrif}_2$) a été significativement ($p = 0,05$) influencé par les traitements à la dernière

date d'échantillonnage (mesure effectuée que pour cette dernière date) (Figure 32). Ce niveau a varié de + 3 % pour les sous-parcelles fertilisées (la nitrification étant semblable avec 2 ou 10 ppm d'ammonium), à -9,3 % et -17,8 % respectivement pour les sous-parcelles avec mulch de maïs-maïs et maïs-niébé, à -22,6 %, -25,5 % et -26,8 % pour les sous-parcelles nu (bMM), de brûlis (sMM) et avec soja vert (mMS) où la nitrification mesurée avec 10 ppm d'ammonium était nettement plus faible que celle obtenue avec 2 ppm d'ammonium (Figure 32). Le pourcentage de changement de nitrification à 10 ppm par rapport à 2 ppm a été significativement ($p = 0,044$) corrélé au rapport AOB / AOA. En effet, plus le rapport AOB / AOA a été élevé, meilleure a été la nitrification à des niveaux moyen d'ammonium comparé au faible niveau d'ammonium (Figure 32a). Une corrélation significative ($p = 0,018$) a également été observée entre le pourcentage de changement de nitrification et le rapport *Nitrobacter* / *Nitrospira* (Figure 32b). En outre, le pourcentage de changement de nitrification mesuré pour 10 ppm par rapport à 2 ppm d'ammonium a été fortement corrélé à la somme des abondances relatives de tous les clusters d'AOB favorisés par la fertilisation chimique (Figure 32c).

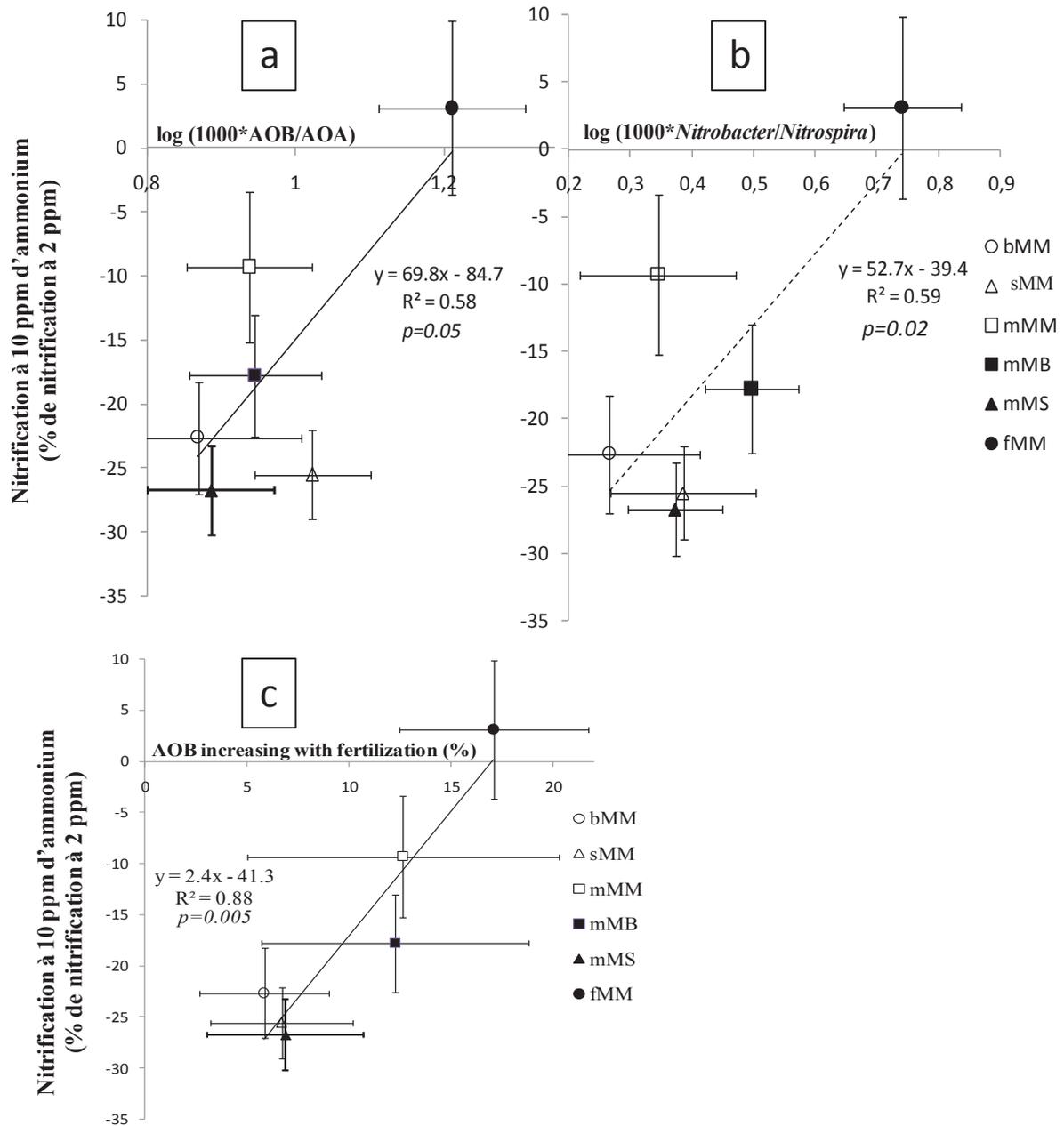


Figure 32. Changement de la nitrification mesurée à un niveau moyen par rapport à un niveau bas d'ammonium, en fonction de la composition des communautés nitrifiantes. Chaque axe Y correspond au pourcentage de changement de nitrification mesuré à 10 ppm par rapport à 2 ppm d'ammonium ; ces valeurs sont reliées (a) au rapport entre les abondances de bactéries oxydant l'ammonium et les abondances des archées oxydant l'ammonium, AOB/AOA ; (b) au rapport *Nitrobacter/Nitrospira* ; et (c) l'abondance relative des populations d'AOB favorisées par la fertilisation (clusters indiqués en noir dans la Figure 31).

II.2.6. Capacités d'absorption de l'Azote minéral de la variété de maïs

Le taux d'absorption de N par le maïs a été supérieur lorsque les mesures ont été faites avec une concentration totale en azote total minéral dans la solution de 17 ppm par rapport à 6 ppm (Figure 33). A 6 ppm, les taux d'absorption de NO_3^- et de NH_4^+ étaient respectivement de 35 et 4 $\mu\text{g-N h}^{-1} \text{g}^{-1}$ de racine, alors qu'à 17 ppm ces taux étaient respectivement de 57 et 9 $\mu\text{g-N h}^{-1} \text{g}^{-1}$ de racine (Figure 33). Le rapport entre les taux d'absorption de nitrate / d'ammonium était respectivement de 8,7 et 6,1 pour la faible concentration et la concentration moyenne en N dans la solution.

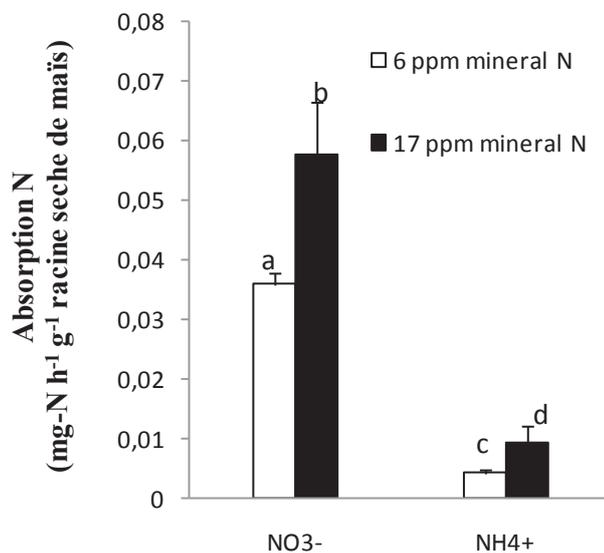


Figure 33. Taux d'absorption de l'azote par les racines de maïs pour 2 concentrations en N minéral total de la solution où baignent les racines. Les mesures ont été effectuées sur des plantes de 5 semaines cultivées en serre. Les barres d'erreur sont des erreurs standard (n = 5). Les diagrammes portant la même lettre ne sont pas statistiquement différents ($p > 0,05$).

II.2.7. Concentration en Azote (N) dans les feuilles, les tiges et les racines des plantes cultivées

Les concentrations en N de la tige et de la racine ont varié entre les traitements respectivement de 0,67 à 1,3 % et de 0,95 à 1,4 %, sans effet significatif des traitements ($p = 0,30$ et $p = 0,57$ respectivement pour les tiges et racines) (Figure 34a). Cependant, la concentration en N des feuilles a été significativement plus élevée ($p < 0,018$) pour le niébé

(traitement mMB) que celle du maïs provenant du sol nu (bMM) et du brûlis (sMM) avec des valeurs allant de 1,3 à 2,6 %. En outre, un 6^{ème} cycle de culture comportant uniquement du maïs a été réalisé sur toutes les sous-parcelles. L'analyse de la concentration en N des différents compartiments (feuilles, tiges racines) de plants de maïs issus de cette 6^{ème} culture n'a pas varié significativement entre tous les traitements (bMM, fMM, mMB, mMS, mMM, et sMM) même pour les feuilles contrairement à ce qui avait été observé précédemment c'est-à-dire au 5^{ème} cycle (Figure 34b).

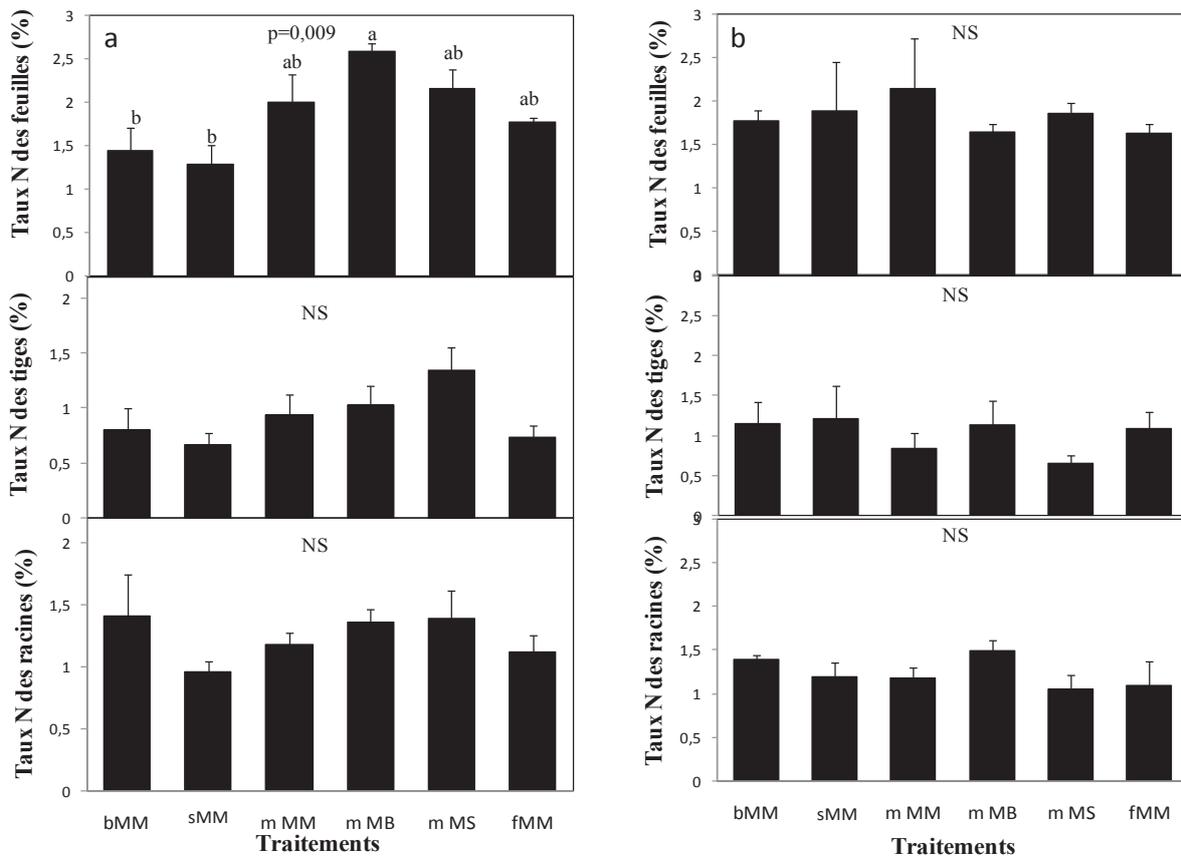


Figure 34. Concentration totale en azote des feuilles (haut), tiges (milieu) et racines (en bas) en fonction du traitement au 5^{ème} cycle (a) et pour un 6^{ème} cycle (b) de culture. Les barres d'erreur sont des erreurs standard (n = 3). Les diagrammes portant la même lettre ne sont pas statistiquement différents ($p > 0,05$); NS indique l'absence de différence significative.

II.3. Discussion

II.3.1. Réponse des nitrifiants des sols de la zone d'étude aux pratiques agricoles

La plupart des sols des savanes humides d'Afrique de l'Ouest sont caractérisés par un faible niveau de fertilité (Oorts *et al.*, 2003). Les résultats de la présente étude appuient ceux de Delmas (1967) et Gilot-Villeneuve (1994) qui ont observé que ces mêmes sols (même région) étaient pauvres en matières organiques, en phosphore et en cations basiques, avec des niveaux d'azote et de phosphore faibles. Selon ces auteurs, dans ces sols, les argiles sont constituées d'illite et de kaolinite et sont représentées en faible proportion. Cette composition leur procure une faible capacité d'adsorption (Delmas, 1967; Bonvallot, 1968; Riou, 1974).

La faible teneur en argiles et en matière organique de ces sols serait la cause de la faible stabilité structurale avec pour conséquence, la grande sensibilité de ces sols aux dégradations physiques (l'érosion) et chimiques (la perte de nutriments, l'acidification) (Delmas, 1967; Bonvallot, 1968). Par ailleurs, les résultats obtenus dans cette étude corroborent le point de vue selon lequel ces sols ont des niveaux d'ammonium particulièrement faibles (Riou, 1974). En effet, à l'exception des périodes sèches comme celle de la dernière date d'échantillonnage, la concentration en ammonium du sol dans les systèmes cultivés étudiés a été toujours inférieure à $0,8 \mu\text{gN g}^{-1}$ de sol sec. Ce résultat est cohérent avec le cycle particulier de l'azote qui caractérise les sols cette zone. En effet, ces savanes sont considérées comme des écosystèmes limités en éléments nutritifs, principalement en N qui induit une limitation de la production primaire (Leriche *et al.*, 2003). Cette limitation est essentiellement due à la texture sablonneuse du sol, avec des teneurs en limons (14 %) et en argiles (7 %) et une capacité d'échange en cation (environ 3 cmol kg^{-1}) très faibles, ce qui ne favorise pas la rétention des minéraux, de la matière organique et des nutriments (Abbadie et Lata, 2006).

De plus, les différentes perturbations fortes comme les feux annuels et le climat sub-équatorial avec des alternances de saisons sèches et pluvieuses favorisent les pertes de N par combustion de la biomasse et par lixiviation principalement sous forme organique ($0,5 \text{ g N m}^{-2} \text{ an}^{-1}$) (Abbadie *et al.*, 1996). Ces perturbations ont une conséquence directe sur l'azote du sol, puisqu'il n'a pas le temps d'être stabilisé en humus du fait d'une décomposition rapide dans ces régions, et les éléments nutritifs restent difficilement accessibles aux microorganismes. Enfin, la fixation biologique du N_2 est extrêmement faible, réduisant les apports de N dans ces écosystèmes (Abbadie *et al.*, 1996). Ces caractéristiques expliquent que

ces sols de savane comptent parmi les sols supportant un couvert végétal ayant les plus faibles niveaux d'ammonium de tous les écosystèmes terrestres étudiés (Abbadie *et al.*, 1996).

Bien que les concentrations d'ammonium dans le sol aient été les plus élevées dans les sous-parcelles fertilisées ou amendées (paillis), cette tendance n'a pas été significative. En effet, aux deux premières dates d'échantillonnage, les concentrations d'ammonium étaient inférieures à $0,8 \mu\text{gN g}^{-1}$ même dans les sous-parcelles fertilisées, malgré la forte quantité d'engrais azoté apportée au sol au début de chaque cycle de culture (0-7 jours) et après 40 à 45 jours après le semis. Ce résultat peut difficilement être expliqué par la volatilisation de l'azote dans le sol, car la volatilisation de l'ammonium se produit principalement sur les sols alcalins (Terman et Hunt, 1964; Terman, 1979); le pH_{eau} des sols étudiés se situant entre 6,5 à 6,8. Une explication plus plausible serait que les concentrations d'ammonium et d'urée aient augmenté après chaque apport d'engrais (au début du cycle de culture et 45 jours après le semis), mais une lixiviation relativement rapide du N serait intervenue en raison de la capacité d'échange de cations particulièrement faible de ces sols et des fortes précipitations caractéristiques de ce type de climat sub-équatorial.

Conséquemment au très faible niveau d'ammonium, la communauté nitrifiante de ces sols est dominée par des groupes connus pour être le plus souvent adaptés à de faibles niveaux d'azote. Par exemple, la communauté oxydatrice de l'ammonium est dominée par les archées oxydatrices de l'ammonium (AOA), environ 100 fois plus abondante que les bactéries oxydatrices de l'ammonium (AOB). Bien qu'il existe une diversité fonctionnelle au sein des AOB et des AOA (Prosser, 1989; Xie *et al.*, 2014), lors d'études écophysologiques des chercheurs ont souvent constaté que les AOB sont capables d'une plus grande production de nitrite que les AOA (de la Torre *et al.*, 2008). De même, les *Nitrospira* ont été 300 à 1000 fois plus abondante que les *Nitrobacter* dans ces sols. Ceci s'expliquerait probablement par la différence de niche entre ces deux groupes, principalement en ce qui concerne la disponibilité de l'azote (Le Roux *et al.*, 2016). En effet, *Nitrospira* et *Nitrobacter* ont respectivement de faibles et hautes constantes de demi-saturation pour leur activité d'oxydation du nitrite, et les *Nitrobacter* sont favorisés dans des conditions de forte disponibilité en azote (Schramm *et al.*, 2000; Blackburne *et al.*, 2007; Nowka *et al.*, 2015). Ce résultat est conforté par les études sur la dynamique des bactéries oxydatrices des nitrites (NOB) dans les sols (Attard *et al.*, 2010; Wertz *et al.*, 2012). La forte dominance de la communauté nitrifiante par les AOA et les *Nitrospira* est donc compatible avec les très faibles concentrations d'ammonium dans les sols

de savane étudiés ici, ce qui a également été rapporté pour des savanes d'Afrique du Sud (Rughöft *et al.*, 2016).

En outre, les résultats obtenus fournissent des preuves directes de l'adaptation des nitrifiants à de très faibles niveaux d'azote. En effet, il a été observé une réduction de -30 % de la nitrification mesurée à une concentration moyenne de 10 ppm de NH_4^+ par rapport à l'activité mesurée à un plus faible niveau d'ammonium (2 ppm) pour les sous-parcelles non fertilisées chimiquement. Cette forte diminution de l'activité de la communauté des nitrifiants du sol sur cette gamme basse de niveaux d'ammonium est particulière : elle diffère fortement de la réponse de la nitrification à une augmentation de la concentration en ammonium observée pour un sol cultivé tempéré et recevant des engrais chimiques (Figure 26). Dans ce dernier cas, la quantité de NH_4^+ optimale pour la nitrification est de 50-100 ppm, ce qui met en évidence l'adaptation des nitrifiants aux niveaux élevés de N dans ces sols tempérés fertilisés. Pour les sols de savane mésique de l'Afrique du Sud, la nitrification n'a que faiblement augmenté lorsque la concentration de NH_4^+ a augmenté de 2 à 10 ppm ; ceci suggère que les nitrifiants dans ce sol de savane ne sont pas adaptés à des niveaux d'ammonium aussi bas que les nitrifiants du sol du centre de la Côte d'Ivoire.

II.3.2. Réponse de la nitrification et de l'abondance des groupes nitrifiants aux pratiques agricoles

Après 5 cycles de culture, c'est-à-dire après 2,5 ans, la nitrification n'a pas été influencée par les systèmes de culture, y compris le mulching avec l'insertion de légumineuses (soja vert, niébé) dans la rotation culturale. Le manque de réponse de la nitrification aux pratiques agricoles est particulièrement frappant pour le traitement fMM qui impliquait l'addition de 25 g-N m^{-2} par cycle de culture (15 g-N m^{-2} d'ammonium et 10 g-N m^{-2} d'urée). Ce résultat n'est pas cohérent avec de nombreuses études antérieures qui ont montré que la nitrification est très généralement stimulée par la fertilisation chimique dans de nombreux écosystèmes terrestres des prairies ou cultivés (Ai *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2014). (Voir la synthèse de ces travaux précédents sur le Tableau 2 ; Figure 27).

Par ailleurs, sur la même période de 2,5 ans, des changements dans les abondances de certains groupes nitrifiants, en particulier à la dernière date d'échantillonnage, commencent à s'observer. L'abondance des AOB a augmenté en réponse à l'apport d'engrais après 5 cycles de cultures tandis que l'abondance des AOA n'a pas été influencée par le traitement fMM. Ce

résultat est cohérent avec les études antérieures signalant une augmentation des AOB plutôt que des AOA dans le sol en réponse à l'addition d'engrais NPK et / ou d'urée (Docherty *et al.*, 2012; Simonin *et al.*, 2015). En outre, de nombreuses études ont montré une augmentation de l'abondance et de l'activité des AOB en réponse à la fertilisation azotée (Mendum *et al.*, 1999; Phillips *et al.*, 2000). D'autres études ont montré que l'abondance des AOA n'étaient pas affectée ou même parfois diminuait en réponse à une addition de N dans les prairies (Daebeler *et al.*, 2012 ; Zhang *et al.*, 2013 ; Simonin *et al.*, 2015) et d'autres écosystèmes tempérés (Chen *et al.*, 2014). Récemment, Catão *et al.* (2016) ont indiqué que le rapport AOB/AOA augmentait avec la nitrification le long des différents stades de culture du soja (*Glycine max L.*) dans un site en restauration suite à extraction de gravier dans la zone de savane du centre du Brésil.

Tous ces résultats sont vraisemblablement liés à la répartition des niches entre AOB et AOA concernant la disponibilité de N dans le sol (Taylor *et al.*, 2012). Les abondances de *Nitrobacter* et de *Nitrospira* respectivement ont augmenté et n'ont pas été modifiées dans les sous-parcelles fMM. Ces résultats concordent avec ceux publiés sur la dynamique des NOB dans des sols agricoles et forestiers d'Europe et d'Amérique du nord (Attard *et al.*, 2010; Wertz *et al.*, 2012). Attard *et al.* (2010) et Le Roux *et al.* (2016) ont ainsi constaté que les *Nitrobacter* sont favorisés sous une forte disponibilité en N alors que les *Nitrospira* sont moins sensibles au niveau de N dans des sols agricoles et prairiaux français. Dans l'ensemble, les résultats de cette étude appuient l'opinion selon laquelle les AOB et *Nitrobacter* sont les groupes nitrifiants principalement stimulés par une augmentation de la disponibilité en N, tandis que les abondances des AOA et *Nitrospira* répondent peu à la disponibilité accrue de N, comme cela a été observé pour d'autres sols de prairies (Simonin *et al.*, 2015).

II.3.3. Modification de la composition de la communauté nitrifiante suite à l'apport d'engrais

Outre l'augmentation des abondances des AOB et des *Nitrobacter*, plusieurs groupes d'AOB ont été sélectionnés dans des sous-parcelles fertilisées. En particulier, il a été identifié 17 clusters de séquences *amoA* de ces bactéries dont l'abondance relative a augmenté en réponse à la fertilisation par rapport aux sols témoins. Sachant que le pH_{eau} du sol et la teneur en eau du sol (facteurs de contrôle potentiels ; Dannenmann *et al.*, 2008 ; Geisseler et Scow, 2014 ;

Lu *et al.*, 2013) n'ont pas été affectés par les différents traitements, la fertilisation azotée était probablement le principal facteur de sélection de ces populations d'AOB. Deux faits appuient ce point de vue.

Premièrement, plusieurs séquences *amoA* qui apparaissaient dans des sous-parcelles fertilisées sont affiliées à des séquences *amoA* de souches de *Nitrosospira* adaptées aux fluctuations des niveaux de NH_4^+ ou à une activité d'uréase. Certains AOB favorisés par la fertilisation sont affiliés à *Nitrosospira multiformis* dont le génome inclut (i) plusieurs copies des clusters de gènes *amo* et *hao* et leurs éléments régulateurs, gènes clés pour la flexibilité de l'expression de l'inventaire catabolique sous des concentrations fluctuantes d' NH_4^+ ; (ii) une gamme de gènes permettant l'assimilation de NH_4^+ soit par des systèmes à affinité élevée lorsque la concentration en ammonium est faible, soit par un système à plus faible affinité utilisé lorsque les taux de NH_4^+ sont élevés; et (iii) plusieurs clusters de gènes codant pour l'uréase et l'urée-carboxylase, qui fournissent une capacité uréolytique importante pour des bactéries vivant dans des sols présentant des concentrations fluctuantes d'urée et / ou un pH acide (Norton *et al.*, 2008).

En outre, d'autres AOB favorisés par la fertilisation sont affiliés à *Nitrosospira briensis*, connu pour sa stratégie de survie sous disponibilité fluctuante d' NH_4^+ , impliquant une faible diminution de l'activité d'oxydation de NH_4^+ consécutive à une importante carence en azote et à la récupération rapide de cette activité après addition d'azote après une période de carence (Bollmann *et al.*, 2005). Ces résultats pourraient s'expliquer par les formes d'engrais azotés (ammonium ou urée) ajoutés au sol 10 fois pendant la période de 2,5 ans étudiée. Ces résultats ont probablement induit des augmentations transitoires des concentrations en urée et / ou ammonium dans le sol et ont donc pu fortement sélectionner des AOB capables de faire face à de telles fluctuations et d'utiliser efficacement ces substrats, même à des niveaux relativement élevés. Par ailleurs, les augmentations de concentration en N du sol observées dans les sous-parcelles fertilisées, pourraient être transitoire probablement à cause de la très faible capacité d'échange cationique de ces sols et la forte pluviométrie annuelle. Ces deux derniers facteurs eux-mêmes expliquant pourquoi les changements d'abondance de la communauté AOB étaient lents.

Deuxièmement, l'abondance relative des populations d'AOB qui ont émergé dans les sous-parcelles fertilisées a été corrélée à la capacité de la communauté nitrifiante à maintenir son activité à des niveaux d'ammonium plus élevés (10 ppm) comparativement à des niveaux

faibles (2 ppm). Ceci est une indication supplémentaire que ces populations AOB avaient des traits éco-physiologiques leur permettant de résister à des niveaux accrus d'ammonium. Les résultats obtenus suggèrent donc que, bien que les populations dominantes de la communauté AOB dans les sols témoins aient été adaptées à de très faibles niveaux de N, la différenciation de niche entre AOB liée à leurs réponses aux fluctuations de la disponibilité de N (Geets *et al.*, 2006) a expliqué l'émergence de nouvelles populations dominantes dans les sous-parcelles fertilisées.

II.4. Conclusion partielle

Les résultats obtenus ont montré que :

- (1) les nitrifiants dans les sols de la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire sont adaptés à de très faibles niveaux de NH_4^+ , et que les taux de nitrification diminuent lorsque les niveaux de NH_4^+ du sol augmentent. Dans ces sols, les nitrifiants dominants ne sont donc pas capables de bénéficier d'une augmentation soudaine de la disponibilité en N induite par des épisodes récurrents de fertilisation.
- (2) le fait que le cultivar de maïs utilisé par les agriculteurs sur les sous-parcelles étudiées ait une forte préférence pour le NO_3^- au détriment de NH_4^+ pour sa nutrition azotée explique que le blocage du cycle de N par des nitrifiants (à savoir leur faible capacité à convertir l'urée et l'ion NH_4^+ des fertilisants en NO_3^-), empêche tout effet positif de la fertilisation sur le statut azoté du maïs au moins pendant 2 à 3 ans.
- (3) en raison de la faible capacité d'échange en cations du sol et du régime pluviométrique sub-équatorial, la fertilisation chimique a probablement induit des concentrations fluctuantes des teneurs en N. En particulier, l'on peut attendre des niveaux élevés de NH_4^+ et d'urée juste après la fertilisation, en alternance avec des périodes de faibles niveaux. En conséquence, un changement profond dans la composition de la communauté des AOB, avec la sélection de taxons capables de faire face à des niveaux fluctuants de N et / ou capables d'utiliser l'urée comme source de N, est nécessaire avant que la nitrification puisse augmenter en réponse à la fertilisation chimique pratiquée par les agriculteurs.

De façon intéressante, un délai dans la réponse de la nitrification à la fertilisation due à une composition inadéquate de la communauté nitrifiante a déjà été signalé pour d'autres sols ; mais ce délai est beaucoup plus long pour les sols de savane humide où les nitrifiants sont adaptés à des niveaux particulièrement bas de leurs substrats azotés. Les résultats montrent ainsi que l'écologie des nitrifiants et la faible capacité de rétention de N dans ces sols doivent être pris en compte pour guider le choix des pratiques agricoles. Les résultats expliquent notamment pourquoi la fertilisation chimique n'est pas une solution adaptée en terme environnemental (pertes d'une bonne partie de l'azote amené par fertilisation qui n'est pas valorisée par les cultures) pour ce type d'agro-écosystème dans la zone de savane humide. Les résultats mettent aussi l'accent sur la nécessité qu'il y a de compléter l'évaluation des variétés de plantes cultivées non fixatrices d'azote en termes de type d'azote minéral qu'elles peuvent utiliser. En effet, favoriser des variétés utilisant principalement le nitrate et utiliser une fertilisation chimique de type nitrate poserait le problème du lessivage intense du nitrate qu'on attend dans ce type de sol et sous ces climats. Une solution serait par exemple de privilégier des variétés utilisant principalement l'ammonium en continuant à utiliser l'urée et l'ammonium comme fertilisant. Mais d'après les résultats, la pratique de paillage, possiblement avec insertion de légumineuses, pourrait être moins onéreuse et plus adaptée pour augmenter progressivement et de façon durable la disponibilité en azote dans ces agro-écosystèmes.

CHAPITRE III : EFFET DES PRATIQUES AGRICOLES SUR LES DENITRIFIANTS DU SOL ET LE RISQUE DE PERTE D'AZOTE ET D'EMISSION DE N₂O PAR DENITRIFICATION

III.1. Introduction partielle

L'objectif de ce chapitre était de quantifier la réponse des microorganismes dénitrifiants présents dans la couche superficielle du sol (0-10 cm) à six pratiques agricoles appliquées durant 2,5 ans. Ces pratiques sont : (1) brûlis avec culture continue du maïs; (2) fertilisation chimique avec culture continue du maïs; (3) paillage avec culture continue du maïs; (4) paillage avec rotation maïs-soja vert; (5) paillage avec rotation maïs-niébé; et (6) sol nu avec culture continue du maïs.

En outre, cette étude vise à mettre en évidence les déterminants édaphiques (l'humidité du sol, le carbone organique, le nitrate et/ou le pH_{eau} du sol) des réponses observées sur l'activité potentielle et les abondances des dénitrifiants dans les sols très pauvres en N du centre de la Côte d'Ivoire. La dénitrification, l'abondance de 4 groupes clés de dénitrifiants (*nirK*, *nirS*, *nosZI* et *nosZII*) et quatre variables édaphiques (humidité du sol, carbone organique, nitrate, pH_{eau} du sol) ont été mesurées pour les 6 pratiques sur chacune des 9 parcelles de jachères soit 54 sous-parcelles expérimentales après 3, 4 et 5 cycles de culture. Ce chapitre s'appuie sur trois hypothèses: (i) les communautés dénitrifiantes dans les sols de la zone de savanes humides sont pilotées par des déterminants édaphiques différents en fonction du groupe auquel ils appartiennent (hypothèse de différenciation de niche écologique entre les groupes considérés), (ii) l'effet différentiel des pratiques agricoles sur les différents groupes de dénitrifiants, et notamment sur les réducteurs de nitrite et sur les réducteurs de N₂O, peut avoir des implications pour les pertes en azote *via* la production de N₂O par les sols dans ces agrosystèmes. De façon particulière, la troisième hypothèse est celle selon laquelle (iii) la technique de paillage avec les légumineuses insérées dans les rotations augmente à la fois la disponibilité du C et de N dans les sols, et serait donc la pratique la plus défavorable en termes de risque de perte de N par dénitrification.

III.2. Résultats

III.2.1. Principaux déterminants édaphiques du sol pilotant les abondances de chaque groupe de dénitrifiants

Les résultats des abondances des dénitrifiants réalisées dans ces sols cultivés de la zone de savanes humides d'Afrique de l'Ouest, ont montré que la communauté des réducteurs de nitrites était dominée par les bactéries portant le gène *nirS* (de $4,34 \cdot 10^6$ à $5,84 \cdot 10^7$ copies de *nirS* g^{-1} sol sec) plutôt que par les bactéries possédant le gène *nirK* (de $7,54 \cdot 10^4$ à $9,59 \cdot 10^6$ copies de *nirK* g^{-1} sol sec). En ce qui concerne la communauté des bactéries réductrices de l'oxyde nitreux (N_2O), les bactéries portant le gène *nosZII* (de $4,52 \cdot 10^7$ à $3,23 \cdot 10^8$ copies de *nosZII* g^{-1} sol sec) étaient environ 100 fois plus nombreuses que les bactéries porteuses le gène *nosZI* ($7,33 \cdot 10^4$ à $4,75 \cdot 10^6$ copies de *nosZI* g^{-1} sol sec).

Le Tableau 4 résume les corrélations observées entre les variables édaphiques clés, l'abondance des 4 groupes de dénitrifiants, et la production brute potentielle de N_2O (DEA). L'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirK* a été principalement corrélée positivement au carbone organique du sol et négativement à l'humidité du sol (Tableau 4 ; Figure 35). Ainsi, plus le C.org est disponible dans le sol, plus cette disponibilité en C.org entraîne une augmentation des abondances *nirK*. Inversement, plus la teneur en eau augmente plus les niveaux d'abondances *nirK* dans le sol diminuent (respectivement $r = -0,97$ et $r = -0,83$). Dans une moindre mesure ($r = -0,61$), le pH_{eau} a un effet sur l'abondance *nirK*.

L'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirS* a été fortement ($R^2 = 0,92$; $p = 0,0001$) et positivement corrélée au nitrate du sol (Tableau 4 ; Figure 36). Ce résultat montre que plus il y'a de nitrate disponible dans le sol, plus cette disponibilité se concrétise par une augmentation des niveaux d'abondance *nirS*. D'autres corrélations significatives et positives ont également été observées entre d'une part l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirS* ($r = 0,96$; $p = 0,0001$) et l'humidité du sol (Tableau 4) et d'autre part entre l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirS* ($r = 0,58$; $p = 0,0044$) et le pH_{eau} du sol (Tableau 4). En revanche cette corrélation était significative et négative entre ces abondances ($r = -0,76$; $p = 0,0037$) et le C.org du sol. L'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux (N_2O) de type *nosZI* a également été corrélée positivement au nitrate du sol (Tableau 4 ; Figure 37). En outre, la bonne disponibilité en nitrate du sol augmente les abondances *nosZI*. L'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux (N_2O) de type *nosZII* n'était que légèrement corrélée à la teneur en carbone organique du sol (Tableau 4). Le pH_{eau} du sol n'a eu aucun effet significatif sur les abondances *nosZII*.

Tableau 4. Résultats de l'analyse des corrélations de Spearman observées entre la DEA, les abondances des 4 groupes de bactéries dénitrifiantes, et les variables édaphiques du sol. La moitié supérieure-droite du tableau présente les valeurs de P associées aux corrélations. La moitié inférieure-gauche du tableau présente les valeurs de r pour les mêmes corrélations. Les valeurs r pour les corrélations avec $p < 0,05$ sont indiquées en gras. NS: pas significatif ($p > 0,05$). *nirS*, *nirK*, *nosZI* et *nosZII* correspondent respectivement à l'abondance des bactéries de type *nirS*, *nirK*, *NosZI* et *NosZII*; DEA : production brute potentielle de N_2O ; humidité : Humidité du sol; NO_3^- : Teneur en nitrate de sol; et C. org: Teneur en carbone organique du sol ; pH_{eau} : potentiel d'hydrogène.

	DEA	<i>nirK</i>	<i>nirS</i>	<i>nosZI</i>	<i>nosZII</i>	Humidité	NO_3^-	C. org	pH_{eau}
DEA	***	0,0003	0,0001	0,0018	NS	0,0001	0,0001	0,0213	0,0425
<i>nirK</i>	-0,86	***	0,0001	0,0207	NS	0,0001	0,0007	0,0005	0,0346
<i>nirS</i>	0,95	-0,89	***	0,0019	NS	0,0001	0,0001	0,0037	0,0441
<i>nosZI</i>	0,79	-0,65	0,79	***	NS	0,0115	0,0007	0,0332	0,0207
<i>nosZII</i>	-0,27	0,55	-0,42	-0,29	***	NS	NS	0,0411	NS
Humidité	0,91	-0,97	0,96	0,69	-0,51	***	0,0001	0,0015	0,0347
NO_3^-	0,93	-0,83	0,98	0,83	-0,37	0,92	***	0,0086	0,0248
C. org	-0,65	0,84	-0,76	-0,61	0,59	-0,80	-0,71	***	0,0324
pH_{eau}	0,59	-0,61	0,58	0,65	-0,10	0,61	0,64	-0,61	***

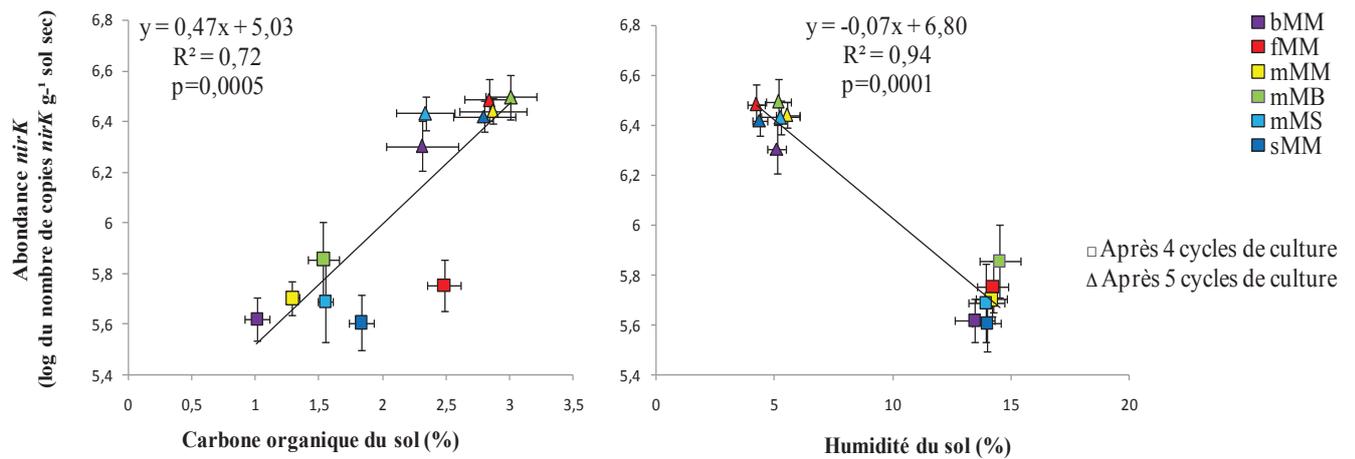


Figure 35. Relation entre l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirK* et la concentration de carbone organique (a) et la teneur en eau du sol (b). Chaque point correspond à la valeur moyenne pour un traitement et une date d'échantillonnage, et les barres sont des erreurs standard (n = 9) ; Six traitements ont été étudiés : bMM: rotation maïs-maïs sur le sol nu; fMM: rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique; mMM: rotation maïs-maïs avec paillis; mMB: rotation maïs-niébé avec paillis de niébé; mMS: rotation maïs-soja vert avec paillis de soja vert; sMM: rotation maïs-maïs avec brûlis.

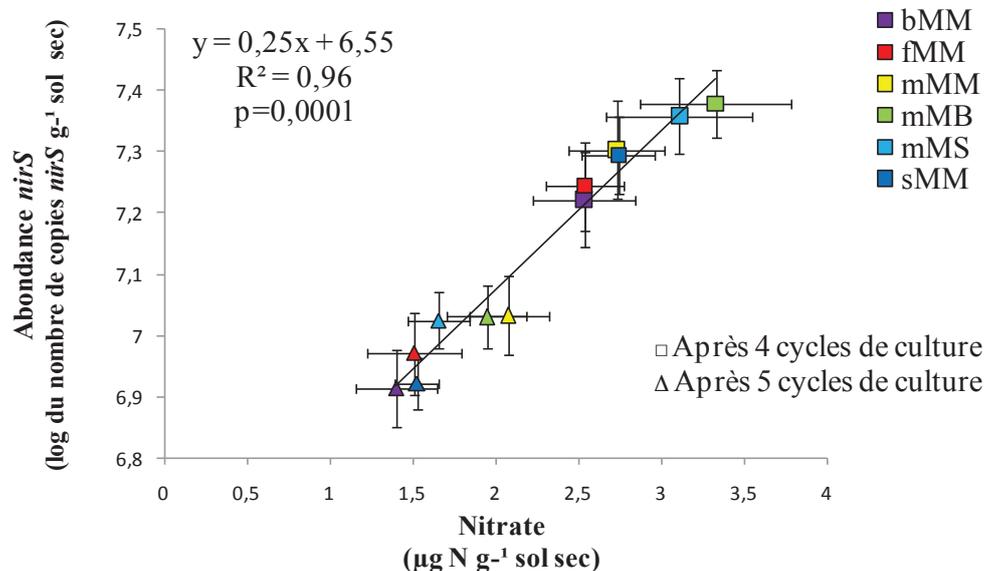


Figure 36. Relation entre l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirS* et la concentration de nitrates de sol. Chaque point correspond à la valeur moyenne pour un traitement et une date d'échantillonnage, et les barres sont des erreurs standard (n = 9). Six traitements ont été étudiés : bMM: rotation maïs-maïs sur le sol nu; fMM: rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique; mMM: rotation maïs-maïs avec paillis; mMB: rotation maïs-niébé avec paillis de niébé; mMS: rotation maïs-soja vert avec paillis de soja vert; sMM: rotation maïs-maïs avec brûlis.

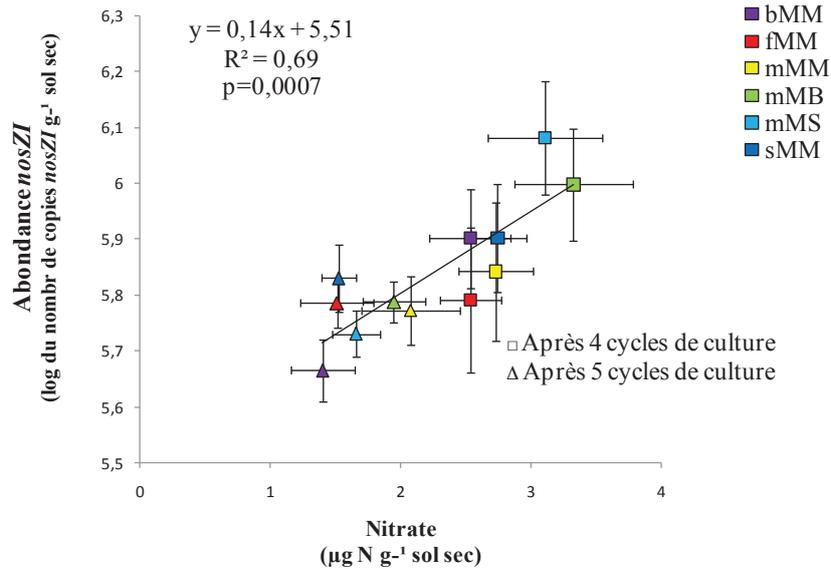


Figure 37. Relation entre l'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux de type *nosZI* et la concentration en nitrate du sol. Chaque point correspond à la valeur moyenne pour un traitement et une date d'échantillonnage, et les barres sont des erreurs standard (n = 9). Six traitements ont été étudiés : bMM: rotation maïs-maïs sur le sol nu; fMM: rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique; mMM: rotation maïs-maïs avec paillis; mMB: rotation maïs-niébé avec paillis de niébé; mMS: rotation maïs-soja vert avec paillis de soja vert; sMM: rotation maïs-maïs avec brûlis.

III.2.2. Influence de la concentration de nitrate sur le taux de dénitrification

Aucune différence n'a été observée entre les taux de dénitrification mesurés à 10 ppm et 50 ppm de NO_3^- : les deux taux étaient fortement corrélés ($R^2 = 0,90$; $p = 0,0001$) et la droite de régression ne différait pas de la ligne 1/1 (Figure 38). Ainsi, les deux concentrations de nitrate testées c'est-à-dire 50 et 10 ppm n'ont eu aucun effet sur le taux de dénitrification dans ces sols étudiés.

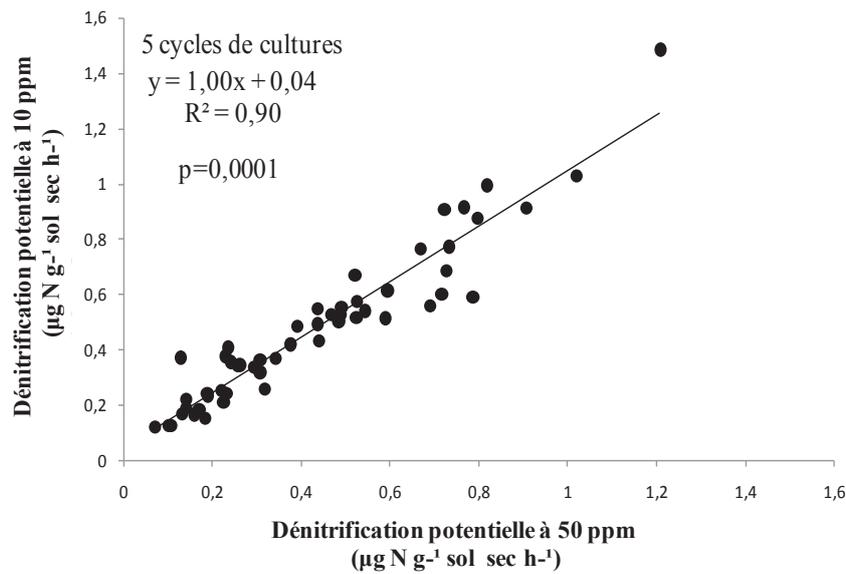


Figure 38. Corrélation entre les taux de dénitrification mesurés pour deux concentrations différentes de nitrate (10 et 50 ppm) après 5 cycles de culture.

III.2.3. Relation entre la production brute potentielle de N₂O et l'abondance des réducteurs de nitrite

La DEA (*Denitrification Enzymatic Activity*), correspond à la production brute potentielle de N₂O puisque l'acétylène bloque l'enzyme responsable de la réduction de N₂O en N₂. La DEA, était fortement et positivement corrélée à l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirS* ($R^2 = 0,90$; $p = 0,0001$) (Tableau 4 et Figure 39). Une corrélation significative et négative a été observée entre la DEA et l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirK* (Tableau 4). La production nette potentielle de N₂O (mesurée sans ajout d'acétylène) était significativement et positivement corrélée à la production brute potentielle de N₂O ($R^2 = 0,18$; $p = 0,05$) (Figure 40). Ainsi, ce résultat révèle que l'augmentation des abondances *nirS* a un effet positif, c'est dire augmente la production brute potentielle de N₂O.

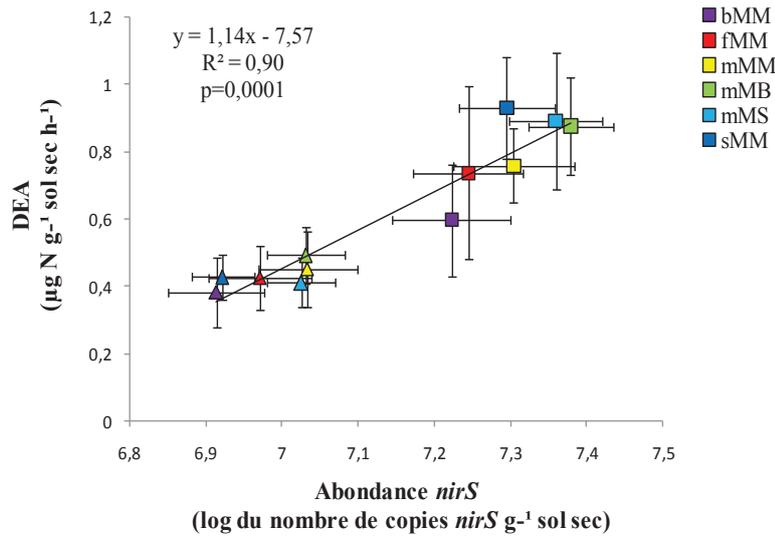


Figure 39. Relation entre la DEA (production brute potentielle de N_2O) et l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirS*. Chaque point correspond à la valeur moyenne pour un traitement et une date d'échantillonnage, et les barres sont des erreurs standard ($n = 9$). Six traitements ont été étudiés : bMM: rotation maïs-maïs sur le sol nu; fMM: rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique; mMM: rotation maïs-maïs avec paillis; mMB: rotation maïs-niébé avec paillis de niébé; mMS: rotation maïs-soja vert avec paillis de soja vert; sMM: rotation maïs-maïs avec brûlis.

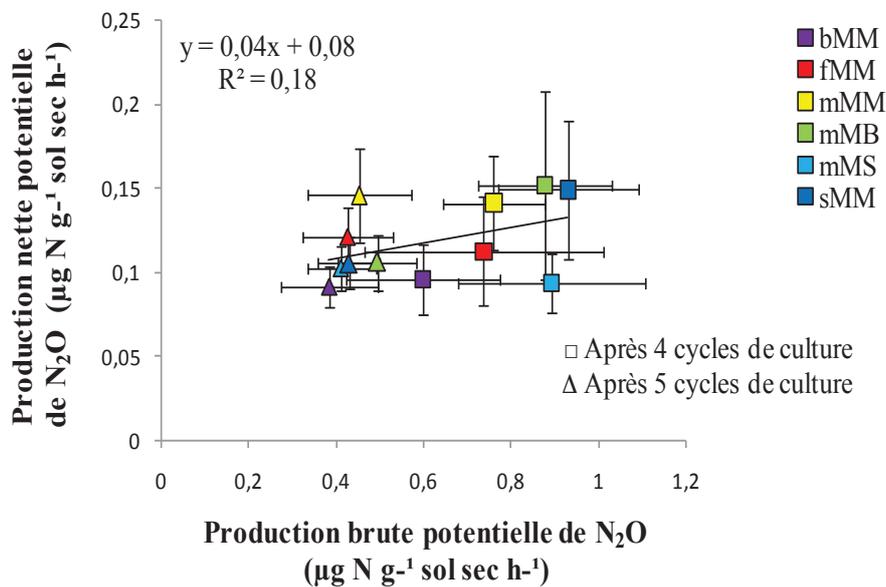


Figure 40. Relation entre la production nette potentielle de N_2O et la production brute potentielle de N_2O . Chaque point correspond à la valeur moyenne pour un traitement et une date d'échantillonnage, et les barres sont des erreurs standard ($n = 9$). Six traitements ont été étudiés : bMM: rotation maïs-maïs sur le sol nu; fMM: rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique; mMM: rotation maïs-maïs avec paillis; mMB: rotation maïs-niébé avec paillis de niébé; mMS: rotation maïs-soja vert avec paillis de soja vert; sMM: rotation maïs-maïs avec brûlis.

III.2.4. Relation entre la production nette potentielle de N₂O et la DEA et l'abondance des réducteurs de N₂O

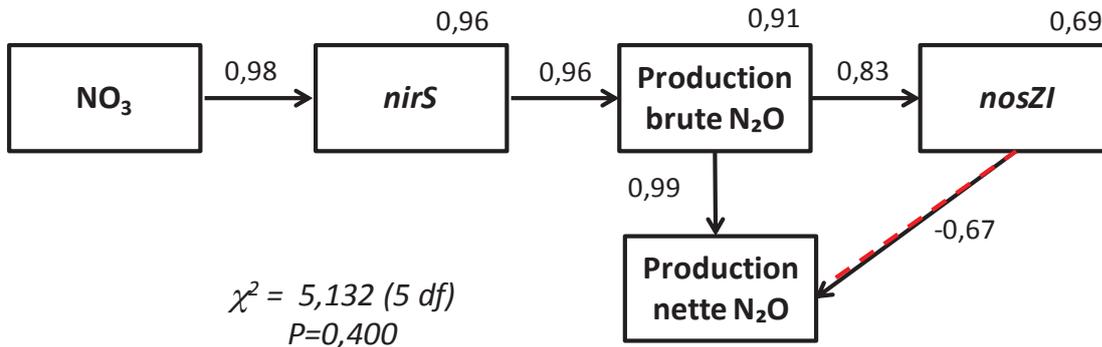
Une majorité de travaux sur les émissions de N₂O ont porté sur la dénitrification considérée comme la principale source de ce gaz. Au cours de ce processus respiratoire microbien, les oxydes d'azote solubles sont utilisés comme accepteur d'électrons alternatif en cas d'absence d'oxygène pour une respiration aérobie. Il consiste en une réduction séquentielle de nitrate (NO₃⁻) ou de nitrite (NO₂⁻) en dinitrogène (N₂) en quatre étapes concomitantes avec conservation de l'énergie (Philippot *et al.*, 2007). Cependant, chacune des étapes de la dénitrification (production et consommation) possède sa propre régulation. La production nette de N₂O dans les sols représente une part variable des produits de la dénitrification (N₂O et N₂) selon les conditions du milieu. Les émissions de N₂O varient donc aussi bien avec la vitesse de dénitrification qu'avec la vitesse de réduction du N₂O en N₂. En fait, la production nette de N₂O est le bilan entre la production brute et la consommation de N₂O. Cependant, la plupart des travaux ne considèrent que la production nette de N₂O et ne prennent pas en compte les interactions possibles entre la production et la consommation de N₂O. D'autres études quantifient simultanément la production brute et la production nette (notamment en présence ou absence de C₂H₂), mais peu d'entre elles ont permis de caractériser finement les 2 processus. Dans ce chapitre, les mesures sur des échantillons de sol (frais et congelés) incubées en anaérobiose en présence ou en absence de C₂H₂ sur les réductions microbiennes de nitrite et d'oxyde nitreux ont été évaluées. Les résultats ont montré que les valeurs de production brute potentielle de N₂O étaient comprises entre de 0,59 et 0,93 μN g⁻¹ sol sec après 4 cycles de culture et entre 0,38 et 0,49 μN g⁻¹ sol sec après 5 cycles de culture. Soit 1,5 fois les valeurs observées après 5 cycles de cultures. En outre, les valeurs de production nette potentielle de N₂O étaient comprises entre 0,09 et 0,15, et 0,09 et 0,15 respectivement pour les échantillons issus des 4 et 5 cycles de culture. Par ailleurs la réduction du N₂O était plus importante dans les échantillons issus du 5^{ème} cycle de culture, cela dans la plupart des sous-parcelles étudiées. En revanche, cette réduction était pratiquement deux fois plus importante dans les sous-parcelles du 4^{ème} cycle de culture, notamment celles issues du mMS (0,79 %) sMM (0,78 %) et mMB (0,72 %).

III.2.5. Vision synthétique des liens entre les productions brute et nette potentielles de N₂O, les abondances des groupes de dénitrifiants et les déterminants environnementaux du sol

Les liens de causalité entre les variables édaphiques du sol, la DEA et l'abondance des 4 groupes de dénitrifiants ont été étudiés en utilisant la modélisation basée sur les équations structurelles. Deux groupes de variables ont été identifiés: (i) la teneur en nitrate dans le sol, qui détermine fortement l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirS*, déterminant elle-même fortement la DEA; cette dernière est bien corrélée à la fois à l'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux (N₂O) de type *nosZI* et à la production nette potentielle de N₂O ; Quant à l'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux (N₂O) de type *nosZI*, celle-ci est négativement corrélée à la production nette potentielle de N₂O et (ii) le carbone organique et le pH_{eau} du sol qui déterminent l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirK* et l'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux N₂O de type *nosZII*. Pour le premier groupe de variables, le modèle a expliqué respectivement 96 %, 91 % et 69 % de la variance de l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirS*, de la DEA et des réducteurs de l'oxyde nitreux de type *nosZI*. Dans ce modèle la DEA a expliqué 69 % réducteurs de l'oxyde nitreux de type *nosZI* et 32 % de la production nette potentielle de N₂O (Figure 41).

Pour le deuxième groupe de variables, le meilleur modèle mettait en évidence le lien entre le carbone organique du sol et les réducteurs de nitrite de type *nirK*, alors que l'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux de type *nosZII* était liée à la fois au pH_{eau} du sol et à l'abondance des bactéries de type *nirK* (Figure 41). Ce deuxième modèle expliquait respectivement 74 % et 60 % de la variance pour l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirK* et l'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux de type *nosZII* (Figure 41). Il faut noter que la signification du deuxième modèle ($\chi^2 = 7,532$; $p = 0,057$) pouvait être améliorée en ignorant l'effet du pH_{eau} du sol ($\chi^2 = 0,878$; $p = 0,35$) mais ceci conduisait à une explication plus faible de la variance de l'abondance des réducteurs de l'oxyde nitreux de type *nosZII*.

Modèle 1



Modèle 2

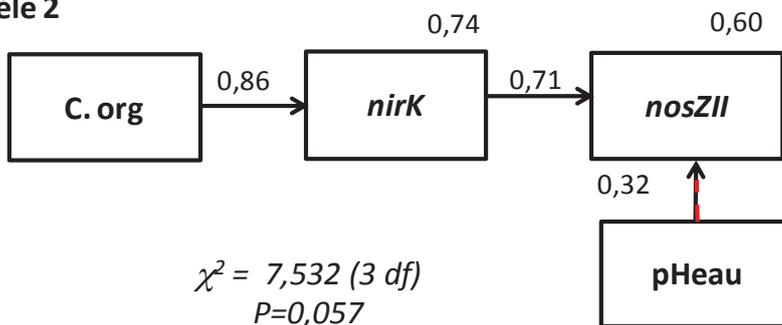


Figure 41. Résultats de l'approche de la modélisation basée sur les équations structurelles utilisée pour identifier les principaux déterminants édaphiques des abondances et de l'activité des dénitrifiants. Un premier modèle (modèle 1) relie "en cascade" un déterminant édaphique principal (ici la concentration en nitrate de sol) à l'abondance des réducteurs de nitrite de type *nirS*, la production brute de N₂O, l'abondance des réducteurs d'oxyde nitreux de type *nosZI* et la production nette de N₂O. Un second modèle (modèle 2) relie des déterminants édaphiques (ici la concentration en carbone organique et le pH_{eau} du sol) à l'abondance des *nirK* et des *nosZII*. Les coefficients de la *path analysis* ou analyse de parcours (valeurs proches des flèches) correspondent aux coefficients standardisés de l'effet d'une variable sur une autre. Les pourcentages de variance expliqués par les modèles sont indiqués en haut à droite des cases correspondant aux variables.

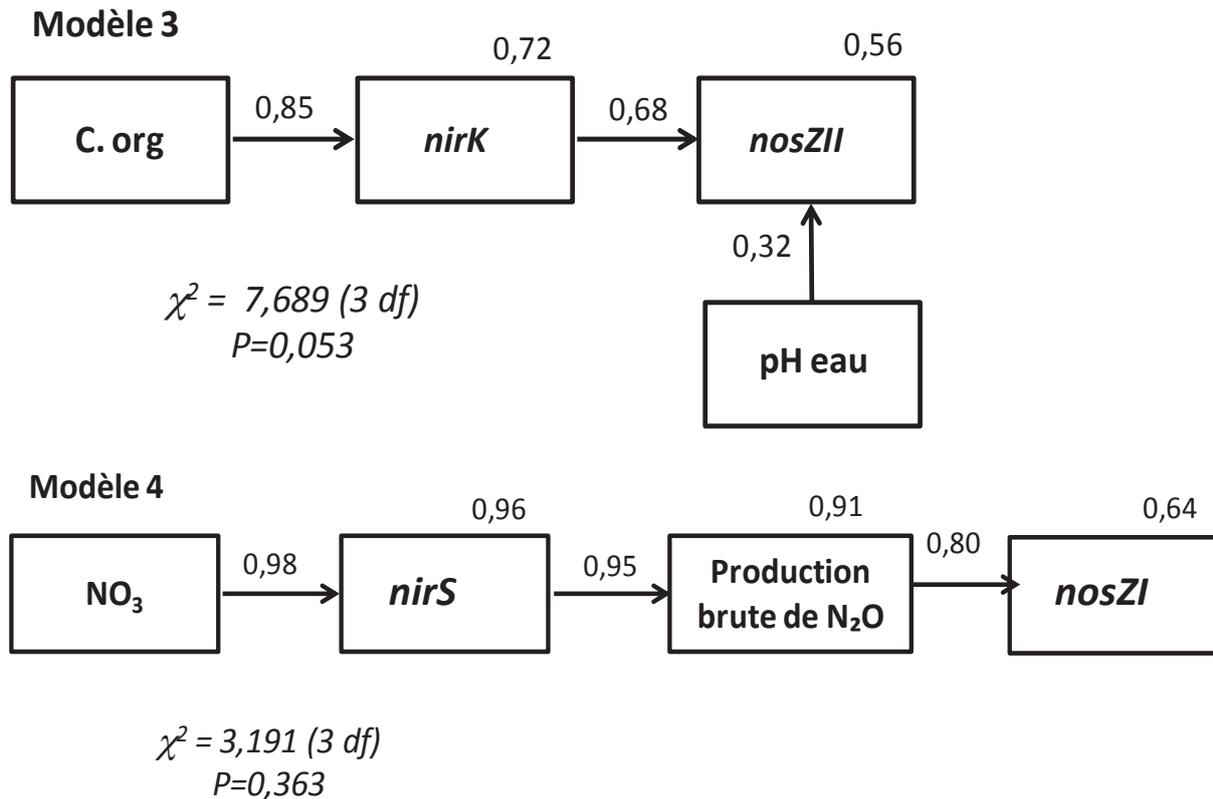


Figure 42. Modèles complets testés pour la modélisation basée sur les équations structurelles utilisées pour identifier les principaux déterminants édaphiques des abondances et de l'activité des dénitrifiants. NO_3^- : nitrate ; C. org : Carbone organique ; humidité : Humidité et pH_{eau} : pH_{eau} du sol correspondent respectivement à la concentration en nitrate du sol, concentration en carbone organique du sol, l'humidité pondérale, et au pH_{eau} du sol.

III.2.6. Rapport de l'abondance totale des réducteurs de nitrite sur celle des réducteurs d'oxyde nitreux

Le rapport $nir_{tot}/nosZ_{tot}$ n'a pas été significativement influencé par les traitements après 4 cycles de culture ($p = 0,50$; Figure 43). Cependant, après 5 cycles de culture, ce rapport $nir_{tot}/nosZ_{tot}$ était significativement influencé par des traitements (ANOVA ; $p = 0,039$). Ce rapport était notamment significativement plus élevé (1,5 fois) pour la rotation du maïs-soja vert avec le paillage que pour la rotation du maïs-maïs avec la pratique traditionnelle du brûlis (Figure 43). Cependant, les différents traitements n'ont pas eu d'effet tant sur l'augmentation que la diminution du rapport des abondances de ces deux types de nitrifiants au 4^{ème} cycle de culture.

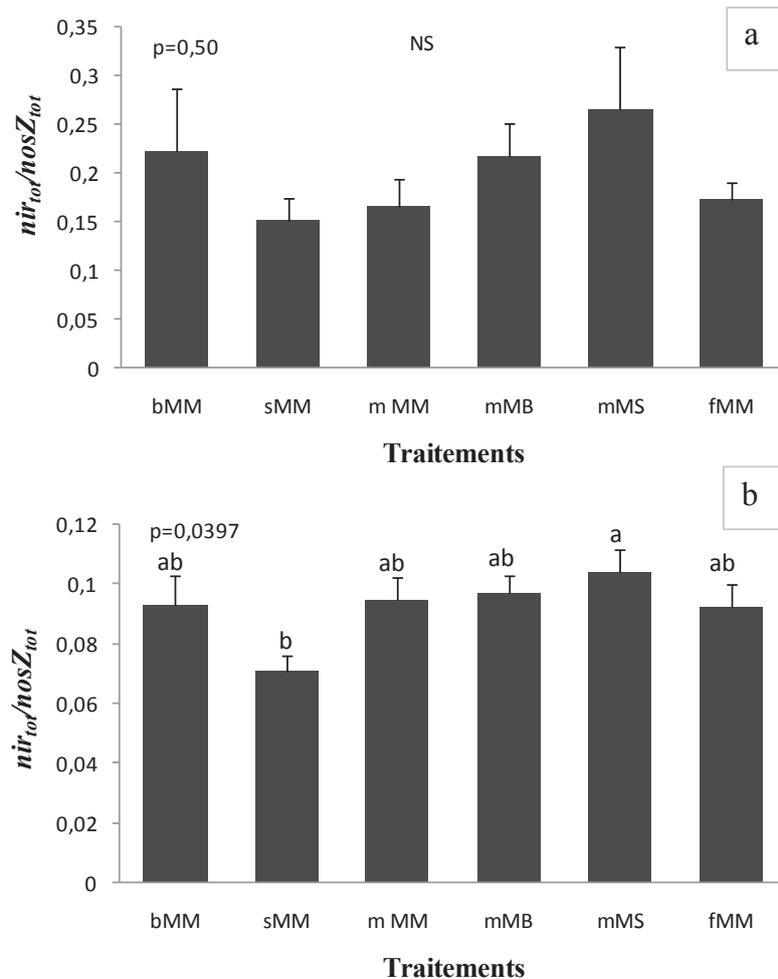


Figure 43. Comparaison du rapport entre l'abondance totale des réducteurs de nitrite (nir_{tot}) et l'abondance totale des réducteurs de N_2O ($nosZ_{tot}$) en fonction des traitements après 4 cycles de culture (a) et 5 cycles de culture (b). Les moyennes sont présentées avec des erreurs standard ($n = 9$). Les valeurs avec différentes lettres sont significativement différentes ($p < 0,05$). NS: pas de différence significative. Les six traitements sont bMM: rotation maïs-maïs sur le sol nu; sMM: rotation maïs-maïs avec brûlis; mMM: rotation maïs-maïs avec paillis de maïs; mMB: rotation maïs-niébé avec paillis de niébé; mMS: rotation maïs-soja vert avec paillis de soja vert; fMM: rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

III.3. Discussion

III.3.1. Quelles variables édaphiques déterminent l'abondance des dénitrifiants dans les sols cultivés du centre de la Côte d'Ivoire ?

La dénitrification est la réduction biologique (processus opérant par étapes) du nitrate et du nitrite en oxyde nitrique, oxyde nitreux ou di-azote *via* quatre complexes enzymatiques (Zumft, 1997). Cette activité inductible nécessite des conditions environnementales

spécifiques (Tiedje, 1988). Les principaux facteurs affectant l'activité des bactéries dénitrifiantes sont principalement la disponibilité en nitrates (Fillery, 1983; Sigunga *et al.*, 2002), la teneur en carbone organique (Brettar et Höfle, 2002), le niveau d'anoxie qui lui-même dépend de l'humidité dans un sol donné (Fillery, 1983) et la température (Mahli *et al.*, 1990 ; Dannenmann *et al.*, 2008) ainsi que le pH (Müller *et al.*, 1980; Dannenmann *et al.*, 2008). Cette étude est la première à caractériser l'écologie des dénitrifiants pour les sols cultivés de la zone de savanes humides ouest-africaine, pour laquelle aucune information n'était disponible jusqu'à présent.

Les résultats montrent que le nitrate du sol était le principal déterminant des changements d'abondance des dénitrifiants de type *nirS* et *nosZI*, alors que la disponibilité en carbone organique du sol était le facteur pilotant les changements d'abondances des dénitrifiants de type *nirK* et dans une moindre mesure, les dénitrifiants de type *nosZII*. Ce résultat est corroboré par les régressions simples effectuées entre l'abondance de chaque groupe dénitrifiant et chaque variable édaphique du sol, et par l'analyse des trajectoires permettant d'identifier et de hiérarchiser les multiples facteurs possibles.

Les résultats de cette étude appuient l'existence d'une différenciation de niche entre les réducteurs de nitrite de type *nirS* et *nirK* (Philippot *et al.*, 2009; Enwall *et al.*, 2010). Ainsi, ces résultats s'ajoutent à un corpus de littérature croissant couvrant une gamme d'écosystèmes et rapportant que les abondances des réducteurs de nitrite hébergeant les dénitrifiants de type *nirS* sont souvent liées positivement à la concentration de NO_3^- dans le sol (Philippot *et al.*, 2009; Yuan *et al.*, 2012. *al.*, 2014), alors que les abondances des réducteurs de nitrite hébergeant le gène *nirK* augmente souvent avec la concentration en carbone organique du sol (Kandeler *et al.*, 2006; Bárta *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2010 ; Enwall *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2011; Banerjee et Siliciano, 2012; Ma *et al.*, 2016).

Par ailleurs, la catégorisation des microorganismes du sol impliqués dans le cycle de l'azote dans le sol en quelques groupes fonctionnels unifiés par leurs exigences écologiques emmène à comprendre et à prédire comment ceux-ci réagissent aux changements environnementaux (Le Roux *et al.*, 2016). En ce qui concerne les réducteurs de nitrite dans les sols de la zone de savanes humides, les bactéries de type *nirS* était principalement piloté par le nitrate du sol et les *nirK* principalement le carbone organique du sol, la modélisation linéaire est la première approche de base permettant d'expliquer respectivement 96% et 73% de la variance dans les changements d'abondance respectivement pour le premier et le second groupe de réducteurs

de nitrites. Cependant, il a été signalé qu'une diversité fonctionnelle existe dans chacun de ces deux groupes et que des sous-groupes distinctifs pourraient être nécessaires pour mieux comprendre la réponse de la communauté réductrice de nitrite le long des gradients environnementaux (Xie *et al.*, 2014).

Aussi, les résultats de la modélisation basée sur les équations structurelles montrent que le carbone organique, le nitrate et dans une moindre mesure le pH, sont des déterminants clés des abondances des bactéries dénitrifiantes. Dans les sols cultivés de cette zone de savanes humides et quelle que soit le traitement, la communauté réductrice de nitrite était dominée par les bactéries de type *nirS* ce qui corrobore avec le récent rapport de Srikanthasamy *et al.* (2018) sur les sols non cultivés de la même zone. Les réducteurs de nitrite de type *nirS* représentaient près de 75 à 97 % de la communauté réductrice totale de nitrite dans la présente étude, contre 21 à 63 % pour 47 sols différents en Europe (Jones *et al.*, 2014). Des valeurs plus extrêmes ont cependant été signalées, en ce qui concerne les bactéries de type *nirS* représentant jusqu'à 99 % des réducteurs de nitrites dans un sol de prairie tibétain et un sol de forêt tempéré (Xie *et al.*, 2014 ; Ribbons *et al.*, 2016). Puisque que les enzymes des bactéries de type *nirS* et *nirK* ont respectivement le Fe et le Cu comme co-facteur. Srikanthasamy *et al.* (2018) ont suggéré que les bactéries de type *nirK* peuvent être dominantes dans les sols à forte concentration de Cu (Enwall *et al.*, 2010), tandis que les bactéries de type *nirS* domineraient la communauté réductrice de nitrite dans les sols riches en Fe comme ceux de la zone de savanes humides Ouest-Africaine. Parmi les paramètres mesurés dans cette étude, le contenu en nitrate du sol était le facteur majeur déterminant les abondances des dénitrifiants de type *nirS* et *nosZI* (Figures 37 et 38). En outre, la disponibilité en carbone organique du sol est apparue comme principal contrôle des changements des abondances *nirK* (Figure 35). Dans la littérature, les déterminants édaphiques identifiés pour les dénitrifiants de type *nirS* et *nirK* ne sont pas entièrement cohérents entre les études (Philippot *et al.*, 2009; Enwall *et al.*, 2010 ; Attard *et al.*, 2011 ; Ma *et al.*, 2016).

Les résultats ont de plus révélé que l'abondance de *nirK* (moins abondants) était largement sous le contrôle du carbone organique du sol dans les sols étudiés. Par ailleurs, le pH_{eau} n'a pas affecté les abondances des réducteurs de l'oxyde nitreux de type *nosZII* (Tableau 4). Ce résultat n'est pas conforme à plusieurs autres études où le pH_{eau} a fortement affecté l'abondance de la communauté dénitrifiante dans les terres boisées et les sols humides (Priemé *et al.*, 2002), ainsi que dans les sols agricoles (Enwall *et al.*, 2005). En revanche, l'abondance des copies de gènes *nirS* et *nosZI* était alors positivement et fortement corrélée au

pH_{eau} du sol. Ceci peut s'expliquer par la faiblesse des changements de pH_{eau} rencontrés dans cette étude, le pH_{eau} du sol étant toujours compris entre 6,53 et 6,88.

III.3.2. Relation entre la production brute potentielle de N₂O et l'abondance des réducteurs de nitrite

Une corrélation positive et significative a été observée entre la DEA (production brute potentielle de N₂O) et les abondances *nirS*. En outre près de 91 % de la variance de la DEA est expliquée par changement abondance *nirS*, selon le modèle ; Figure 41). De façon similaire, plusieurs auteurs ont précédemment signalé un effet des abondances de dénitrifiants sur la dénitrification (Dong *et al.*, 2009; Hallin *et al.*, 2009; Philippot *et al.*, 2009; Enwall *et al.*, 2010 ; Attard *et al.*, 2011). Une corrélation significative entre la DEA et l'abondance de *nirS* a été rapportée (Petersen *et al.*, 2012). Attard *et al.* (2011) ont également montré que les changements de DEA dépendent des changements d'abondance des dénitrifiants de type *nirK* dans des systèmes agricoles tempérés.

Plusieurs auteurs ont étudié l'influence des pratiques agricoles sur les microorganismes impliqués dans la production de N₂O (Kong *et al.*, 2010; Bissett *et al.*, 2014; Hallin *et al.*, 2009; Hartmann *et al.*, 2015; Thompson *et al.*, 2016). La fertilisation, qui est un facteur important des émissions de N₂O (Shcherbak *et al.*, 2014 ; Smith, 2007), a par exemple montré qu'elle affectait aussi la communauté des dénitrifiants (Chen *et al.*, 2010; Clark *et al.*, 2012 ; Tatti *et al.*, 2013).

Les valeurs du rapport $nir_{tot}/nosZ_{tot}$ ont été influencées par les systèmes de culture, notamment après 5 cycles de culture. La réponse de ce rapport aux pratiques agricoles est particulièrement frappante quand on compare les valeurs obtenues pour le brûlis et la pratique du paillage avec culture de soja vert dans la rotation. Ainsi, les pratiques agricoles et / ou les parcelles ont influencé l'abondance des quatre groupes dénitrifiants. Par exemple, à chaque date, l'abondance de chaque groupe dénitrifiant était plus élevée pour le traitement du sol (maïs-soja vert et paillis) que celui du sol nu. Cela confirme les résultats de nombreuses études antérieures rapportant que les abondances de dénitrifiants sont souvent influencé par l'utilisation et la gestion des terres (Attard *et al.*, 2011). Cela suggère que dans les sous-parcelles de brûlis, il n'y avait pas une disponibilité suffisante en nitrates et probablement l'effet inverse dans les parcelles avec soja vert. Les réducteurs de nitrite contribuent à la

production du NO et de N₂O, et donc à l'effet de serre (Ravishankara *et al.*, 2009; Smeets *et al.*, 2009), tandis que les réducteurs d'oxyde nitreux peuvent convertir le N₂O en composé inerte N₂. Les modes d'utilisation des terres, en influençant différemment les deux groupes (réducteurs de nitrite versus réducteurs de N₂O) peuvent affecter l'équilibre entre ces groupes et *in fine* l'équilibre entre production et réduction de N₂O. Par exemple, Ma *et al.*, (2016) ont trouvé que le rapport entre les réducteurs de N₂O et les réducteurs de nitrite a tendance à augmenter avec l'augmentation des taux de fertilisation P dans des prairies tibétaines. Les résultats ont montré qu'il semble que la pratique de brûlis amène à un rapport *nir/nosZ* particulièrement faible, ce qui serait a priori favorable à une limitation des émissions de N₂O ; à l'inverse la pratique du paillage avec intercalage de soja vert dans la rotation amène à un fort rapport *nir/nosZ*, ce qui correspond à un plus fort risque d'émissions de N₂O.

III.4. Conclusion partielle

Ces travaux ont permis de caractériser plus finement la composante bactérienne du sol, qui est encore parfois perçue comme une boîte noire à l'origine de divers processus, dans des sols encore peu étudiés dans ce contexte : les sols pauvres du centre de la Côte d'Ivoire. Ces travaux ont permis de déterminer les principales variables édaphiques du sol qui expliquent les changements d'abondances et d'activité des dénitrifiants observés sous l'effet des six traitements agronomiques étudiés. En effet, une différenciation de niche écologique très nette a été mise en évidence entre les quatre groupes de bactéries dénitrifiantes étudiés. Deux groupes (réducteurs de nitrite de type *nirS* et réducteurs de N₂O de type *nosZI*) sont principalement pilotés par la teneur en N (nitrate) du sol. Alors que, les réducteurs de nitrite de type *nirK* et les réducteurs de N₂O de type *nosZII* sont principalement pilotés par le carbone organique avec en plus l'humidité du sol pour les réducteurs de nitrite de type *nirK*. De plus, la pratique de culture sur paillis avec insertion de légumineuse aurait plutôt tendance à augmenter la perte potentielle d'N lors du processus de la dénitrification, sans doute en relation avec l'augmentation des concentrations en N et C dans le sol qu'elle génère.

Par ailleurs, les paramètres chimiques et enzymatiques pourraient donc être utilisés pour suivre l'influence de ces systèmes de culture, et leur durabilité dans ces sols de savanes.

CHAPITRE IV : EFFETS DES PRATIQUES AGRICOLES SUR LES PARAMETRES CHIMIQUES ET ENZYMATIQUES DES SOLS

IV.1. Introduction partielle

Dans ce chapitre, l'effet de six différentes pratiques agricoles répétées en continue ou en rotation en 3, 4 et 5 cycles culturaux a été évalué afin de mettre en évidence l'influence de ces pratiques sur les caractéristiques chimiques et enzymatiques du sol et leur durabilité. L'hypothèse majeure testée est que l'insertion des légumineuses, particulièrement le niébé en rotation culturale couplé à la pratique du paillage est une stratégie de gestion durable et adaptée pour les sols de la zone des savanes humides de Côte d'Ivoire comparé à la fertilisation minérale et la culture sur brûlis.

IV.1. Résultats

IV.1.1. Effets des traitements et des cycles de culture sur les paramètres chimiques

IV.1.1.1. Effets des traitements et des cycles de culture sur l'évolution des paramètres chimiques

L'influence des traitements et des cycles culturaux sur les paramètres chimiques étudiés est présentée dans la Figure 44. Généralement, le pH_{eau} du sol était très proche de la neutralité avec des valeurs moyennes (tous traitements confondus) comprises entre (6,5 et 6,8). Cependant la valeur la plus élevée de ce paramètre a été enregistrée au 3^{ème} cycle de culture dans les sous-parcelles mMS (7,02), et la plus faible au 5^{ème} cycle de culture dans les sous-parcelles fMM (6,53). Par ailleurs, le pH_{eau} du sol a été significativement influencé ($p=0,0001^*$; Figure 44a) par le nombre de cycles culturaux avec des valeurs qui ont eu tendance à baisser au fur et à mesure que le nombre de cycles de culture augmentait.

L'humidité du sol a aussi significativement varié ($p=0,0001$; Figure 44b) en fonction du nombre de cycle de culture. Elle a eu tendance à augmenter au 4^{ème} cycle de culture avec des valeurs plus importantes observées (14,52 %) dans les sous-parcelles de mMB avant de décroître au 5^{ème} cycle de culture avec les plus faibles valeurs dans les sous-parcelles fMM (4,21 %).

Quant au C.org du sol avec des valeurs moyennes comprises entre 1,01 et 3,00 %. Il a subi une variation significative ($p=0,0001$; Figure 44c) en fonction du nombre de cycles de culture. La tendance observée a été une diminution de sa teneur du 3^{ème} au 4^{ème} cycle de culture suivie d'une augmentation de celle-ci au 5^{ème} cycle de culture. Sa teneur moyenne la plus élevée (3,00 %) a été enregistrée au 5^{ème} cycle de culture dans les sous-parcelles de mMB et la plus faible (1,01 %) au 4^{ème} cycle de culture dans les sous-parcelles de bMM.

La teneur en $P_{\text{assimilable}}$ a varié de façon significative ($p=0,0130$; Figure 44d) en fonction du nombre de cycle de culture. Hormis les traitements sMM et bMM, la tendance générale a été une diminution au 4^{ème} cycle de culture suivie d'une augmentation au 5^{ème} cycle de culture. Les valeurs les plus élevées et les plus faibles au 5^{ème} cycle de culture respectivement dans les sous-parcelles mMB ($0,62 \text{ mg kg}^{-1}$) et sMM ($0,13 \text{ mg kg}^{-1}$).

Concernant l'azote du sol, sa teneur a augmenté de manière très significative ($p=0,0001$; Figure 44e) notamment entre le 3^{ème} et le 5^{ème} cycle de culture. La valeur moyenne la plus importante de l'azote total du sol a été enregistrée au 5^{ème} cycle (0,52 %) dans les sous-parcelles fMM et la plus faible dans les sous-parcelles de mMS (0,17 %) au 4^{ème} cycle de culture. Le rapport C/N a baissé de manière significative ($p=0,0001$; Figure 44f) entre le 3^{ème} et 5^{ème} cycle de culture. Sa valeur la plus importante a été enregistrée au 3^{ème} cycle de culture (14,23) dans les sous-parcelles de mMB et la plus faible au 4^{ème} cycle de culture (3,95) dans les sous-parcelles de bMM. La teneur en ammonium du sol a augmenté de manière très significative ($p=0,0001$; Figure 44g) notamment entre le 3^{ème} et le 5^{ème} cycle de culture.

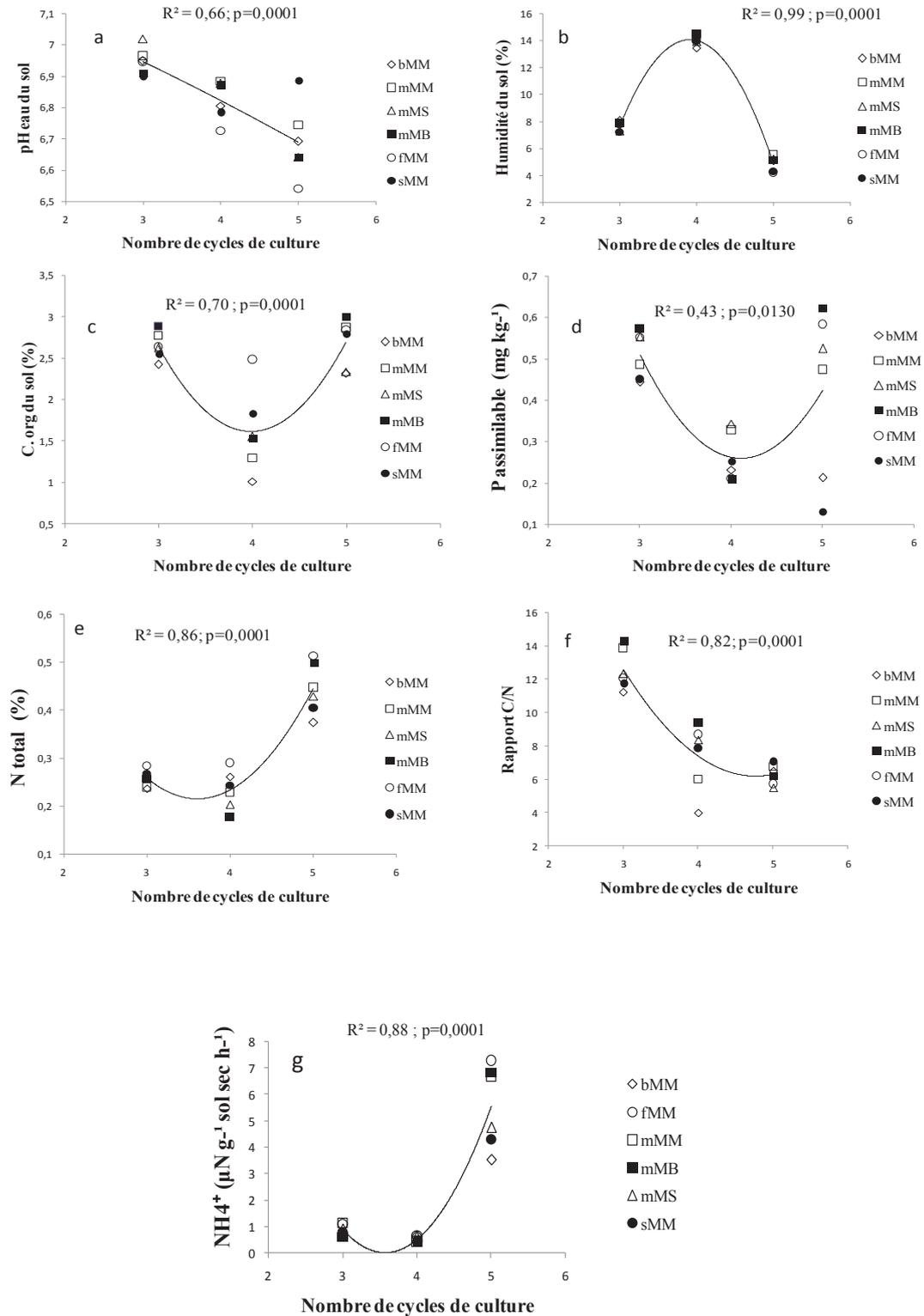


Figure 44. Evolution des variables édaphiques du sol en fonction des traitements et des cycles de culture (a), (b), (c), (d), (e), (f) et (g). Les échantillons sont issus de six traitements répétés sur neuf parcelles en fonction du nombre de cycles de culture (3, 4 et 5 cycles). Les corrélations significatives ($p < 0,05$). Les traitements sont : bMM (sol nu ; ◇), mMM (paillis maïs ; □), mMS (paillis soja vert ; △), mMB (paillis niébé ; ■), fMM (NPK+urée ; ○), sMM (brûlis ; ●)

IV.1.1.2. Discrimination des traitements en fonction des paramètres chimiques

Une analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée à partir des paramètres chimiques du sol, mesurés sur les neuf parcelles du site d'étude pour examiner de façon globale l'effet des traitements tous cycles de culture confondus sur tous ces paramètres étudiés. L'ACP a révélé que les axes 1 et 2 expliquent respectivement 29,34 et 20,18 % de la variance totale entre les pratiques agricoles et les paramètres chimiques du sol, soit 49,52 % de l'inertie totale. L'observation de la corrélation entre les axes (1 et 2) et les paramètres mesurés, montre que les teneurs en N_{tot} et NH_4^+ des sols étudiés sont positivement corrélés à l'axe 2, tandis que les autres paramètres y sont négativement corrélés. Une projection des traitements dans le plan factorielle 1 et 2 a montré une séparation claire et significative ($p < 0,0001$) des traitements en 3 groupes : le premier groupe est composé des sous-parcelles issues des traitements fertilisés à base d'engrais chimique (NPK+Urée) révélant une influence significative du traitement sur les variables du sol (NH_4^+ , N_{tot} , $P_{\text{assimilable}}$, NO_3^- et C.org), le second de celles issues des sous-parcelles fertilisées avec du paillis de niébé (mMB), maïs (mMM), soja vert (mMS), et des sous-parcelles de brûlis (sMM) caractérisé par influence significative de ces traitements sur les paramètres notamment le pH_{eau} , l'humidité, l' N_{tot} et le C.org, et le troisième groupe de celles issues des sous-parcelles de sol nu (bMM), considéré comme le témoin caractérisé par une influence significative de ce traitement sur le pH_{eau} et l'humidité ($p = 0,0001$; Figure 45).

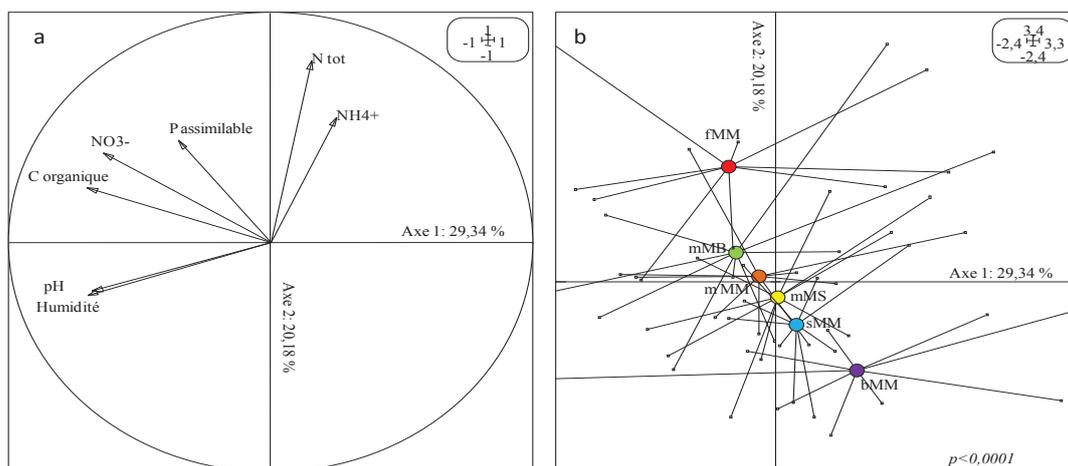


Figure 45. Analyse en Composantes Principales (ACP) réalisée à partir des sept variables environnementales du sol mesurées pour les six traitements en fonction de tous les cycles de culture confondus. (a) cercle de corrélation et (b) projection des différents échantillons de sol dans le plan factoriel de l'axe 1 et 2. Humidité: humidité; pH : potentiel Hydrogène ; C.org : Carbone organique ; NO_3^- : Nitrate ; NH_4^+ : Ammonium ; Phosphore assimilable : $P_{\text{assimilable}}$; N_{tot} : azote total. Les traitements sont : bMM (sol nu le témoin; violet), sMM (brûlis ; bleu), fMM (NPK+urée ; rouge), mMM (paillis maïs; orange), mMS (paillis soja vert ; jaune), mMB (paillis niébé ; vert);

IV.1.2. Effets des traitements et des cycles de culture sur les activités enzymatiques du sol

IV.1.2.1. Effets des traitements et des cycles de culture sur l'expression des activités enzymatiques

Les mesures effectuées sur sept activités enzymatiques du sol ont révélé que la plupart de celles-ci ont été influencées par les traitements mis en place (Figures 47 ; 48 et 49) tous les cycles de cultures confondus testés. Pour les activités enzymatiques impliquées dans le cycle du P (Figure 46), les résultats ont montré que généralement ces activités étaient plus élevées dans les systèmes culturaux à base de paillis de maïs, de soja vert et de niébé au 3^{ème} et 5^{ème} cycles de culture. Ces deux activités enzymatiques ont eu tendance à diminuer de manière significative ($p=0,0001$; $R^2=0,83$; Figure 46a et $p=0,0001$; $R^2=0,87$; Figure 46b) du 3^{ème} au 4^{ème} cycle puis à amorcer une légère augmentation au 5^{ème} cycle de culture. Cette observation est similaire pour les activités impliquées dans le cycle du carbone (Figure 47) notamment celle de la β -glu et de la DH utilisée comme proxy de l'activité microbienne globale du sol. Cette variation a été significative pour la β -glu ($p=0,0022$; $R^2=0,55$; Figure 47a) et la DH ($p=0,0001$; $R^2=0,94$; Figure 47b). Les sous-parcelles mMM ont enregistré les activités β -glucosidasiques les plus élevées avec des valeurs de $0,038 \mu\text{mol pNP g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$ au 3^{ème} cycle de culture. Les valeurs les plus faibles de cette activité ($0,017 \mu\text{mol pNP g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$) ont été observées dans les sous-parcelles bMM au 4^{ème} de culture. Pour la DH, les sous-parcelles mMB ont exprimées les valeurs les plus élevées ($6,00 \mu\text{g TPF g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$) au 3^{ème} cycle de culture et les plus faibles dans les sous-parcelles bMM ($1,48 \mu\text{g TPF g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$) au 4^{ème} cycle de culture.

Les activités enzymatiques impliquées dans le cycle de l'azote étaient également plus élevées aux mêmes cycles de culture que précédemment et dans les mêmes types de sous-parcelles. Les activités enzymatiques impliquées dans le cycle de l'azote, ont également eu tendance à varier en fonction des cycles de culture (Figure 48). Les activités de la NEA et la Nac ont diminué du 3^{ème} au 4^{ème} cycle de culture, puis ont eu tendance à augmenter au 5^{ème} cycle de culture. Ces variations observées en fonction des cycles de culture étaient très significatives ($p_{\text{Nac}}=0,0011$; $R^2=0,59$; Figure 48a; $p_{\text{NEA}}=0,0004$; $R^2=0,64$; Figure 48b; $p_{\text{DEA}}=0,0001$; $R^2=0,75$; Figure 48c). Par exemple, dans les sous-parcelles mMM, les activités les plus élevées de la Nac et la NEA étaient respectivement de $0,014 \mu\text{mol pNP g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$ et $0,35 \mu\text{N g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$ au 3^{ème} cycle de culture. La valeur de la Nac était la plus

faible ($0,0061 \mu\text{mol pNP g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$) dans les sous-parcelles bMM au 4^{ème} cycle de culture. Quant à la NEA, sa valeur la plus faible ($0,15 \mu\text{N g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$) a également été observée dans les sous-parcelles bMM. Quant à l'activité dénitrifiante (DEA), elle a augmenté du 3^{ème} au 4^{ème} cycle de culture avant de baisser au 5^{ème} cycle de culture. Les activités enzymatiques les plus élevées ont été enregistrées dans les sous-parcelles sMM avec une valeur moyenne de $0,93 \mu\text{N g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$ au 4^{ème} cycle de culture. Les activités les plus faibles ont été observées chez les sous-parcelles bMM ($0,38 \mu\text{N g}^{-1} \text{ sol sec h}^{-1}$) au 5^{ème} cycle de culture.

En générale, quelque soit le nombre de cycles de culture, les sous-parcelles bMM sont celles qui ont enregistré les faibles valeurs d'activités enzymatiques. De plus, les plus faibles valeurs étaient observées au cours du 4^{ème} cycle de culture.

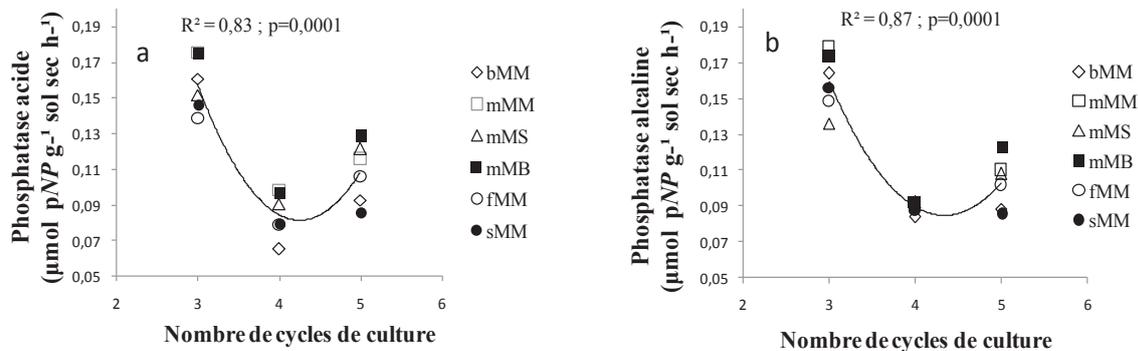


Figure 46. Evolution des activités enzymatiques impliquées dans cycle du Phosphore en fonction des traitements et des cycles de culture : (a) activité de la phosphatase acide (Pac) et (b) activité de la phosphatase alcaline (Pal). Les échantillons sont issus de six traitements répétés sur neuf parcelles en fonction du nombre de cycles de culture (3, 4 et 5 cycles). Les corrélations significatives ($p < 0,05$). Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

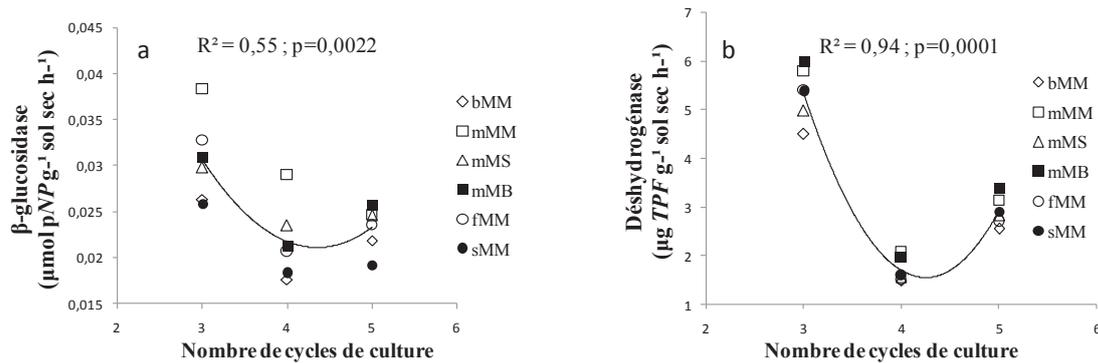


Figure 47. Evolution de l'activité β -glucosidasique (β -glu) (a) et de l'activité déshydrogénasique (DH) (b) en fonction des traitements et des cycles de culture. Les échantillons sont issus de six traitements répétés sur neuf parcelles en fonction du nombre de cycles de culture (3, 4 et 5 cycles). Les corrélations significatives ($p < 0,05$). Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

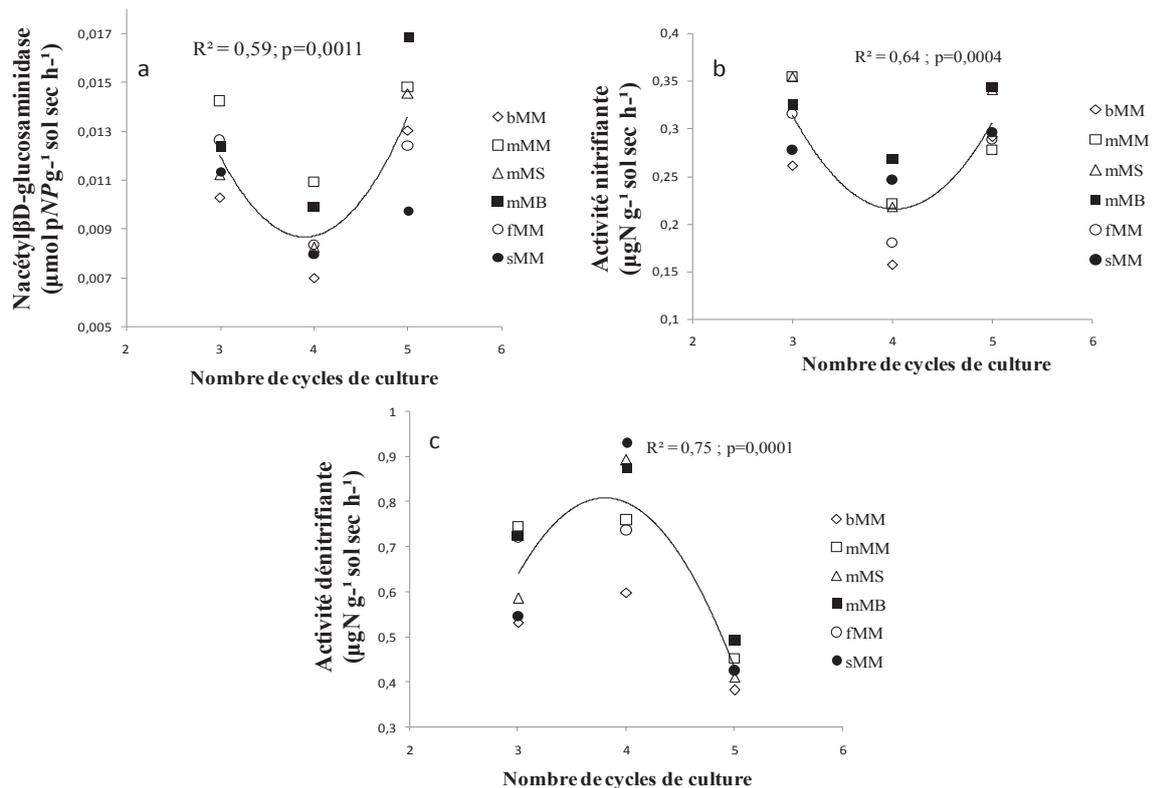


Figure 48. Evolution des activités enzymatiques impliquées dans le cycle de l'Azote en fonction des traitements et des cycles de culture : (a) activité de la N-acétyl β -D-glucosaminidase (Nac), (b) activité nitrifiante (NEA) et (c) activité dénitrifiante (DEA). Les échantillons sont issus de six traitements répétés sur neuf parcelles en fonction du nombre de cycles de culture (3, 4 et 5 cycles). Les corrélations significatives ($p < 0,05$). Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

IV.1.2.2. Discrimination des traitements en fonction des activités enzymatiques

Une ACP a été réalisée pour évaluer l'impact des traitements sur les activités enzymatiques du sol (Figure 49). Les axes 1 et 2 expliquent respectivement 47,02 et 18,54 % de la variance totale, soit 65,56 % de l'inertie totale. L'axe 1 porte le double de la variance par rapport à l'axe 2. Pour un traitement donné, la variance a été observée le long du deuxième axe de l'ACP, ce qui s'explique principalement par le contraste entre un premier groupe de variables (Pac, Nac et β -glu) et un deuxième groupe incluant respectivement les activités Pal, NEA, DEA et DH (Figure 49).

Les sept activités enzymatiques ont permis de discriminer les six traitements étudiés. Une projection des traitements dans le plan factorielle 1 et 2 a montré une séparation significative ($p < 0,001$) des traitements en 3 groupes : le premier groupe est constitué des traitements mMM et mMB caractérisés par des valeurs d'activités enzymatiques élevées notamment en Pac, Nac et β -glu, le second groupe composé des traitements fertilisés avec le NPK+Urée (fMM) et du paillis de soja vert (mMS), caractérisé plutôt par des activités enzymatiques telles que la Pal, DEA et la DH, et le troisième groupe des traitements brûlis (sMM) et sol nu (bMM) caractérisé par des valeurs d'activités enzymatiques (NEA, Pal, DH et DEA) relativement faibles (Figure 49).

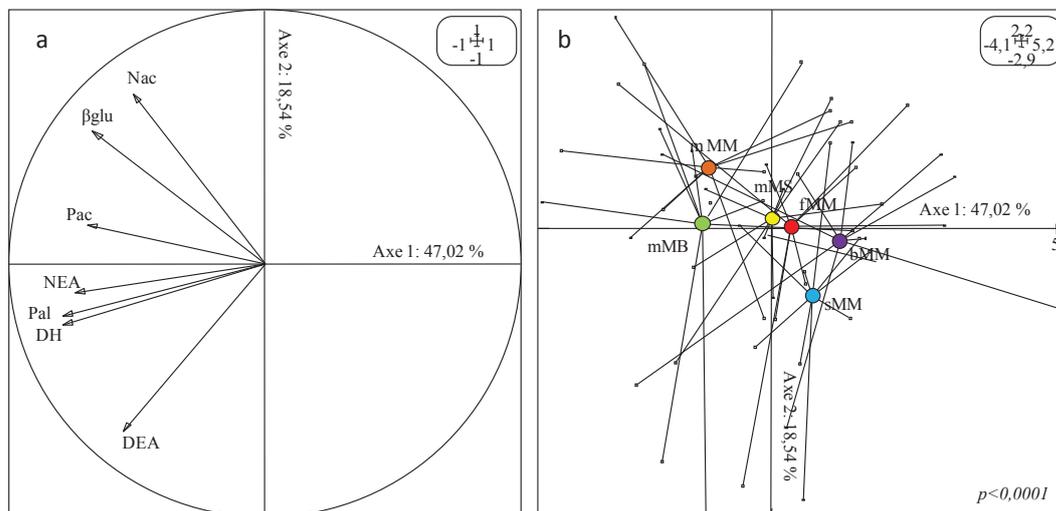


Figure 49. Analyse en composantes principales (ACP) réalisée à partir des sept activités enzymatiques du sol mesurées dans les sous-parcelles des six traitements en fonction des cycles de culture. (a) cercle de corrélation et (b) projection des différents échantillons de sol dans le plan factoriel de l'axe 1 et 2. Pac: phosphatase acide; Pal: phosphatase alcaline; β -Glu: β -glucosidase; Nac: N-acétyl- β -Glucosaminidase; DH: déshydrogénase; NEA: activité nitrifiante ; DEA: activité dénitrifiante. Six traitements ont été étudiés: bMM : rotation maïs-maïs sur sol nu; sMM : rotation maïs-maïs sur brûlis ; mMM : rotation maïs-maïs sur mulch ; mMB : rotation du maïs-niébé sur mulch; mMS : rotation maïs-soja vert sur mulch ; fMM : rotation maïs-maïs avec fertilisation chimique.

IV.1.3. Relations entre les activités enzymatiques et les variables édaphiques du sol

Le coefficient de corrélation de Pearson (r) a été utilisé pour quantifier les relations existantes entre les activités enzymatiques elles-mêmes d'une part et d'autre part entre les activités enzymatiques et les propriétés physicochimiques (Tableau 5). La matrice r montre que la plupart des activités enzymatiques du sol présentent des relations significatives ($p < 0,05$) entre elles, en fonction de tous les traitements et nombre de cycles culturaux confondus. En effet, les résultats obtenus présentent plusieurs caractéristiques intéressantes. Par exemple, l'activité de la Pac était corrélée positivement à toutes les autres activités enzymatiques étudiées (Pal^{***}, Nac^{*}, β -Glu^{***}, DH^{**}, DEA^{*}, NEA^{*}). L'activité de la Pal présentait une corrélation positive et significative avec les activités β -glu^{**}, DH^{***}, NEA^{***} et DEA^{***}. Une tendance similaire a été observée entre l'activité de la Nac et celle de la β -glu^{***} et la NEA^{**}. Quand à la β -glucosidase, son activité était corrélée significativement et positivement avec l'activité de la DH^{**} et la NEA^{**}. En outre, la DH a affiché de fortes relations positives et significatives avec la NEA^{***} d'une part et la DEA^{***} d'autre part. Puis une corrélation positive et significative a également été observée entre la NEA et la DEA^{***}.

Concernant les corrélations entre les variables édaphiques et les activités enzymatiques du sol, les résultats ont montré que l'humidité du sol était significativement corrélée à la plupart des activités enzymatiques (Pal^{**}; Pac^{**}; NEA^{**}, DEA^{***}, DH^{***}, β -glu^{**}) excepté la Nac (Tableau 5). La même tendance a été observée avec la teneur en C.org et la majorité des activités enzymatiques (Pal^{*}; β -glu^{*} NEA^{*}; DEA^{*}; DH^{**}), excepté l'activité de la Pac et la Nac. Le rapport C/N était significativement corrélé aux activités de la Pal^{*}, β -glu^{**}, NEA^{*} et à l'humidité du sol^{*}. Le pH a montré une corrélation positive avec l'activité de la Pal^{**}, DH^{**}, NEA^{**}, et DEA^{***}. De plus, la teneur en nitrate était significativement corrélée aux activités de la Pal^{*}, Nac^{*}, β -glu^{**}, la NEA^{***} et au pH_{eau} ^{*}. Le $P_{\text{assimilable}}$ était corrélé à l'activité de la DEA^{*} et de la Pal^{*}.

Tableau 5. Correlations entre les activités enzymatiques et les variables édaphiques. Valeurs r extraites des corrélations de Pearson entre les paramètres du sol (demi-partie inférieure gauche de la table). Valeurs P pour les mêmes corrélations (moitié droite-supérieure de la table). NS: pas significatif. 0,5 <* < 0,1 ; ** < 0,01 ; *** < 0,001. Les paramètres du sol sont Pac: phosphatase acide; Pal: phosphatase alcaline; Nac: N-acétyl- β -Glucosaminidase; β -Glu: β -glucosidase; DH: déshydrogénase, NEA: activité nitrifiante; DEA: activité dénitrifiante; $P_{\text{assimilable}}$: phosphore disponible pH; Humidité: Humidité; NH_4^+ : ammonium; NO_3^- : nitrate; C. org: carbone organique du sol; N_{tot} : azote total; C/N: rapport carbone azote;

	Pac	Pal	Nac	β Glu	DH	NEA	DEA	P_{assimil}	pHeau	Humidité	NH_4^+	NO_3^-	C. org	N_{tot}	C/N
Pac	•	0,0003	0,0283	0,0001	0,0014	0,0336	0,0339	NS	NS	0,0018	NS	NS	NS	NS	NS
Pal	0,47	•	NS	0,0071	0,0001	0,0001	0,0026	0,0245	0,0058	0,0056	NS	0,0400	0,0396	NS	0,0166
Nac	0,29	0,22	•	0,0001	NS	0,0040	NS	NS	NS	NS	NS	0,0107	NS	NS	NS
β Glu	0,51	0,36	0,51	•	0,0042	0,0052	NS	NS	NS	0,0048	NS	0,0025	0,0229	NS	0,0022
DH	0,42	0,64	0,24	0,38	•	0,0002	0,0003	NS	0,0045	0,0009	NS	NS	0,0035	NS	NS
NEA	0,28	0,51	0,38	0,37	0,48	•	0,0003	NS	0,0013	0,0017	NS	0,0001	0,0245	NS	0,0155
DEA	0,28	0,40	-0,05	0,08	0,47	0,47	•	0,0179	0,0001	0,0005	NS	NS	0,0371	NS	NS
P_{assimil}	0,22	0,30	-0,03	0,16	0,24	0,16	0,32	•	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
pHeau	-0,01	0,37	0,06	-0,02	0,38	0,42	0,59	0,17	•	0,0298	NS	0,0186	NS	NS	NS
Humidité	0,41	0,37	0,06	0,37	0,44	0,41	0,45	0,08	0,29	•	NS	NS	0,0009	NS	0,0396
NH_4^+	-0,06	-0,14	0,01	-0,08	-0,00	-0,13	-0,04	-0,03	-0,21	-0,15	•	NS	NS	NS	NS
NO_3^-	0,13	0,28	0,34	0,40	0,26	0,53	0,27	0,20	0,31	0,20	0,01	•	0,0045	NS	0,0185
C. org	0,23	0,28	0,26	0,30	0,39	0,30	0,28	0,12	0,22	0,43	0,02	0,38	•	NS	0,0018
N_{tot}	-0,00	-0,13	-0,06	-0,13	-0,04	-0,21	-0,07	0,19	-0,20	-0,21	0,18	0,10	0,04	•	0,0001
C/N	0,09	0,32	0,17	0,40	0,17	0,37	0,10	0,02	0,10	0,28	-0,08	0,31	0,41	-0,62	•

IV. 3. Discussion

IV.3.1. Impact des traitements et des cycles de culture sur les caractéristiques chimiques et activités enzymatiques du sol

Les pratiques agricoles ont globalement influencés les caractéristiques chimiques du sol. L'ACP réalisée sur les données des paramètres chimiques mesurés (Figure 45) a permis de ségréger clairement les traitements en 3 groupes : le groupe 1 duquel se détache les sous-parcelles fMM d'une part, le groupe 2 composé des sous-parcelles mMB, mMS, mMM et sMM et d'autre part du groupe 3 duquel se détache les sous-parcelles bMM. Les sous-parcelles fMM se détachent du groupe par sa projection sur l'axe 2 qui porte effectivement la variance de N_{tot} , NH_4^+ , NO_3^- et $P_{\text{assimilable}}$. Ce résultat n'est pas inattendu puisque que les sous-parcelles fMM, ont été fertilisées chimiquement avec de l'engrais à raison de 150 kg ha^{-1} de N-NPK et 100 kg N-urée/ha soit $0,3 \text{ kg de N-NPK}$ et $0,2 \text{ kg N-urée/sous-parcelle/cycle}$ de culture. L'azote contenu dans l'engrais utilisé était précisément sous forme de sulfate d'ammonium. Toutefois, les travaux de Assémien *et al.* (2017) ont montré que la variété de maïs (maïs jaune, type PIONEER), utilisée comme culture test dans cette étude, utilisait préférentiellement du NO_3^- pour sa nutrition azotée. Ainsi, les NO_3^- étaient absorbés par les plants de maïs au détriment de NH_4^+ , d'où ces teneurs élevées de NH_4^+ (Figure 44g) observées dans les sous-parcelles fMM. Toutefois, il faut noter que les sous-parcelles mMB présentaient des profils très semblables à ceux des sous-parcelles fMM en termes de niveaux de N_{tot} , NH_4^+ , NO_3^- et de $P_{\text{assimilable}}$ avec en plus les niveaux les plus élevés d'humidité du sol (Figure 45) contrairement au sous-parcelles de mMS. Ce résultat pourrait s'expliquer par l'effet combiné de la culture et l'apport du paillis de niébé sur les sous-parcelles mMB au 3^{ème} et 5^{ème} cycle de culture.

En effet, des observations faites sur le terrain ont révélé que les sous-parcelles de niébé ont produit la plus grande biomasse végétale fraîche comparée aux sous-parcelles de soja vert. Ainsi, en plus de la fixation de l'azote atmosphérique à travers les nodules, la décomposition de la biomasse de niébé aurait enrichi d'avantage le sol comparé à celle du soja vert. Aussi, la biomasse végétale de niébé produite a fourni une quantité importante de résidus de récolte qui constituent une source de matières organiques susceptibles de restaurer les sols cultivés et de les enrichir en éléments minéraux disponibles (Konaté *et al.*, 2012).

Par ailleurs, des résultats similaires ont été observés par Konaté *et al.* (2012) dans leur étude sur les alternatives à la fertilisation minérale des sols en riziculture pluviale de plateau au Centre-ouest de la Côte d'Ivoire. En effet, ces auteurs ont observé une activité plus intense des bactéries symbiotiques (Rhizobia) du niébé (un type de haricot) contrairement à celle du soja (*Glycine max*).

Par conséquent, le fait que le profil des sous-parcelles mMB soit proche de celui des sous-parcelles fMM dans leur projection sur l'axe 1 de l'ACP, montre bien que l'insertion des légumineuses, notamment le niébé couplé au paillage pourrait être une bonne alternative à l'utilisation des engrais chimiques dans ces sols. Par ailleurs, les sous-parcelles de mMS étaient très attendues après les sous-parcelles mMB notamment en termes de teneurs en éléments nutritifs et d'humidité du sol, puisque qu'il s'agissait d'une sous-parcelle sous rotation maïs/soja vert (légumineuse). Contrairement à cette attente, ce sont plutôt les sous-parcelles mMM qui se sont positionnées après les sous-parcelles mMB et ont présenté un profil plus intéressant concernant les paramètres caractéristiques de la fertilité des sols. Au regard de ces résultats obtenus, le paillage avec les fanes de maïs (mMM) semble être une pratique mieux adaptée en termes d'amélioration de la fertilité des sols que les sous-parcelles de soja vert (mMS) sur ces sols. En ce qui concerne le traitement brûlis, l'ACP (Figure 45) avait également discriminé les sous-parcelles sMM en les rapprochant (selon l'axe 1 et les variables $P_{\text{assimilable}}$, NO_3^- et C. org) des sous-parcelles soumises au paillage. Cette ségrégation pourrait trouver une explication dans le fait qu'en réalité, le brûlis est un mode de gestion des sols mis en place après avoir brûlé les résidus végétaux présents sur les sous-parcelles, préalablement défrichées et sur lesquels les cendres obtenues ont été répandues sur toutes les sous-parcelles concernées. Ainsi telle que décrite, la pratique de la culture sur brûlis apparaîtrait comme un type de fertilisation à base des cendres de résidus végétaux contenant principalement de la calcite, mais aussi des carbonates de potassium et des oxydes et hydroxydes de K, Ca, Mg, Na (Demeyer *et al.*, 2001; Ulery *et al.*, 1993). En effet, ces cendres, composés à majorité de minéraux sont des sources importantes d'éléments nutritifs utiles immédiatement disponibles pour la croissance des plantes, de deux manières. Tout d'abord, les cendres ont un fort pouvoir alcalin dû à la présence d'oxydes et de carbonates. Ils augmentent le pH du sol, favorisent l'activité microbienne et stimulent donc la disponibilité des éléments nutritifs dans le sol (Demeyer *et al.*, 2001). Ceci est particulièrement utile sur les sols acides tropicaux. Deuxièmement, les cendres contiennent elles-mêmes des éléments

nutritifs. Par conséquent, la plupart des éléments nutritifs libérés (environ 50 %) sont soit du potassium (K), soit du calcium (Ca) (Ohno et Erich, 1990).

Cependant, cette disponibilité des éléments nutritifs est fortement affectée en ce qui concerne le $P_{\text{assimilable}}$, à partir du 4^{ème} cycle de culture (Figure 44d). Ainsi, l'effet fertilisant observé semble donc transitoire. De plus, ces savanes humides sont considérées comme étant des écosystèmes limités en éléments nutritifs, principalement en N et en P, qui sont des facteurs limitant de la production primaire (Leriche *et al.*, 2003). Cette limitation est due (i) à la structure argilo sableuse de ces sols ne favorisant pas la rétention des minéraux ; (ii) à différentes fortes perturbations comme les feux de brousse et herbivorie ; et (iii) au climat de type intertropical humide (alternance de saisons sèches et pluvieuses) favorisant les pertes par lessivage ou l'altération de l'activité microbienne par cycles de sécheresse-humidification (Abbadie *et al.*, 1992). Dans ces conditions, la culture sur brûlis ne peut être considérée comme une pratique durable dans cette zone. De nombreuses études ont également montré que l'agriculture itinérante sur brûlis est loin d'être une pratique agricole durable pour la qualité de l'environnement, car elle entraîne la dégradation des propriétés physico-chimiques des sols et la baisse de leur fertilité (Materechera et Mkhabela, 2001), surtout sur le long terme (Koutika *et al.*, 2005a ; Styger *et al.*, 2007).

Des études antérieures ont montré que les caractéristiques chimiques des sols sont affectées par l'exploitation continue des terres (Koulibaly *et al.*, 2010 ; N'Goran *et al.*, 2012). Ces rapports sont en accord avec les résultats observés dans cette étude (Figure 44). En effet, le pH, le C.org, le $P_{\text{assimilable}}$, N_{tot} , NH_4^+ et le rapport C/N ont montré des variations très significatives en fonction du nombre des cycles de culture. S'agissant du pH, sa baisse en fonction de la succession des cycles cultureux serait le résultat de l'acidification progressive des sols. Cette baisse du pH pourrait induire une baisse de l'activité microbienne telle que présentée par la baisse de l'activité déshydrogénasique (Figure 47b). Selon Kemmitt *et al.* (2006), à des valeurs de pH proches de l'acidité, une bonne partie de la matière organique reste inactive car l'activité microbienne s'en trouve fortement limitée. En outre, la variation du pH peut aussi affecter la disponibilité des éléments nutritifs dans le sol. Dans de telles conditions, le chaulage des sols serait une solution indiquée lors des cycles continus de culture.

La teneur en N_{tot} a augmenté de manière très significative du 3^{ème} au 5^{ème} cycle de culture. Ce résultat pourrait s'expliquer par une accumulation de cet élément nutritif consécutive à l'insertion de ces légumineuses au cours des cycles, mais également aux résidus de culture, et à l'épandage d'engrais chimique.

En dépit de l'apport répété d'engrais chimique, la teneur en $P_{\text{assimilable}}$ était légèrement plus élevée dans les sous-parcelles mMB par rapport aux sous-parcelles fMM aux 3^{ème} et 5^{ème} cycles. En effet, l'insertion du niébé aurait contribué à augmenter les niveaux de $P_{\text{assimilable}}$ puisque que les teneurs enregistrées étaient très proches de celles des ions orthophosphatés fournis par le phosphore inclus dans la formulation de l'engrais minérale utilisé [NPK (15-15-15) + 13 SO_3 + 9CaO] pour ces travaux. En effet, la teneur en $P_{\text{assimilable}}$ observée dans ces sous-parcelles est supérieure, et particulièrement intéressante dans la mesure où le P constitue l'un des principaux facteurs limitants à la productivité des sols des savanes en Afrique de l'Ouest (Gilot-Villeneuve, 1994 ; Koné *et al.*, 2008b). Gnahoua *et al.* (2008), ont également mis en évidence la capacité des jachères à base de légumineuses (*Acacia mangium* et *Acacia auriculiformis*) à augmenter les teneurs en $P_{\text{assimilable}}$ du sol. Par ailleurs, Yadav et Tarafdar (2001) ont constaté que les légumineuses sécrètent plus de phosphatases que les céréales. Ces auteurs affirment que ce constat est probablement dû à une exigence plus élevée de P par les légumineuses dans le processus de fixation de l'azote symbiotique comparé aux céréales. Li *et al.* (2004) ont également rapporté que les racines de pois chiches (un type de légumineuse) étaient également capables de sécréter de plus grandes quantités de phosphatase acide que le maïs.

Généralement, le niveau le plus faible de C. org a été observé au 4^{ème} cycle de culture principalement dans les sous-parcelles de sol nu (bMM). De plus, la valeur moyenne obtenue au 3^{ème} cycle de culture (tout traitement mis ensemble) était de 2,6 %. Cette valeur a connu une baisse d'environ 1,6 fois sa valeur précédente pour finalement connaître une augmentation de sa valeur au 5^{ème} cycle de culture, soit 1,6 fois celle du 4^{ème} cycle. Ce résultat laisse présager que la teneur en C.org a probablement été plus influencée par les traitements plutôt que par le nombre de cycle. L'effet des cycles culturaux sur le statut organique des sols a montré que plus les sols sont cultivés de façon continue, plus le rapport C/N et le pH_{eau} baissent (Figure 44a et f). En effet, le rapport C/N est un facteur essentiel de la dynamique du carbone et de l'azote. Ce rapport C/N fournit d'utiles indications sur l'évolution de la matière organique du sol (Gagnard *et al.*, 1988), et est un indicateur qui permet de juger du degré d'évolution de la matière organique, c'est-à-dire de son aptitude à se décomposer plus ou

moins rapidement dans le sol (Giroux et Audesse, 2004). Aux trois classes de valeurs de rapport C/N, correspondent les appréciations suivantes (Gagnard *et al.*, 1988) : (1) inférieur à 8, rapport faible ; (2) compris entre 8 à 12, rapport normale ; (3) supérieur à 12, rapport fort. Dans cette étude les rapports C/N au 3^{ème} cycle était généralement supérieur à 12, donc fort excepté ceux des sous parcelles bMM (11,21) et sMM (11,72) qui avaient des rapports normaux. Le rapport le plus important était de 14,23 dans les sous-parcelles mMB. Au 4^{ème} cycle de culture, ces rapports étaient généralement compris entre 8 et 12, donc normaux excepté ceux enregistrés respectivement dans les sous-parcelles bMM (3,95), mMM (5,99) et sMM (7,83) qui étaient relativement faibles. Cependant le rapport le plus élevé a été enregistré dans les sous-parcelles mMB (9,35). Au 5^{ème} cycle de culture tous les rapports C/N enregistrés étaient inférieurs à 8, donc faibles. La valeur la plus élevée était celle des sous-parcelles sMM (7,02). Ces résultats pourraient être scindés en 2 lots en fonction des tendances observées et de l'interprétation agroécologique associée. Ainsi, en tenant compte des travaux de Soltner (2000), dans ces sols deux lots pourraient être distingué : le lot 1 constitué des sous-parcelles ayant des rapports C/N inférieurs à 10 et le lot 2 regroupant les sous-parcelles ayant des rapports C/N supérieurs à 10. Généralement les sous-parcelles du lot 1 étaient celles appartenant au 4^{ème} et 5^{ème} cycle de culture (C/N inférieur à 10). Ces résultats pourraient traduire une bonne activité biologique conduisant à la minéralisation de la matière organique, puisque que dans les sols cultivés le rapport C/N s'abaisse davantage. Un rapport C/N faible traduit donc des conditions très favorables de forte minéralisation de la matière organique suite à une bonne activité biologique dans le sol. Toutefois, il faut garder à l'esprit que le rapport C/N reste un indicateur. Par exemple pour une végétation, un rapport C/N bas traduit davantage un stade juvénile qu'une quantité d'azote disponible. A ce stade la plante dispose de sucres encore peu complexes (plutôt du glucose que de la cellulose ou de la lignine) qui peuvent servir d'aliment à l'activité biologique (Archambeau, 2017). Or, une activité biologique rhizosphérique « dopée au sucre » permet de libérer plus rapidement les éléments contenus dans la matière organique et de nourrir plus activement la plante. A l'inverse, les sous-parcelles du lot 2 appartenant au 3^{ème} cycle de culture avaient des rapports C/N supérieur à 10. Ce résultat traduirait une activité biologique réduite conduisant à une humification (Soltner, 2000).

Dans cette étude, les résultats suggèrent qu'il y a eu (1) le déclenchement dans les sous parcelles du 3^{ème} cycle du processus d'humification au cours duquel les organismes vivants ont ingéré la matière organique ou sécrété des enzymes qui l'ont transformé en humus stable

et (2) une tendance à l'accélération de l'activité de la biomasse microbienne et à l'amélioration de la mise à disposition de la matière organique aux micro-organismes du sol (Fabre et Kockmann, 2006) principalement dans les sous-parcelles des 4 et 5^{ème} cycles de culture.

De nombreuses études ont démontré l'amélioration de la stabilité structurale des sols et l'augmentation de la porosité causée par le paillis organique, ce qui favorise l'infiltration et la rétention de l'eau et limite le lessivage (Sharma *et al.*, 1990 ; Acharya *et al.*, 2005). Il convient de rappeler que le 3^{ème} cycle de culture s'est caractérisé par l'insertion de légumineuses sur les sous-parcelles mMS et mMB. En revanche, le 4^{ème} cycle était caractérisé par un semis de maïs sur toutes les parcelles. Puis au 5^{ème} cycle, il y a eu à nouveau une insertion de soja vert et de niébé sur les sous-parcelles mMB et mMS. Les résultats ont montré que généralement les paramètres mesurés ont diminué au 4^{ème} cycle pour amorcer une augmentation au 5^{ème} cycle consécutive à l'insertion des légumineuses. En effet, au 4^{ème} cycle de culture les plants de maïs semés sur toutes ces sous-parcelles auraient exporté une bonne partie des éléments nutritifs du sol mis à sa disposition par les types de cultures précédents. En effet, cette tendance montre bien que l'insertion des légumineuses a contribué à restaurer les éléments nutritifs du sol puisés par le maïs au cours du cycle cultural précédent. Cela suggère que les systèmes de rotation mis en place sont susceptibles de renouveler constamment les stocks d'éléments nutritifs dans les sols (Coulibaly *et al.*, 2012) et seraient ainsi des stratégies durables d'exploitation des sols dans la zone. En particulier, après 5 cycles de cultures successives, les résultats indiquent que la pratique du paillage couplée à la rotation maïs/niébé pourrait être la meilleure pratique visant une gestion durable des sols dans cette zone d'étude. Cette pratique a au cours des différents cycles de culture, contribué à l'enrichissement et à la préservation des éléments nutritifs du sol, et à l'amélioration des paramètres de la qualité des sols. Toutefois, une évaluation de cette pratique selon les exigences (la viabilité économique, l'innocuité environnementale et l'équité sociale) en la matière (Barbier et Lopez-ridaura, 2010) et les indicateurs de l'échelle de durabilité agro-écologique (Topanou *et al.*, 2015) pourra être réalisée. Cela afin de mesurer comment la pratique du paillis avec insertion de haricot contribue véritablement à la durabilité des sols de cette région.

Les activités enzymatiques mesurées ont été sensibles aux pratiques agricoles testées et peuvent être utilisées comme indicateurs de la qualité et de la durabilité des sols comme indiqué par Zhang *et al.* (2010). García-Ruiz *et al.* (2009) ont rapporté que les enzymes du

sol sont sensibles aux pratiques agricoles. En effet, la seconde ACP réalisée (Figure 49) a révélé 3 groupes distincts : le groupe 1 composé des sous-parcelles mMM et mMB, le groupe 2 composé des sous-parcelles mMS et fMM et le groupe 3 composé des sous-parcelles sMM et bMM. Les sous-parcelles mMB et mMM sont caractérisées par les activités enzymatiques les plus élevées. Ce résultat suggère que le paillage améliorerait l'activité biologique dans ces sols. En fait, dans ce système de culture, les champignons et les bactéries sont responsables d'une grande transformation chimique durant la décomposition et la libération des éléments minéraux (Bodovololona *et al.*, 2008). Dans ces sols de savanes humides connues pour des niveaux relativement faibles en N et P, et dans lesquels l'usage de l'engrais minéral n'apparaît pas comme un moyen efficace de fertilisation des sols (Assémien *et al.*, 2017), le paillage apparaît comme un atout pour la gestion durable des sols.

De façon générale, les activités enzymatiques (Pac, Pal, Nac, NEA, β -glu, et DH) ont diminué entre le 3^{ème} et le 4^{ème} cycle de culture suivie d'une légère augmentation de celles-ci au 5^{ème} cycle, excepté pour la DEA. Ces activités enzymatiques du sol sont majoritairement d'origine microbienne car des études de corrélations ont déjà indiquées qu'elles étaient corrélées à l'activité de la DH (voir Chapitre 1). En fait, la DH est une activité enzymatique utilisée comme proxy de l'activité globale microbienne du sol, et cette diminution observée traduirait un ralentissement de l'activité des microorganismes du sol et pourrait être la conséquence d'une acidification progressive de ces sols. En effet, les valeurs de pH observées ont généralement eu tendance à diminuer en fonction des cycles de cultures observés. En outre, Wolińska et Stępniewska, (2012) ont révélé que le pH peut affecter de manière significative cette activité enzymatique. Toutefois, ces mêmes activités enzymatiques ont eu tendance à augmenter au 5^{ème} cycle de culture. Ce résultat pourrait traduire l'activation de la matière organique du sol restée inactive à cause du ralentissement de l'activité des micro-organismes du sol et à une minéralisation de la matière organique du sol suite à une accumulation des résidus de culture (maïs, soja vert, niébé) au cours de ce cycle.

En revanche, la tendance inverse a été observée pour l'activité de la DEA. Cette activité a eu tendance à augmenter entre le 3^{ème} et le 4^{ème} cycle de culture et diminuer entre le 4^{ème} et le 5^{ème} cycle. Ce résultat pourrait trouver une explication dans les niveaux d'humidité du sol élevés au cours de ce 4^{ème} cycle. En effet, ces niveaux d'humidité élevés (valeurs moyennes comprises entre 13,45 et 14,52 %), observés au 4^{ème} cycle de culture serait la conséquence des valeurs de précipitations. En effet, ces précipitations représentaient les valeurs les plus élevées

(valeurs comprises entre 200 et 250 mm) relevées et illustrées dans le graphique du diagramme ombrothermique (Figure 6) pour la période. La conséquence directe de ces valeurs élevées de précipitations est traduite par les niveaux élevés d'humidité du sol observés pour cette même période. Il faut noter que, la dénitrification est une succession de réactions de réduction, du nitrate (NO_3^-) jusqu'au diazote (N_2), et se produit lorsque l' O_2 du sol devient limitant (Philippot *et al.*, 2007). Ainsi, comme les interstices du sol étaient très souvent gorgés d'eau au 4^{ème} cycle de culture, l'activité des bactéries dénitrifiantes du sol est devenue plus performante, d'où ces niveaux élevés de DEA observés. Cela suggère que le processus de la dénitrification serait plus intense en saison pluvieuse dans la zone d'étude.

IV.3.2. Relation entre les caractéristiques chimiques et biochimiques du sol

Des corrélations significatives et intéressantes ont été observées entre les caractéristiques physico-chimiques et enzymatiques du sol. Par exemple, une corrélation positive et forte a été observée avec le groupe d'activités enzymatiques du cycle de N, notamment la Nac, la NEA et la DEA et celle l'activité DH. Cette corrélation observée entre ces activités enzymatiques et la DH pourrait trouver une explication dans l'origine et le rôle de la DH (Liu *et al.*, 2008 ; Salazar *et al.*, 2011 ; Wolińska et Stepniewska, 2012). En outre, la corrélation entre la NEA et la DEA est logique et attendu puisque que ces deux activités enzymatiques sont impliquées dans le cycle de N, et respectivement produites par les nitrifiants et les dénitrifiants. En effet, dans le cycle de N, la nitrification est un processus microbien au cours duquel l'ion NH_4^+ est successivement oxydé en NO_2^- puis en NO_3^- . Et c'est ce NO_3^- produit, qui est utilisé comme substrat par les dénitrifiants de ce cycle afin de réaliser la réaction de dénitrification enzymatique. Ainsi, il existe une complémentarité entre ces deux activités enzymatiques. Le tableau de Pearson a également révélé une corrélation entre la Pac et toutes les six autres activités enzymatiques (Pal, Nac, β -glu, DH, DEA, NEA). Cette corrélation pourrait être dû au fait que l'activité de la phosphatase acide est fortement liée à la libération de N et P dans la solution du sol (Boerner *et al.*, 2000). En effet, il semble que la plupart des activités enzymatiques auxquelles la Pac est corrélée sont effectivement des activités enzymatiques majoritairement impliquées dans les cycles du P et de N, hormis la β -glu et la DH.

Par contre pour la corrélation entre la Pac et le groupe composé par la β -glu et la DH, cette corrélation pourrait trouver une explication dans l'origine microbienne de ces trois activités enzymatiques, le couplage des cycles C, N, P, la stœchiométrie bactérienne et le partage de

substrats. En fait, la Pac est une activité enzymatique principalement d'origine végétale et fongique (Tarafdar et Marschner 1994). Quant à la β -glu, celle-ci provient principalement des mucorales (ordre de champignons) tels que les *Actinomucor* ou les *Mortierella* (Hayano et Tubaki, 1985) et la DH de l'activité microbienne globale dont la localisation principale est la membrane plasmique des bactéries ou dans les membranes mitochondriales des champignons (Aon et Coloneri, 2001). En outre, plusieurs facteurs édaphiques telles que l'humidité du sol, le contenu en matière organique, le pH, la teneur en NO_3^- , le $\text{P}_{\text{assimilable}}$ peuvent affecter de manière significative les activités enzymatiques du sol. Par exemple, le Tableau 5 a révélé une corrélation entre l'humidité du sol et un groupe de six activités enzymatiques (Pac, Pal, NEA, DEA, β -glu, DH). La plupart de ces activités enzymatiques sont généralement d'origine microbienne, certaines d'origine fongique et/ou bactérienne (Aon et Coloneri, 2001 ; Makoi et Ndakidemi, 2008 ; Gao *et al.*, 2010). Or, l'humidité du sol est un des principaux moteurs régulant la disponibilité ou pas en oxygène des micro-organismes du sol. Par exemple, l'activité de la DH du sol a montré une sensibilité considérable aux légères diminutions de la disponibilité en eau du sol (Sardans et Peñuelas, 2005). De plus, l'humidité du sol régie l'ensemble des processus microbiens qui pour certains sont anaérobie ou aérobie strictes. A ce sujet, l'humidité du sol est également pris en compte parmi les principaux facteurs qui affectent l'activité des bactéries dénitrifiantes du sol (Dannenmann *et al.*, 2008). La matière organique, décomposée par des micro-organismes constitue environ 50 % de carbone organique. Grâce à ce processus de décomposition, le stock de carbone organique est en perpétuel renouvellement dans le sol déterminant ainsi de nombreuses propriétés édaphiques telles que la fertilité, la structure du sol et la biodiversité (Pallo *et al.*, 2008). Abraham (2013) a rapporté que le carbone organique est l'un des éléments majeurs de la matière organique du sol. Le Tableau 5 a montré que le C.org était corrélé au groupe des cinq activités enzymatiques (Pal, β -glu, DH, DEA, NEA). Ces corrélations peuvent s'expliquer par plusieurs rapports antérieurs. En fait, il a été rapporté que l'activité de la β -glu est corrélée à la quantité de carbone organique contenu dans le sol (Tabatabai, 1994). Selon Landgraf et Klose (2002), l'activité β -glu est régie par les quantités de carbone organique facilement minéralisable. De plus, la DH utilise généralement comme substrat, le carbone organique facilement disponibles dans le sol (Fraser *et al.*, 1988). Xu et Cai (2007) ont montré que la capacité de dénitrification n'était pas corrélée au pH du sol dans les sols subtropicaux humides, mais à la teneur en carbone organique. Le pH du sol est largement accepté comme un facteur dominant qui régule la biodisponibilité des éléments nutritifs du sol, la composition

de la communauté microbienne et la productivité primaire des plantes (Geisseler et Scow, 2014 ; Lu *et al.*, 2013). Une corrélation a été observée entre le pH le groupe d'activité enzymatique composé de la DH, NEA, et de la DEA. Le pH peut affecter de manière significative la DH du sol (Wolińska et Stępniewska, 2012). De nombreuses études suggèrent que certains groupes de AOA, l'un des acteurs microbiens du processus de la nitrification du sol préfèrent des pH inférieur à 5,5 (Nicol *et al.*, 2008 ; Gubry-Rangin, 2010 ; Yao *et al.*, 2013).

En réalité, il existe deux types de corrélations mettant en évidence d'une part le couple (1) Enzyme-Produit et d'autre part le couple (2) Enzyme-Substrat. Dans (1) plus l'activité de l'enzyme est élevée dans le sol, plus il y a une production importante du produit. Dans (2) plus la disponibilité du substrat dans le sol est importante, plus il y'a une augmentation de la synthèse de l'enzyme et donc de sa sécrétion dans le sol. Dans ce cas de figure, une corrélation intéressante a également été observée entre le NO_3^- et le groupe composé des activités de la Nac et la NEA. Cette dernière correspond au 1^{er} type de corrélation (Enzyme-Produit). Cette corrélation entre la NEA et le NO_3^- traduit le fait que l'augmentation de l'activité NEA a entraîné une production importante de NO_3^- dans le sol.

En fait, lors du processus réactionnel de la nitrification, le NH_4^+ a été oxydé en NO_3^- . C'est donc l'activité de la NEA qui a concouru à produire du NO_3^- dans le sol. Le NO_3^- , produit de cette réaction sera à son tour utilisé par les dénitrifiants dans le processus réactionnel de la dénitrification. La corrélation entre le $\text{P}_{\text{assimilable}}$ et la Pal pourrait traduire la disponibilité en Phosphore dans le sol. En fait, la Pal du sol est une activité enzymatique d'origine microbienne. Cette activité produite par les micro-organismes du sol, eux-même responsables de la transformation du P du sol en ions orthophosphates Pi (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} et PO_4^{3-}) et mis à la disposition de la plante. En fait plus il y aura de Pal impliquées dans le processus de la minéralisation du phosphore organique (PO), plus les ions orthophosphates (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} et PO_4^{3-}) seront libérés dans le sol et la litière, donc mis à la disposition de la plante.

IV.4. Conclusion partielle

Les résultats ont montré que les pratiques agricoles du sol notamment les traitements fertilisés ou amendés (fMM ; mMM ; mMB ; mMS) ont affecté les variables édaphiques du sol. Tous

ces traitements (fMM ; mMM ; mMB ; mMS) ont également affecté de manière significative et positivement les activités enzymatiques du sol et ont contribué à favoriser une expression remarquable de ces activités enzymatiques. Globalement, les différents cycles de cultures ont impacté significativement les variables du sol. Ces cycles culturaux ont eu une influence positive sur la teneur en C.org, pH, N_{tot} , NH_4^+ , $P_{assimilable}$, négative sur le pH_{eau} du sol, et le rapport C/N, et plus mitigée avec l'humidité du sol.

Les activités enzymatiques du sol, ont majoritairement été influencées de manière significative par le nombre de cycle. Cette influence était positive au niveau de la Pac, Pal, NEA, Nac, β -glu et la DH et négative avec la DEA.

Par ailleurs, des corrélations significatives et importantes ont été observées entre les activités enzymatiques elles-mêmes d'une part et entre les variables édaphiques et les activités enzymatiques d'autre part, à l'exception du NH_4^+ , $P_{assimilable}$, N_{tot} . Tous ces résultats obtenus ont donc permis de vérifier l'hypothèse de travail selon laquelle l'insertion des légumineuses, particulièrement le haricot en rotation culturale couplé à la pratique du paillage est une stratégie de gestion durable et adaptée pour les sols de la zone des savanes humides de Côte d'Ivoire comparée à la fertilisation minérale et la culture sur brûlis. Ainsi, la fertilité des sols de la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire dépendrait des pratiques agricoles du sol principalement des traitements à base de paillis de niébé et maïs, et d'engrais chimiques car l'accumulation d'éléments nutritifs dans ce type de gestion des sols est améliorée. De plus, après 5 cycles de cultures en continue le paillis de niébé pourrait être le meilleur candidat en terme de pratique visant une gestion durable des sols dans cette zone d'étude, puisse que cette pratique a au cours des différents cycles de culture, mis à la disposition du sol les éléments nutritifs de façon régulière, contribuer à l'enrichissement et à la préservation des éléments nutritifs du sol, et à l'amélioration des paramètres de la qualité des sols dans les traitements à base de paillis. Les légumineuses alimentaires notamment le niébé, ont donc la capacité d'améliorer la fertilité des sols de la région d'étude, leur insertion dans les systèmes de culture locaux pourrait être fortement utile.

PARTIE D : Conclusion générale et perspectives

V. Conclusion générale et perspectives

La nécessité de mettre en place des pratiques agricoles et modes de gestion des terres capables de renforcer et maintenir la fertilité des sols de la zone de savanes humides, est un défi majeur à relever. L'objectif de ces travaux était de comparer l'effet des pratiques traditionnelles locales (utilisation d'une période de jachère avant culture ; culture sur brûlis notamment), de pratiques innovantes (culture sur paillis, avec ou sans insertion de légumineuses alimentaires) et de pratique conventionnelle (bénéficiant d'une fertilisation chimique) sur les caractéristiques abiotiques et biotiques du sol. Cette recherche a conduit à l'obtention d'un certain nombre de résultats novateurs. Dans cette partie conclusive, nous reviendrons sur ceux-ci afin de tirer une conclusion générale et de proposer des perspectives de recherche.

Dans le chapitre I, l'effet de la pratique des jachères notamment celle des jachères à base de *Chromolaena odorata* sur des paramètres chimiques et enzymatiques des sols a été évalué en fonction de la profondeur du sol et de la durée de mise en jachère de ces sols. Les résultats de cette caractérisation initiale ont montré que seule la couche du sol (0-10 cm) est significativement modifiée par la jachère, et ont mis en évidence une trajectoire des propriétés du sol en fonction de l'âge des jachères. Ainsi, la fertilité des sols des jachères de *Chromolaena odorata* de la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire dépendrait principalement de la composition de la couche de sol 0-10 cm, car l'accumulation de nutriments dans les couches inférieures du sol durant la phase de jachère ne semble pas être efficace. Cela pourrait poser un problème, par exemple pour la culture de l'igname (aliment principal dans cette région) qui est cultivé en 'buttant' le sol typiquement de la couche 0-20 cm et qui nécessiterait donc une amélioration de la qualité du sol même dans la couche 10-30 cm. Le passage des feux de brousse expliquerait que l'accumulation de matière organique et de certains éléments nutritifs soient moins élevées qu'attendu (perte lors des feux ; c'est le cas pour le C pour des jachères âgées) soit localisée dans l'horizon de sol de surface (dépôt de certains éléments *via* les cendres ; c'est le cas du K, Mg).

Le dispositif mis en place sur des jachères d'âges différents intègre une certaine hétérogénéité spatiale. Ces sols de savanes humides de Côte d'Ivoire étaient déjà connus pour leur pauvreté en matière organique, en phosphore et en cations basiques, et pour leurs niveaux d'azote et de phosphore faibles. Les chapitres II et III ont permis de mettre en évidence l'effet

de pratiques agricoles innovantes sur deux groupes d'acteurs microbiens (nitrifiants et dénitrifiants) du sol,

qui ont un rôle clé dans le cycle de l'azote. **Les résultats du chapitre II** ont montré que, dans ces sols très pauvres en N, les nitrifiants sont adaptés à de très faibles niveaux de NH_4^+ . Plus encore, les taux de nitrification diminuent même si on augmente brutalement les niveaux de NH_4^+ , phénomène encore jamais montré dans la littérature. Les résultats ont montré que dans ces sols, les nitrifiants dominants ne sont pas capables de bénéficier de l'augmentation de la disponibilité en N induite par des épisodes de fertilisation récurrentes, et ce pendant 2,5 ans. Là encore, une telle situation n'avait encore jamais été observée dans la littérature et démontre à quel point les sols de cette zone sont particuliers de par leur pauvreté en éléments nutritifs. En raison de la faible capacité d'échange en cations du sol et du régime pluviométrique sub-équatorial, la fertilisation chimique a probablement induit des concentrations fluctuantes des teneurs en N, avec des niveaux élevés de NH_4^+ juste après chaque événement de fertilisation, en alternance avec des périodes de faibles niveaux. Ces fluctuations ralentissent sans doute le changement de composition de la communauté des bactéries oxydatrices de l'ammonium (AOB), et la sélection de taxons capables de faire face à des niveaux élevés et fluctuants de N et / ou capables d'utiliser l'urée comme source de N ; or ce changement est nécessaire avant que la nitrification puisse augmenter en réponse à la fertilisation chimique (apports d'ammonium sous différentes formes). Plus encore, les résultats ont également montré que le cultivar de maïs utilisé par les agriculteurs de la zone étudiée avait une forte préférence pour le NO_3^- (plutôt que le NH_4^+) pour sa nutrition azotée. Le blocage du cycle de N par les nitrifiants, à savoir leur faible capacité à convertir l'urée et le NH_4^+ des fertilisants en NO_3^- , empêche *in fine* un effet optimal de la fertilisation apportée sur le statut azoté du maïs, et ce pendant au moins 2,5 ans (durée des travaux menés).

Dans le chapitre III, l'effet de 6 pratiques agricoles sur l'activité et les abondances des dénitrifiants du sol et le risque de perte d'azote et d'émission de N_2O par dénitrification ont été évalués. Cette étude a permis de mettre en évidence les déterminants édaphiques (l'humidité, le carbone organique, le nitrate et/ou le pH du sol) affectant les réponses de l'activité et des abondances de différents groupes de dénitrifiants dans les sols très pauvres en N du centre de la Côte d'Ivoire. Une différenciation de niche écologique très nette a été mise en évidence entre les quatre groupes de bactéries dénitrifiantes étudiés : deux groupes

(réducteurs de nitrite de type *nirS* et réducteurs de N_2O de type *nosZI*) sont principalement pilotés par la teneur en N (nitrate) du sol, alors que les réducteurs de nitrite de type *nirK* et les réducteurs de N_2O de type *nosZII* sont principalement pilotés par le carbone organique (et l'humidité du sol selon un effet saisonnier pour les réducteurs de nitrite de type *nirK*). De plus, la pratique de culture sur paillis avec insertion de légumineuses aurait plutôt tendance à augmenter la perte potentielle d'N lors du processus de la dénitrification, sans doute en relation avec l'augmentation des concentrations en N et C dans le sol qu'elle génère. Il est donc impérieux de faire un choix judicieux des pratiques agricoles pour répondre à la fois aux objectifs de fertilité des sols et de préservation de l'environnement dans la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire.

Dans le chapitre IV, l'effet de ces différentes pratiques agricoles a été évalué pour mettre en évidence leur influence sur les caractéristiques chimiques et activités enzymatiques du sol. Globalement, les pratiques ont impacté significativement les variables du sol. Ces cycles culturaux ont eu une influence positive sur la teneur en C.org, N_{tot} , NH_4^+ , $P_{assimilable}$, négative sur le pH_{eau} du sol, et le rapport C/N, et plus mitigée avec l'humidité du sol. Les activités enzymatiques du sol, ont majoritairement été influencées de manière significative par le nombre de cycle mettant ainsi en évidence son effet significatif sur le couplage des cycles CNP. Cette influence était positive au niveau de la Pac, Pal, NEA, Nac, β -glu et la DH et négative avec la DEA. Par ailleurs, des corrélations significatives et importantes ont été observées entre les activités enzymatiques elles-mêmes d'une part et entre les variables édaphiques et les activités enzymatiques d'autre part, à l'exception du NH_4^+ , $P_{assimilable}$, et N_{tot} . Tous ces résultats ont permis de vérifier l'hypothèse de travail selon laquelle l'insertion des légumineuses, particulièrement le niébé en rotation culturale couplé à la pratique du paillage, est une stratégie de gestion durable et adaptée pour les sols de la zone des savanes humides de Côte d'Ivoire comparée à la fertilisation minérale et la culture sur brûlis.

Recommandations

D'après ces résultats, il paraît intéressant de proposer :

(i) pour la phase avant culture, et en tenant compte de la pression agraire de cette zone, l'utilisation de jachères à durée assez courte (au moins 4 ans) à base de *C. odorata* pour l'établissement des cultures, vu leur statut organique et biochimique intéressant, leur

concentration en certains nutriments essentiels aux plantes sous formes assimilables, en particulier pour la couche de sol 0-10 cm;

(ii) durant la culture, d'éviter l'utilisation d'engrais chimiques de type ammonium et urée lorsque les variétés cultivées dépendent fortement du nitrate. En effet, l'écologie des nitrifiants (incapacité à oxyder de forts niveaux d'ammonium/urée en nitrate) et la faible capacité de rétention de N dans ces sols doivent être pris en compte pour guider le choix des pratiques agricoles. La fertilisation par nitrate est sans doute problématique pour ces sols et sous ce climat sub-équatorial, du fait d'un fort risque de lessivage. Néanmoins, privilégier l'utilisation de variétés utilisant principalement l'ammonium est indispensable si l'on souhaite utiliser l'urée et l'ammonium comme fertilisant ou si l'on souhaite garder de l'azote dans le système. Les résultats obtenus montrent aussi que des mesures de nitrification à faible, moyen et fort taux d'ammonium pourraient permettre de fournir un indicateur de l'état de la communauté nitrifiante en cas d'utilisation d'engrais à base d'ammonium ou d'urée.

(iii) d'utiliser, en alternative à la fertilisation chimique, la pratique de paillage, possiblement avec insertion de légumineuses telles que le niébé, qui permet dans le temps d'obtenir une amélioration des teneurs en éléments nutritifs et C du sol. Cette pratique pourrait être moins onéreuse et plus adaptée pour augmenter progressivement et de façon durable la qualité des sols dans ces agro-écosystèmes. Par exemple, le CNRA et l'ANADER (structure étatique Ivoirienne du monde agricole), gagneraient à faire la promotion de ces pratiques culturelles à travers des fiches techniques et une sensibilisation auprès du monde paysan et de la communauté scientifique. Cependant la 'rançon du succès' pour ce type de pratique et l'amélioration des taux de N et C qui en découle est l'augmentation du risque de perte de N par dénitrification, et d'émission de N₂O qui est un puissant gaz à effet de serre. Des mesures d'émission réelle de ce gaz par les sols notamment dans le cas de la pratique de paillage avec insertion de légumineuses seront nécessaires pour quantifier ce problème.

Perspectives

En perspective, une expérimentation complémentaire pourrait être envisagée, avec les caractéristiques suivantes :

- expérimentation de plus long terme (au moins 5 ans), étant donné l'absence d'effet de la fertilisation azotée sur la nitrification du sol pendant 2,5 ans ;
- travail interdisciplinaire en vue de faire une comparaison socio-économique et environnementale de différentes pratiques, notamment : (1) culture sur brûlis ; (2) culture

avec fertilisation chimique ; (3) culture sur paillis avec insertion de niébé. Il s'agirait d'évaluer la viabilité économique (rendement en quantité et qualité et prise en compte des coûts en travail et intrants), l'effet environnemental (amélioration sur le long terme de la fertilité des sols ; quantification des pertes d'azote par lessivage et dénitrification) et l'équité sociale (partage des richesses, des droits à produire et du pouvoir de décision, mais aussi la transmissibilité des exploitations et le maintien de l'emploi agricole). Une telle expérimentation permettrait de mesurer la façon dont la pratique du paillis avec insertion de niébé contribue véritablement à la durabilité des socio-écosystèmes de cette région.

- évaluation de l'intérêt de certaines caractéristiques microbiennes (notamment la sensibilité de la nitrification au taux d'ammonium) en tant qu'indicateurs de l'état des sols en zone de savanes humides de Côte d'Ivoire. Ces caractéristiques pourraient être des révélateurs des précédents culturaux ainsi que des pratiques agricoles présentes.
- Evaluation de la qualité nutritionnelle et organoleptique du maïs issu des parcelles de paillis (mMM; mMS; mMB) en comparaison aux autres traitements (sMM; bMM; fMM) testés dans ces sols.

Références Bibliographiques

- Abbadie L., & Lata J-C. (2006). Nitrogen Dynamics in the Soil-Plant System. *In* Lamto: Structure, Functioning, and Dynamics of a Savanna Ecosystem Chapter 15 DOI 10.1007/0-387-33857-8_15 ISSN 0070-8356.
- Abbadie L., Lepage M., & Menaut J.C. (1996). Paradoxes d'une savane Africaine. *La Recherche* 186: 8-9.
- Abbadie L., Marioti A., & Menaut J-C. (1992). Independence of savanna grasses from soil organic matter for their nitrogen supply. *Ecology* 73: 608-613.
- Abraham J. (2013). Organic carbon estimations in soils: Analytical protocols and their implications. *Rubber Science*, 26: 45-54.
- Abua M.A., Offiong R.A., Iwara A.I. & Ibor U.W. (2010). Impact of Newly Constructed Roads on Adjoining Soil Properties in Tinapa Resort, South-Eastern Nigeria. *Annals of Humanities and Development*.
- Acharya C.L., Hat K.M., Bandyopadhyay K.K., & Daniel H. (2005). Mulches, encyclopedia of soils in the environment. Elsevier, Oxford, pp. 521-532.
- Acosta-Martínez V., & Tabatabai M.A. (2000). Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol. Fertil. Soils* 31: 85-91.
- Acosta-Martínez V., Cruz L., Sotomayor-Ramírez D., & Pérez-Alegría L. (2007). Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Appl. Soil Ecol.* 35: 35-45.
- Adesemoye A.O., & Kloepper J.W. (2009). Plant-microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85: 1-12.
- Adesina A.A., & Baidu-Forson J. (1995). Farmers' perceptions and adoption of new agricultural technology: evidence from analysis in Burkina Faso and Guinea West Africa. *Agric. Economic.* 13: 1-9.
- Agence Ivoirienne Presse (AIP) (2013). <http://news.abidjan.net/h/482233.html>. Accessed 13 March 2017.
- Agritech-Organic Farming (2014). Organic Inputs and Techniques: Biofertilizers http://agritech.tnau.ac.in/org_farm/orgfarm_biofertilizertechnology.html. Accessed le 02 December 2016.
- Ai C., Liang G., Sun J., Wang X., He P., & Zhou W. (2013). Different roles of rhizosphere effect and long-term fertilization in the activity and community structure of ammonia oxidizers in a calcareous fluvoaquic soil. *Soil Biol. Biochem.* 57: 30-42.
- Alamri R. (2014). Installation d'une unité de production de biofertilisants. Rapport de séminaire. Institut national agronomique de Tunisie. 29p.
- Alaoui (2011). Aspects agronomique de l'agriculture de conservation (AC). Conference: Numéro Spécial de la revue Homme, Terre et Eau, Volume: HTE N° 149/150 - Sept/Déc.

- Alef K. (1995). Dehydrogenase activity. *In*: Alef K. Nannipieri P. (Eds.), *Methods in Applied Soil Microbiol. Biochem.* Academic Press, SanDiego, California, pp. 228-231.
- Amador J.A., Glucksman A.M., Lyons J.B., & Gorres J.H. (1997). Spatial distribution of soil phosphatase activity within a riparian forest. *Soil Sci.* 162: 808-825.
- Amiolemen S.O., Iwara A.I., Ndakara O.E., Deekor T.N., & Ita A.E. (2012). Assessment of the nutrient status of soil under chromolaena odorata L. (siam weed) fallow in moniya, oyo state southwestern Nigeria. *Ethiopian J. Environ. Studies Management* 5: 252-259.
- Amutha R., Karunakaran S., Dhanasekaran S., Hemalatha K., Monika R., Shanmugapriya P., & Sornalatha T. (2014). Isolation and mass production of biofertilizer (azotobacter and phosphobacter). *Inter J. Latest Res. Sci. Technol.* 3: 79-80.
- Anderson J.M., & Ingram J.S.I. (1993). *Tropical Soil Biology and Fertility, A Handbook of Methods*, CAB International, Wallingford, UK. ISBN: 0851988210 Record Number: 19931975493 pp.xv +221 pp.
- Anderson J.M., & Ingram J.S.I. (1996). *Tropical Soil Biology and Fertility, A Handbook of methods.* pp 130.
- Anthony O.A., & Kloepper J.W. (2009). Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 85: 1-12.
- Aon M.A., & Colaneri A.C. (2001). II. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil. *Appl. Soil Ecol.* 18: 255-270.
- Archambeaud M. (2017). <https://agriculture-de-conservation.com/-Matthieu-Archambeaud-.html>. Accessed 10 September 2017.
- Arp D.J., Sayavedra-Soto L.A., & Hommes N.G., (2002). Molecular biology and biochemistry of ammonia oxidation by *Nitrosomonas europaea*. *Arch. Microbiol.* 178: 250-255.
- Assémien F.L., Pommier T., Gonnety J.T., Gervaix J., and Le Roux X. (2017). Adaptation of soil nitrifiers to very low nitrogen level jeopardizes the efficiency of chemical fertilization in west african moist savannas. *Sci Reports* 7: 10275.
- Attard E., Le Roux X., Charrier X., Delfosse O., Guillaumaud N., Lemaire G., & Recous S. (2016). Delayed and asymmetric responses of soil C pools and N fluxes to grassland/cropland conversions. *Soil Biol. Biochem.* 97: 31-39.
- Attard E., Poly F., Commeaux C., Laurent F., Terada A., Smets B.F., Recous S., & Le Roux X. (2010). Shifts between *Nitrospira*- and *Nitrobacter*-like nitrite oxidizers underlie the response of soil nitrite oxidizing enzyme activity to changes in tillage practices. *Environ. Microbiol.* 12: 315-326.
- Attard E., Recous S., Chabbi A., De Berranger C., Guillaumaud N., Labreuche J., Philippot L., Schmid B., & Le Roux X. (2011). Soil environmental conditions rather than denitrifier

abundance and diversity drive potential denitrification after changes in land-uses. *Global Change Biol.* 17: 1975-1989.

Avrahami S., & Conrad R. (2005). Cold-temperate climate: a factor for selection of ammonia oxidizers in upland soil? *Can. J. Microbiol.* 51: 709-714.

Balota E.L., Colozzi-Filho A., Andrade D.S., & Dick R.P. (2003). Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. *Biol. Fertil. Soils* 38: 15- 20.

Bandick A.K., & Dick R.P. (1999). Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.* 31: 1471-1479.

Banerjee S., & Siciliano S.D. (2012). Spatially tripartite interactions of denitrifiers in arctic ecosystems: activities, functional groups and soil resources. *Environ. Microbiol.* 14: 2601-2613.

Barbier J.M., & Lopez-Ridaura S. (2010). « Evaluation de la durabilité des systèmes de production agricoles : limites des démarches normatives et voies d'amélioration ». Eds. E. Coudel, H. Devautour, C. Soulard and Hubert B., Innovation and Sustainable Development in Agriculture and Food. Montpellier, France.

Bardgett R.D., & Leemans D.K. (1995). The short-term effects of cessation of fertiliser applications, liming, and grazing on microbial biomass and activity in a reseeded upland grassland soil. *Biol. Fertil. Soils* 19: 148-154.

Barea J.M., Escudero J.L., & Azcon-Aguilar C. (1980). Effects of introduced and indigenous VA mycorrhizal fungi on nodulation, growth and nutrition of *Medicago sativa* in phosphate-fixing soils as affected by P fertilizers. *Plant Soil* 54: 283-296.

Barlog P., & Grzebisz W. (2004). Effect of timing and nitrogen fertilizer application on winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). II. Nitrogen uptake dynamics and fertilizer efficiency. *J. Agron. Crop Sci.* 190: 314-323.

Barnard R., Le Roux X., Hungate B.A., Cleland E.E., Blankinship J.C., Barthes L., & Leadley P.W. (2006). Several components of global change alter nitrifying and denitrifying activities in an annual grassland. *Functional Ecol.* 20: 557-564.

Bartossek R., Nicol G.W., Lanzen A., Klenk H.P., & Schleper C. (2010). Homologues of nitrite reductases in ammonia-oxidizing archaea: diversity and genomic context. *Environ. Microbiol.* 12: 1075-1088.

Bayle S. (1994). La fixation symbiotique d'azote atmosphérique. Rapport de stage de Licence de physiologie végétale appliquée. Université des sciences et techniques du languedoc 50p.

Beauchamp C.J., (1993). Mode d'action des Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes et potentiel de leur utilisation comme agent de lutte biologique. *Phytoprotection* 74: 19-27.

Becker M., & Johnson D.E. (1998). Legumes as dry season fallow in upland rice-based systems of West Africa. *Biol. Fertil. Soils* 27: 358-367.

- Belay A., Claassens A.S., & Wehner F.C. (2002). Effect of direct nitrogen and potassium and residual phosphorous fertilizers on soil chemical properties, microbial components and maize yield under long term crop rotation. *Biol. Fertil. Soil* 35: 420-427.
- Béliveau A., Davidson R., Lucotte M., Otávio do canto lopes L., Paquet S., & Vasseur C. (2015). Early effects of slash-and-burn cultivation on soil physicochemical properties of small-scale farms in the Tapajós region, Brazilian Amazon. *J. Agric. Sci.* 153: 205-221.
- Berg P., & Rosswall T. (1987). Seasonal variations in abundance and activity of nitrifiers in four arable cropping systems. *Microb. Ecol.* 13: 75-87.
- Bernard M., Mouyna I., Dubreucq G., Debeaupuis J.P., Fontaine T., Vorgias C., Fuglsang C., & Latge J.P. (2002). Characterization of a cell-wall acid phosphatase (PhoAp) in *Aspergillus fumigatus*. *Microbiology-Sgm* 148: 2819-2829.
- Beyer L., Wachendorf C., Balzer F.M., & Balzer-Graf U.R. (1992). The effect of soil texture and soil management on microbial biomass and soil enzyme activities in arable soils of Northwest Germany. *Agrobiol. Res.* 45: 276-283.
- Bhadury P., Mohammad B.T., & Wright P.C. (2006). The current status of natural products from marine fungi and their potential as anti-infective agents. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33: 325-337.
- Bissett A., Abell G.C.J., Brown M., Thrall P.H., Bodrossy L., Smith M.C., Baker G.H., & Richardsson A.E. (2014). Land-use and management practices affect soil ammonia oxidiser community structure, activity and connectedness. *Soil Biol. Biochem.* 78: 138-148.
- Blackburne R., Vadivelu V.M., Yuan Z.G., & Keller J. (2007). Kinetic characterisation of an enriched Nitrospira culture with comparison to Nitrobacter. *Water. Res.* 41: 3033-3042.
- Blume E., Bischoff M., Reichert J.M., Moorman T., Konopka A., & Turco R.F. (2002). Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. *Appl. Soil Ecol.* 20: 171-181.
- Bock E., Sundermeyer-Klinger H., & Stackebrandt E. (1983). New facultative lithoautotrophic nitrite-oxidizing bacteria. *Arch. Microbiol.* 136: 281-284.
- Bodelier P.L.E., Libochant J.A., Blom C.W.P.M., & Laanbroek H.J. (1996). Dynamics of nitrification and denitrification in root-oxygenated sediments and adaptation of ammonia-oxidizing bacteria to low-oxygen or anoxic habitats. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 4100-7.
- Bodovololona R., Saidou S., Letourmy P., Husson O., Ralambofetra E., Moussa N., & Chotte J.L. (2008). Effects of living mulches or residue amendments on soil microbial properties in direct seeded cropping systems of Madagascar. *Appl. Soil Ecol.* 39: 236-243.
- Boerner R.E.J., Decker K.L.M., & Sutherland E.K. (2000). Prescribed burning effects on soil enzyme activity in a southern Ohio hardwood forest: a landscape-scale analysis. *Soil Biol. Biochem.* 32: 899-908.

- Boiler T (1985). Induction of hydrolases as a defense reaction against pathogens. *In: Cellular and Molecular Biology of Plum Stress* (Key JL, Kosuge T Eds.) Liss. New York. pp. 247-262.
- Boiler T., Gehri A., Mauch F., & Vogeli U. (1983). Chitinase in bean leaves: induction by ethylene, purification, properties and possible function. *Planta* 157: 22-31.
- Bollmann A., Schmidt I., Saunders A.M., & Nicolaisen M.H. (2005). Influence of starvation on potential ammonia-oxidizing activity and amoA mRNA levels of *Nitrosospira briensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 1276-1282.
- Bonny S. (2010). L'intensification écologique de l'agriculture : voies et défis. Coudel E., Devautour H., Soulard C-T., Hubert B., ISDA 2010. Montpellier, France. Cirad-Inra-SupAgro, 11 p.
- Bonvallet J. (1968). Etude du régime hydrique de quelques sols de Lamto (Côte d'Ivoire). Rapport ORSTOM, Adiopodoumé, 51 p.
- Bouadi L.E.C. (2009). Rôle des jachères à *Chromolaena odorata* dans le terroir du village d'Ahéremou-2. DUT dissertation. URES-Korhogo, Université de Bouaké, 23 p.
- Boyle S.A., Yarwood R.R., Bottomley P.J., & Myrold D.D. (2008). Bacterial and fungal contributions to soil nitrogen cycling under Douglas fir and red alder at two sites in Oregon. *Soil Biol. Biochem.* 40: 443-451.
- Brady N. (1996). Alternatives to slash-and-burn: A global imperative. *Agric. Ecosyst. Environ.* 58: 3-11.
- Braidman I., Carroll M., Dance N., Robinson D., Poenaru L., Weber A., Drefus J.S., Overdijk B., & Hooghwinkel G.J.M. (1974). Characterization of human N-acétyl- β -hexosaminidase. *FEBS Letter* 41: 181-184.
- Bremer C., Braker G., Matthies D., Reuter A., Engels C., & Conrad R. (2007). Impact of plant functional group, plant species, and sampling time on the composition of nirK-type denitrifier communities in soil. *Appl. Environ. Microbiol.* 73: 6876-6884.
- Brettar I., & Höfle M.G. (2002). Close correlation between the nitrification rate by denitrification and the organic matter content in hardwood forest soils of the upper Rhine floodplain (France). *Wetlands* 22: 214-224.
- Burns R.G. (1982). Enzyme activity in soil: location and possible role in microbial ecology. *Soil Biol. Biochem.* 14: 423-427.
- Cabello P., Roldan M.D., & Moreno-Vivian C. (2004). Nitrate reduction and the nitrogen cycle in archaea. *Microbiology* 150: 3527-3546.
- Caffrey J.M., Bano N., Kalanetra K., & Hollibaugh J.T. (2007). Ammonia oxidation and ammonia-oxidizing bacteria and archaea from estuaries with differing histories of hypoxia. *ISME J.* 1: 660-662.

- Caldwell B.A. (2005). Enzyme activities as a component of soil biodiversity: a review. *Pedobiologia* 49: 637-644.
- Canarutto S., Mazzoncini M., Perna A., & Cervelli S. (1995). The effect of reduction of inputs on phosphatase activity, organic carbon content and water stability index in a corn cultivated soil. *Fresenius Environ. Bull.* 4: 291-296.
- Carney K.M., Matson P.A., & Bohannan B.J.M. (2004). Diversity and composition of tropical nitrifiers across a plant diversity gradient and among land-use types. *Ecology Letters* 7: 684-694.
- Carter M.R. (1986). Microbial biomass as an index for tillage-induced changes in soil biological properties. *Soil Tillage Res.* 7: 29-40.
- Casida L.E., Klein D., & Santoro T. (1964). Soil dehydrogenase activity. *Soil Sci.* 98: 371-376.
- Catalon J-C. (2017). <https://www.latribune.fr/economie/international/la-population-mondiale-frolera-les-10-milliards-d-habitants-en-2050-741261.html>. Accessed 2 June 2017.
- Catão E.C.P., Lopes F.A.C., Rubini M. R., Nardoto G. B., Prosser J.I., & Krüger R.H. (2016). Short-term impact of soybean management on ammonia oxidizers in a Brazilian savanna under restoration as revealed by coupling different techniques. *Biol. Fertil. Soils* 52: 1-12.
- Chaplot V., Podwojewski P., Phachomphon K., & Valentin C. (2009). Soil erosion impact on soil organic carbon spatial variability on steep tropical slopes. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 73: 769-779.
- Chapuis-Lardy L., Wrage N., Metay A., Chotte J-L., & Bernoux M. (2007). Soils, a sink for N₂O? A review. *Global Change Biol.* 13: 1-17.
- Chen J-H. (2006). The combined use of chemical and organic fertilizers and /or biofertilizer for crop growth and soil fertility. National Chung Hsing University, Taiwan. 11 p.
- Chen X., Zhu Y., Xia Y., Shen J., & He J. (2008). Ammonia-oxidizing archaea: important players in paddy rhizosphere soil? *Environ. Microbiol.* 10: 1978-1987.
- Chen Y.L., Hu H.W., Han H.Y., Du Y., Wan S.Q., Xu Z.W., & Chen B.D. (2014). Abundance and community structure of ammonia-oxidizing *archaea* and *bacteria* in response to fertilization and mowing in a temperate steppe in Inner Mongolia. *FEMS Microbiol. Ecol.* 89: 67-79.
- Chen Y.P., Rekha P.D., Arun A.B., Shen F.T., Lai W-A., & Young C.C. (2006). Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities. *Appl. Soil Ecol.* 34: 33-41.
- Chen Z., Luo X.Q., Hu R.G., Wu M.N., Wu J.S., & Wei W.X. (2010). Impact of Long-Term Fertilization on the Composition of Denitrifier Communities Based on Nitrite Reductase Analyses in a Paddy Soil. *Microb. Ecol.* 60: 850-861.

- Chevassus-au-louis B., Griffon M., (2008). La nouvelle modernité : une agriculture productive à haute valeur écologique. *In* : Economie et stratégies agricoles, Demeter 2008, Club Demeter, Paris, 7-48.
- Christanty L. (1986). Shifting cultivation and tropical soils: patterns, problems, and possible improvements. *In*: G.G. Marten, Traditional Agriculture in Southeast Asia: a human ecology perspective. Westview Press, Boulder, CO., 226-240.
- Cissé N.A.A. (2014). Etude sur l'utilisation des engrais biologiques dans l'agriculture au sud-Bénin: cas du produit agro bio. Mémoire pour l'obtention du master en ingénierie de l'eau et de l'environnement 92p.
- Clarholm M. (1993). Microbial biomass-P, labile-P, and acid phosphatase activity in the humus layer of a spruce forest, after repeated additions of fertilizers. *Biol. Fertil. Soils* 16: 287-292.
- Clarholm M., & Rosengren-brinck M. (1995). Phosphorus and nitrogen fertilization of a Norway spruce forest-effects on needle concentrations and acid phosphatase activity in the humus layer. *Plant Soil* 175: 239-249.
- Clark I.M., Buchkina N., Jhurrea D., Goulding K.W.T., & Hirsch P.R. (2012). Impacts of nitrogen application rates on the activity and diversity of denitrifying bacteria in the Broadbalk Wheat Experiment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 367: 1235-1244.
- Clarkson V.A. (1960). Effect of black polyethylene mulch on soil and microclimate temperature and nitrate level. *Agron. J.* 52: 307-309.
- Cleveland C.C., Townsend A.R., Schimel D.S., Fisher H., Howarth R.W., Hedin L.O., Perakis Steven S., Latty Erika F., Von Fischer J.C., Elseroad A., & Wasson M.F. (1999). Global patterns of terrestrial biological nitrogen (N₂) fixation in natural ecosystems. *Global Biogeochem Cycles* 13: 623-645.
- Coulibaly K., Vall E., Autfray P., Nacro H.B., & Sedogo M.P. (2012). Effets de la culture permanente coton-maïs sur l'évolution d'indicateurs de fertilité des sols de l'Ouest du Burkina Faso. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6: 1069-1080.
- Couplier F., (2006). PCR en temps réel quantitative <http://www.transcriptome.ens.fr/sgdb/>
- Cowan J.A. (2002). Structural and catalytic of magnesium-dependant enzymes. *Biometals* 15: 225-235.
- CPCS, Commission de Pédologie et de Cartographie des Sols (1967) Classification des sols. Laboratoire de Géologie et de Pédologie, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie, Grognon, France, 87 p.
- Criquet S., Ferre E., Farnet A.M., & Le Petit J. (2004). Annual dynamics of phosphatase activities in an evergreen oak litter: influence of biotic and abiotic factors. *Soil Biol. Biochem.* 36: 1111-1118.

- Cristóbal H.A., Poma H.R., Abate C.M., & Rajal V.B. (2016). Quantification of the genetic expression of *bgl-A*, *bgl*, and *CspA* and enzymatic characterization of β -Glucosidases from *Shewanella* sp. G5. *Marine Biotechnol.* 18: 396-408.
- Curci M., Pizzigallo M.D.R., Crecchio C., & Mininni R. (1997). Effect of conventional tillage on biochemical properties of soils. *Biol. Fertil. Soils* 25: 1-6.
- Cusack D.F., Silver W., & McDowell W.H. (2009). Biological nitrogen fixation in two tropical forests: ecosystem-level patterns and effects of nitrogen fertilization. *Ecosystems*, 12, 1299-1315.
- Daebeler A., Abell G.C., Bodelier P.L., Bodrossy L., Frampton D.M., Hefting M.M., & Laanbroek H.J. (2012). Archaeal dominated ammonia-oxidizing communities in Icelandic grassland soils are moderately affected by long-term N fertilization and geothermal heating. *Front. Microbiol.* 3: 1-12.
- Daims H., Lebedeva E.V., Pjevac P., Ha P., Herbold C., Albertsen M., Jehmlich N., Dannenmann M., Butterbach-Bahl K., Gasche R., Willibald G., & Papen H. (2008). Dinitrogen emissions and the $N_2:N_2O$ emission ratio of a Rendzic Leptosol as influenced by pH and forest thinning. *Soil Biol. Biochem.* 40: 2317-2323.
- Daims H., Lebedeva E.V., Pjevac P., Han P., Herbold C., Albertsen M., Jehmlich N., Palatinszky M., Vierheilig J., Bulaev A., Kirkegaard R.H., von Bergen M., Rattei T., Bendinger B., Nielsen P.H., & Wagner M. (2015). Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature* 528: 504-509.
- Dannenmann M., Butterbach-Bahl K., Gasche R., Willibald G., & Papen H. (2008). Dinitrogen emissions and the $N_2:NO$ emission ratio of a Rendzic Leptosol as influenced by pH and forest thinning. *Soil Biol. Biochem.* 40: 2317-2323.
- Davidson E.A., Bustamante M.M., & de Siqueira P.A. (2001). Emissions of nitrous oxide and nitric oxide from soils of native and exotic ecosystems of the Amazon and Cerrado regions of Brazil. *ScientificWorld J.* 1: 312-319.
- de Gannes V., Eudoxie G., & Hickey W.J. (2014). Impacts of edaphic factors on communities of ammonia-oxidizing archaea, ammonia-oxidizing bacteria and nitrification in tropical soils. *PLoS ONE* 9: 089568.
- de la Torre J.R., Walker C.B., Ingalls A.E., Konneke M., & Stahl D.A. (2008). Cultivation of thermophilic ammonia oxidizing archaea on synthesizing crenarchaeal. *Environ. Microbiol.* 10: 810-818.
- de Vleeschauwer D., Lal R., & De Boodt M. (1978). The comparative effects of surface applications of organic mulch versus chemical soil conditioners on physical and chemical properties of the soil and on plant growth. *Catena* 5: 337-349.
- Debosz K., Rasmussen P.H., & Pedersen A.R. (1999). Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effects of organic matter input. *Appl. Soil Ecol.* 13: 209-218.

- Dejean T, Valentini A, Duparc A, Pellier-Cuit S, Pompanon F, Taberlet P., & Miaud C. (2011). Persistence of Environmental DNA in Freshwater Ecosystems. *PLoS ONE* 6: e23398.
- Delmas J. (1967). Recherches écologiques dans la savane de Lamto (Côte d'Ivoire): Premier aperçu sur les sols et leur valeur agronomique. *La terre et la vie* 21: 216-227.
- Delmas P. (2005). L'agriculture de conservation, une alternative? *Grain de Sel* 33p.
- Demanèche S., Philippot L., David M.M., Navarro E., Vogel T.M., & Simonet P. (2009). Characterization of denitrification gene clusters of soil bacteria via a metagenomic approach. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 534-537.
- Demeyer A., Voundi Nkana J.C., & Verloo M.G. (2001). Characteristics of wood ash and influence on soil properties and nutrient uptake: an overview. *Bioresource Technol.* 77: 287-295.
- Deng S.P., & Tabatabai M.A. (1996). Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils.II. Glycosidases. *Biol. Fertil. Soils* 22: 208-213.
- Deng S.P., & Tabatabai M.A. (1997). Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. III. Phosphatases and arylsulfatase. *Biol. Fertil. Soils* 24: 141-146.
- Denich M., Kanashiro M., & Vlek P.L.G. (2000). The potential and dynamics of carbon sequestration in traditional and modified fallow systems of the Eastern Amazon region, Brazil. *Global Climate Change Tropical Ecosyst.* pp. 213-229.
- Dey P.M., & Pridham J.B. (1972). Biochemistry of α -galactosidases. *In: Meister A (ed) Advances in enzymology*, vol 36. Wiley, New York, pp 91-130.
- Dick R.P. (1994). Soil enzyme activities as indicators of soil quality. *In: Doran, J.W. (Ed.), Defining Soil Quality for a Sustainable Environment. SSSA Special Publication 35*, Madison, WI, pp. 107-124.
- Dick R.P. (1997). Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. *In: Pankhurst CE, Doube BM, Gupta VVSR (eds) Biological indicators of soil health.* CABI, Wellingford, pp. 121-156.
- Dick R.P., Breakwell D.P., & Turco R.F. (1996). Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. *In: Doran JW, Jones AJ (eds) Methods of assessing soil quality.* Soil Science Society of America, Madison, WI, pp. 247-271.
- Dick W.A., Cheng L., & Wang P. (2000). Soil acid and alkaline phosphatase activity as pH adjustment indicators. *Soil Biol. Biochem.* 32: 1915-1919.
- Djamen P., Maraux F., Ashburner J., Triomphe B., & Kienzle J., (2005). L'agriculture de conservation en Afrique francophone de l'ouest et du centre : états des lieux, enjeux et défis. *In* FAO (eds). Regards sur l'agriculture de conservation en Afrique de l'ouest et du centre et ses perspectives. Contribution au 3^{ième} Congrès mondial d'agriculture de conservation, Nairobi.

- Docherty K.M., Balser T.C., Bohannan B.M., & Gutknecht L.M. (2012). Soil microbial responses to fire and interacting global change factors in a California annual grassland. *Biogeochem.* 109: 63-83.
- Doran J.W., Liebig M.A., & Santana D.P. (1998). Soil health and global sustainability. *In* Proceedings of the 16th World Congress of Soil Science, August 1998, Montpellier, France, pp. 20-26.
- Dong Y., Dong K., Zheng Y., Tian Z.H., Lu Y., & Tang L. (2009). Soil microbial community and enzyme activities in greenhouse with different cultivation years and planting system. *J. Agro-Environ. Sci.* 28: 527-532.
- Duff S.M.G., Sarath G., & Plaxton W.C. (1994). The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. *Physiol. Plant.* 90: 791-800.
- Duponnois R. (2012). Jachère et fertilité. *In* : La Grande Muraille Verte : Capitalisation des recherches et valorisation des savoirs locaux. IRD Éditions, Paris, pp. 507-522.
- Edgar R.C., Haas B.J., Clemente J.C., Quince C., & Knight R. (2011). UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* 27: 2194-2200.
- Edoukou (2015). Rôle des populations de vers de terre dans la productivité des systèmes de culture de maïs sur jachères améliorées en zone de contact forêt savane de Côte d'Ivoire. Thèse Université de Nangui Abrogoua, Côte d'Ivoire 285 p.
- Edoukou E.F., Koné A.W., & Tondoh J.E. (2013). Les jachères à base de *Chromolaena odorata* (Asteraceae) et de légumineuses ont-elles les mêmes potentialités agronomiques? *Etude et Gestion des Sols* 20: 95-106.
- Eivazi F., & Tabatabai M.A. (1977). Phosphatases in soil. *Soil Biol. Biochem.* 9: 167-172.
- Eivazi F., & Tabatabai M.A. (1988). Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.* 20: 601-606.
- Eivazi F., & Tabatabai M.A. (1990). Factors affecting glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.* 20: 601-606.
- Ekenler M., & Tabatabai M.A. (2002). β -Glucosaminidase activity of soils: effect of cropping systems and its relationship to nitrogen mineralization. *Biol. Fertil. Soils* 36: 367-376.
- Ekenler M., & Tabatabai M.A. (2003). Effects of liming and tillage systems on microbial biomass and glycosidases in soils. *Biol. Fertil. Soils* 39: 51-61.
- El Hakim (2017). Effet d'un fertilisant biologique sur la croissance et le développement du *Phaseolus vulgaris* et *Lepidium sativum*. Mémoire de Master Sciences et Techniques "gestion & conservation de la biodiversité" 64p.
- Ellis, P.C. (2006). Evaluation of socioeconomic characteristics of farmers who choose to adopt a new type of crop and factors that influence the decision to adopt switchgrass for

energy production. Thesis submitted for partial fulfilment of master degree in the University of Tennessee, Knoxville. USA.

El Moursi A.W.A. (1984). The role of higher agricultural education in the improvement of shifting cultivation farming systems in Africa. *In*: A.H. Bunting and E. Bunting (Editors), The Future of Shifting Cultivation in Africa and the Task of Universities, Proc. Int. Workshop on Shifting Cultivation: Teaching and Research at the University Level, Ibadan, Nigeria. FAO, Rome, pp. 8-14.

Enwall K., Throback I.N., Stenberg M., Soderstrom M., & Hallin S. (2010). Soil resources influence spatial patterns of denitrifying communities at scales Compatible with land management. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 2243-2250.

Enwall K., Philippot L., & Hallin S. (2005). Activity and composition of the denitrifying bacterial community respond differently to long-term fertilization. *Appl. Environ. Microb.* 71: 8335-8343.

Erguder T.H., Nico B., Lieven W., Massimo M., & Willy V. (2009). Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea. *FEMS Microbiol. Rev.* 33: 855-869.

Fabre B., & Kockmann F. (2006). Les effets du chaulage sur les prairies permanentes ou de longue durée. Synthèse bibliographique. *Fourrages* 185: 103-122.

Ficetola G.F., Miaud C., Pompanon F., & Taberlet P. (2008). Species detection using environmental DNA from water samples. *Biol Lett.* 4: 423-425.

Fan L.T., & Lee Y.H. (1983). Kinetic studies of enzymatic hydrolysis of insoluble cellulose: Derivation of a mechanistic kinetic model. *Biotechnol. Bioengineering* 25: 2707-2733.

Fang C., & Moncrieff J.B. (2005). The variation of soil microbial respiration with depth. *Plant Soil* 268: 243-253.

FAO (1996). Rome Declaration on World Food Security. World Food Summit, 13-17 of November 1996, Rome Italy. http://www.fao.org/wfs/index_en.htm (accessed from FAO Corporate Document Repository, 13 January 2015).

FAO (2009). Food Security and Agricultural Mitigation in Developing Countries: Options for Capturing Synergies. Rome, Italy. www.fao.org/docrep/012/i1318e/i1318e00.pdf.

FAO (2012). Agriculture de conservation. <http://www.fao.org/ag/cu/fr>. Accessed 10 September 2017

FAO (2015) <http://www.fao.org/soils-2015/news/news-detail/fr/c/326309/>. Accessed 10 September 2017.

FAO, FIDA & PAM. (2015). L'État de l'insécurité alimentaire dans le monde 2015. Objectifs internationaux 2015 de réduction de la faim: Rome, FAO.

- Farella N., Lucotte M., Davidson R., & Daigle S. (2006). Mercury release from deforested soils triggered by base cation enrichment. *Sci. Tot. Environ.* 368: 19-29.
- Fearnside P.M. (1991). Greenhouse gas contributions from deforestation in Brazilian Amazonia. In: J.S. Levine (Editor), *Global Biomass Burning: Atmospheric, Climatic, and Biospheric Implications*. MIT Press, Boston, pp. 92-105.
- Feller C., Lavelle P., Albrecht A., & Nicolardot B. (1993). La jachère et le fonctionnement des sols tropicaux. In Floret C., Serpantie (eds.) *Rôle de l'activité biologique et des matières organiques. Quelques éléments de réflexion* pp. 15-32.
- Fierer N., Allen A.S., Schimel J.P., & Holden P.A. (2003a). Controls on microbial CO₂ production: a comparison of surface and subsurface soil horizons. *Global Change Biol.* 9: 1322-1332.
- Fierer N., Strickland M.S., Liptzin D., Bradford M.A., & Cleveland C.C. (2009). Global patterns in belowground communities. *Ecol. Lett.* 12: 1238-1249.
- Fillery I.R.P. (1983). Biological denitrification. In: J.R. Freney and J.R. Simpson (eds.) *Gaseous loss of Nitrogen from Plant-Soil Systems*, Marinus Nijhoff, Boston, pp. 33-64.
- Fioretto A., Di Nardo C., Papa S., & Fuggi A. (2005). Lignin and cellulose degradation and nitrogen dynamics during decomposition of three leaf bitter species in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biol. Biochem.* 37: 1083-1091.
- Fish J.A., Benli C., Qiong W., Yanni S., Brown T.C., Tiedje J.M., & Cole J.R. (2013). FunGene: the functional gene pipeline and repository. *Front. Microbiol.* 4: 1-14.
- Floch C., Capowiez Y., & Criquet S. (2009). Enzyme activities in apple orchard agroecosystems: how are they affected by management strategy and soil properties. *Soil Biol. Biochem.* 41: 61-68.
- Flowers H.M., & Sharon N. (1979). Glycosidases properties and application to the study of complex carbohydrates and cell surfaces. In: Meister A (ed) *Advances in enzymology*, vol 49. Wiley, New York, pp 29-95.
- Foumier A., Floret C., & Gnahoua Guy-M. (2001). Végétation des jachères et succession *post-culturale en Afrique tropicale*, In: *La jachère en Afrique tropicale - Ch. Floret, R. Pontanier* John Libbey Eurotext, Paris, 123-168.
- Francis C.A., Roberts K.J., Beman J.M., Santoro A.E., & Oakley B.B. (2005). Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 14683-14688.
- Frankenberger W.T.Ir., & Dick W.A. (1983). Relationships between enzyme activities and microbial growth and activities indices in soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47: 945-951.
- Fraser D.G., Doran J.W., Sahs W.W., & Lesoing G.W. (1988). Soil microbial populations and activities under conventional and organic management. *J. Environ. Qual.* 17: 585-590.

- French E., Kozlowski J.A., Mukherjee M., Bullerjahn G., & Bollmann A. (2012). Ecophysiological characterization of ammonia-oxidizing archaea and bacteria from freshwater. *Appl. Environ. Microbiol.* 78: 5773-5780.
- Frink C.R., Waggoner P.E., & Ausubel J.H. (1999). Nitrogen fertilizer: retrospect and prospect. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96: 1175-1180.
- Gaby J.C., & Buckley D.H. (2011). A global census of nitrogenase diversity. *Environ. Microbiol.* 13 : 1790-1799.
- Gagnard J., Huguet C., & Ryser J.P. (1988). L'analyse du sol et du végétal dans la conduite de la fertilisation, le contrôle de la qualité des fruits. Secrétariat générale OILB/SROP, Edition - Diffusion ACTA 87 p.
- Garibaldi L.A., Aizen M.A., Klein A.M., Cunningham S. A. & Harder, L.D. (2011). Global growth and stability of agricultural yield decrease with pollinator dependence. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 108: 5909-5914.
- Galloway J.N., Dentener F.J., Capone D.G., Boyer E.W., Howarth R.W., Seitzinger S.P., Asner G.P., Cleveland C.C., Green P.A., Holland E.A., Karl D.M., Michaels A.F., Porter J.H., Townsend A.R., & Vöosmarty. C.J. (2004). Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochem.* 70: 153-226.
- Giardina C.P., Sanford R.L., Dockersmith I.C., & Jaramillo V.J. (2000). The effects of slash burning on ecosystem nutrients during the land preparation phase of shifting cultivation. *Plant Soil* 220: 247-260.
- Goldhammer, J.F., & Bruce, M., 2004. The use of prescribed fire in the land management of Western and Baltic Europe: an overview. *Int. For. Fire News* 30: 2-13 (accessed 07.03.17).
- Good I.J. (1953). On the population frequency of species and the estimation of population parameters. *Biometrika* 40: 237-264.
- Gao Y., Zhou P., Mao L., Zhi Y.E., & Shi W.J. (2010). Assessment of effects of heavy metals combined pollution on soil enzyme activities and microbial community structure: modified ecological dose-response model and PCR-RAPD. *Environ. Earth Sci.* 60: 603-612.
- Garcia C., Hernandez T., & Costa F. (1997). Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils. *Commun. Soil Sci. Plant Analys.* 28: 123-134.
- García-Ruiz R., Ochoa V., Viñegla B., Hinojosa M.B., Peña-Santiago R., Liébanas G., Linares J.C., & Carreira J.A. (2009). Soil enzymes, nematode community and selected physico-chemical properties as soil quality indicators in organic and conventional olive oil farming: influence of seasonality and site features. *Appl. Soil Ecol.* 41: 305-314.
- Gautier L. (1992). Contact forêt-savane en Côte d'Ivoire ; rôle de *Chromolaena odorata* (L) R. King and Robinson dans la dynamique de la végétation. Thèse Université de Genève 259 p.

- Geets J., Boon N. & Verstraete W. (2006). Strategies of aerobic ammonia-oxidizing bacteria for coping with nutrient and oxygen fluctuations. *FEMS Microbiol. Ecol.* 58: 1-13.
- Geisseler D., & Scow K.M. (2014). Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms – A review. *Soil Biol. Biochem.* 75: 54-63.
- Gelsomino A., & Azzellino A. (2011). Multivariate analysis of soils: microbial biomass, metabolic activity, and bacterial-community structure and their relationships with soil depth and type. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 174: 381-394.
- Gervy R., (1970). Les phosphates et l'agriculture. Edition DUNOD, Paris. 298p.
- Ghuman B.S., Lal R., & Shearer W. (1991). Land clearing and use in the humid Nigerian tropics. I. Soil physical properties. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55: 178-183.
- Gianinazzi S., Gollotte A., Binet MN., van Tuinen D., Redecker D., & Wipf D. (2010). Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* 20: 519-530.
- Gillon D. (1993). The fire problem in tropical savannas. In F. Boulière (ed.), *Tropical Savannas*. Elsevier, Amsterdam. *Ecosystems of the World* 13: 617-641.
- Gilot-Villenave C. (1994). Effets de l'introduction du ver géophage *Millsonia anomala* Omodeoi en systèmes cultivés sur les caractéristiques des sols et la production végétale en moyenne Côte d'Ivoire. Ph.D. dissertation. Institut National Agronomique Paris-Grignon.
- Giroux M., & Audesse P. (2004). Comparaison de deux méthodes de détermination des teneurs en carbone organique, en azote total et du rapport C/N de divers amendements organiques et engrais de ferme. *Agrosol.* 15: 107-110.
- Gnahoua G.M., Kouassi F.Y., Angui P.K.T., Balle P., Olivier R., & Peltier R. (2008). Effets des jachères à *Acacia mangium*, *Acacia auriculiformis* et *Chromolaena odorata* sur la fertilité du sol et les rendements de l'igname (*Dioscorea spp.*) en zone forestière de Côte d'Ivoire. *Agron. Afr.* 20: 291-301.
- Gonnety J. T., Assémien E.F.L., Guéi A.M., N'Dri A.A., Djina Y., Koné A.W., & Tondoh J.E. (2012). Effect of land-use types on soil enzymatic activities and chemical properties in semi-deciduous forest areas of Central-West Côte d'Ivoire. *Biotechn. Agron. Social Environ.* 16: 478-485.
- Goodall J.M., & Erasmus D.J. (1996). Review of the status and integrated control of the invasive alien weed, *Chromolaena odorata* in South Africa. – *Agric. Ecosyst. Environ.* 56: 151-164.
- Görres J.H., Dichiaro M.J., Lyons J.B., & Amador J.A. (1998). Spatial and temporal patterns of soil biological activity in a forest and an old field. *Soil Biol. Biochem.* 30: 219-230.
- Graham D.W., Knapp C.W., Van Vleck E.S., Bloor K., Lane T.B., & Graham C.E. (2007). Experimental demonstration of chaotic instability in biological nitrification. *ISME J.* 1: 385-393.

- Green T.R., Wu D.E., & Wirtz M.K. (1983). The O₂-Generating oxidoreductase of human neutrophils: evidence of an obligatory requirement for calcium and magnesium for expression of catalytic activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 110: 973-978.
- Gu Y., Wag P., & Kong C. (2009). Urease, invertase, dehydrogenase and polyphenoloxidase activities in paddy soils influenced by allelopathic rice variety. *Eur. J. Soil Biol.* 45: 436-441.
- Guan S.Y. (1989). Studies on the factors influencing soil enzyme activities: Effect of organic manures on soil enzyme activities and N and P transformations. *Acta Pedol. Sinica* 26: 72-78.
- Gubry-Rangin C., Nicol G.W., & Prosser J.I. (2010). Archaea rather than bacteria control nitrification in two agricultural acidic soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 74: 566-574.
- Gyaneshwar P., Kumar G.N., Parekh L.J., & Poole P.S. (2002). Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil* 245: 83-93.
- Hallin S., Jones C.M., Schloter M., & Philippot L. (2009). Relationship between N-cycling communities and ecosystem functioning in a 50-year-old fertilization experiment. *ISME J.* 3: 597-605.
- Hammon S. T., Burke I. C., & Knapp E.E. (2008). Soil nutrients and microbial activity after early and late season prescribed burns in a Sierra Nevada mixed conifer forest. *For. Ecol. Manage.* 256: 367-374.
- Hankin L., Hill D.E., & Stephens G.R. (1982). Effects of mulches on bacterial population and enzyme activity in soil and vegetable yields. *Plant Soil Sci.* 64: 193-201.
- Harmand J.M., Njiti C.F., Bernhard-reversat F., Feller C., & Oliver R. (2000). Variation des stocks de carbone dans le sol au cours du cycle jachère arborée-culture en zone soudanienne du Cameroun. In Floret C., Pontanier R. (eds). *La jachère en Afrique tropicale*, vol 1. Actes du Séminaire international, Dakar, Sénégal, 13-16/04/1999. John Libbey, Paris, pp. 706-713.
- Hartmann M., Frey B., Mayer J., Mader P., & Widmer F. (2015). Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *ISME J.* 9: 1177-1194. OK
- Hati K.M., Swarup A., Mishra B., Manna M.C., Wanjari R.H., Mandal K.G., & Misra A.K. (2008). Impact of long-term application of fertilizer, manure and lime under intensive cropping on physical properties and organic carbon content of an Alfisol. *Geoderma* 148: 173-179.
- Hauser S., Norgrove L., Asawalam D., & Schulz S. (2012). Effect of land use change, cropping systems and soil type on earthworm cast production in West and Central Africa. *Eur. J. Soil Biol.* 49: 47-54.
- Hausling M., & Marschner H. (1989). Organic and inorganic soil phosphates and acid phosphatase activity in the rhizosphere of 80-year-old Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) trees. *Biol. Fertil. Soils* 8: 128-133.
- Hayano K., & Tubaki K. (1985). Origin and properties of β -glucosidase activity of tomato-field soil. *Soil Biol. Biochem.* 17: 553-557.

- Hayatsu M., Tago K., & Saito M. (2008). Various players in the nitrogen cycle: diversity and functions of the micro-organisms involved in nitrification and denitrification. *Soil Sci. Plant Nutr.* 54: 33-45.
- Haynes R.J. (1986). Mineral nitrogen in the plant-soil system, Academic, San Diego, Calif, pp. 483.
- He J.Z., Shen J.P., Zhang L.M., Zhu Y.G., Zheng Y.M., Xu M.G., & Di H. (2007). Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices. *Environ. Microbiol.* 9: 2364-2374.
- Hedin L.O., Brookshire E.N.J., Duncan N.L.M., & Barron A.R., (2009). The Nitrogen Paradox in Tropical Forest Ecosystems. *Ann. Review Ecol. Evol. Systematics* 40: 613-635.
- Henry S., Baudoin E., López-Gutiérrez J.C., Martin-Laurent F., Brauman A., & Philippot L. (2004). Quantification of denitrifying bacteria in soils by nirK gene targeted real-time PCR. *J. Microbiol. Meth.* 59: 327-335.
- Henry S., Bru D., Stres B., Hallet S., & Philippot L. (2006). Quantitative detection of the nosZ gene, encoding nitrous oxide reductase, and comparison of the abundances of 16S rRNA, narG, nirK, and nosZ genes in soils. *Appl. Environ. Microb.* 72: 5181-5189.
- Hicks WT, Harmon ME, Griffiths RP (2003) Abiotic controls on nitrogen fixation and respiration in selected woody debris from the Pacific Northwest, USA. *Ecoscience* 10: 66-73.
- Higuchi R., Dollinger G., Walsh P.S., & Griffith R. (1992). Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnol. (N Y)*. 10: 413-417.
- Hoitink H.A.J., & Boehm M.J. (1999). Biocontrol within the context of soil microbial communities: a substrate-dependent phenomenon. *Annu. Rev. Phytopathol.* 37: 427-446. OK
- Hobbie S.E. & Vitousek P.M. (2000) Nutrient limitation of decomposition in Hawaiian forests. *Ecol.* 81: 1867-1877.
- Hooper A.B., Vannelli T., Bergmann D.J., & Arciero D. (1997). Enzymology of the oxidation of ammonia to nitrite by bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek J. Gen. Mol. Microbiol.* 71: 59-67. OK
- Houlton B.Z., & Bai E., (2009). Imprint of denitrifying bacteria on the global terrestrial biosphere. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 106: 21713-21716.
- Houlton B.Z., Wang Y.P., Vitousek P.M., & Field C.B. (2008). A unifying framework for dinitrogen fixation in the terrestrial biosphere. *Nature* 454: 327-330.
- Howarth R., Marino R., & Cole J. (1988). Nitrogen fixation in fresh-water, estuarine, and marine ecosystems. *Limnol. Oceanogr.* 33: 688-701. OK

- Hulth S., Aller R.C., Canfield D.E., Dalsgaard T., Engström P., Gilbert F., Sundbäck K., & Thamdrup B. (2005). Nitrogen removal in marine environments: recent findings and future research challenges. *Marine Chem.* 94: 125-145. OK
- Hulth S., Aller R.C., Canfield D.E., Dalsgaard T., Engström P., Gilbert F., Sundbäck K., & Thamdrup B. (2005). Nitrogen removal in marine environments: recent findings and future research challenges. *Marine Chem.* 94: 125-145.
- Hyman M.R., & Arp D.J (1992). $^{14}\text{C}_2\text{H}_2$ and $^{14}\text{CO}_2$ -labeling studies of the *de novo* synthesis of polypeptides by *Nitrosomonas europaea* during recovery from acetylene and light inactivation of ammonia monooxygenase. *J. Biol. Chem.* 267: 1534-1545.
- Hysek J., & Sarapatka B. (1998). Relationship between phosphatase active bacteria and phosphatase activities in forest soils. *Biol Fertil. Soils* 26: 112-115.
- Ibrahim A., Fanta C.A., Ndjouenkeu R., & Ntoupka M. (2010). Impact de la gestion de la matière organique sur le statut minéral des sols et des récoltes dans les savanes soudano-guinéennes de Ngaoundéré Cameroun. Seiny-boukar L., Boumard P., Savanes africaines en développement: innover pour durer, Garoua, Cameroon. Cirad 10 p.
- IRD (2008). Quand l'agriculture sur brûlis contribue à la lutte contre l'effet de serre. Fiche n° 307, Actualité scientifique 2p.
- ITAB (2002). Activités biologiques et fertilité des sols : Intérêts et limites des méthodes analytiques disponibles Première édition « état et activités biologiques des sols » de la commission « agronomie – systèmes de production » 27p.
- Isobe K., Koba K., Suwa Y., Ikutani J., Fang Y., Yoh M., Mo J., Otsuka S., & Senoo K. (2012). High abundance of ammonia-oxidizing archaea in acidified subtropical forest soils in southern China after long-term N deposition. *FEMS Microbiol. Ecol.* 80: 193-203.
- Jääts L., Kihno K., Tomson P., & Konsa M., (2010). Tracing fire cultivation in Estonia. *For. Stud.* 53: 53-65.
- Joanisse G.D., Bradley R.L., Preston C.M., & Munson A.D. (2007). Soil enzyme inhibition by condensed litter tannins may drive ecosystem structure and processes: the case of *Kalmia angustifolia*. *New Phytol.* 175: 535-546.
- Jobbágy E.G., & Jackson R.B. (2000). The vertical distribution of soil organic carbon and its relation to climate and vegetation. *Ecological Applications* 10: 423-436.
- Joner E.J., van Aarle I.M., & Vosatka M. (2000). Phosphatase activity of extra-radical arbuscular mycorrhizal hyphae: A review. *Plant Soil* 226: 199-210.
- Jones C.M., Graf D.R.H., Bru D., Philippot L., & Hallin S. (2013). The unaccounted and abundant nitrous oxide-reducing microbial community: a potential nitrous oxidesink. *ISME J.* 7: 417-426.

- Jones C.M., Spor A., Brennan F.P., Breuil M-C., Bru D., Lemanceau P., Griffiths B., Hallin S., & Philippot L., (2014). Recently identified microbial guild mediates soil N₂O sink capacity. *Nat. Clim. Change* 4: 801-805.
- Jones C.M., Stres B., Rosenquist M., & Hallin S. (2008). Phylogenetic analysis of nitrite, nitricoxide, and nitrous oxide respiratory enzymes reveal a complex evolutionary history for denitrification. *Mol. Biol. Evol.* 25: 1955-1966.
- Jordan C.F. (1989). An Amazonian rainforest. The structure and function of a nutrient stressed ecosystem and the impact of slash-and-burn agriculture. *In: Jeffers, J.N.R. (Ed.), Man and the Biosphere Series. UNESCO and the Parthenon Publishing Group, Athens, Georgia, USA, pp. 176.*
- Jordan D., & Kremer R.J. (1994). Potential use of microbial activity as an indicator of soil quality. *In: Pankhurst CE, Double BM, Gupta VVSR, Grace PR (Eds.): Soil biota. Management in sustainable farming systems, CSIRO Australia pp. 245-249.*
- Julio H., & Carlos B. (2006). Communication orale au Sommet sur l'engrais Africain, des chercheurs du Centre international de développement des engrais (IFDC) (9-13 juin 2006 Abuja, Nigeria).
- Juma N.G., & Tabatabai M.A. (1977). Effects of trace elements on phosphatase activity in soils. *SSSAJ* 41: 343-346.
- Juo A.S.R., & Manu A. (1996). Chemical dynamics in slash-and-burn agriculture. *Agric. Ecosyst. Environ.* 58: 49-60.
- Kandeler E., & Eder G. (1993). Effect of cattle slurry in grasslands on microbial biomass and on activities of various enzymes. *Biol. Fert. Soils* 16: 249-254.
- Kandeler E., Deiglmayr K., Tschierko D., Bru D., & Philippot L. (2006). Abundance of *narG*, *nirS*, *nirK*, and *nosZ* genes of denitrifying bacteria during primary successions of a glacier foreland. *Appl. Environ. Microb.* 72: 5957-5962.
- Kandeler E., Stemmer M., & Klimanek E-M. (1999). Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fractions to long-term soil management. *Soil Biol. Biochem.* 31: 261-273.
- Karaca A., Naseby D., & Lynch J. (2002). Effect of cadmium-contamination with sewage sludge and phosphate fertiliser amendments on soil enzyme activities, microbial structure and available cadmium. *Biol. Fertil. Soil* 35: 435-440.
- Kassi S-P.A.Y., Koné A.W., Tondoh J.E., & Koffi B.Y. (2017). *Chromoleana odorata* fallow-cropping cycles maintain soil carbon stocks and yam yields 40 years after conversion of native- to farmland, implications for forest conservation. *Agric. Ecosyst. Environ.* 247: 298-307.
- Kato M.S.A., Kato O.R., Denich M., & Vlek P.L.G. (1999). Fire-free alternatives to slash-and-burn for shifting cultivation in the Eastern Amazon region: The role of the role of fertilizers. *Field Crops Res.* 62: 225-237.

- Kaur T., Brar B.S., & Dhillon N.S. (2008). Soil organic matter dynamics as affected by long-term use of organic and inorganic fertilizers under maize–wheat cropping system. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 81: 59-69.
- Kemmitt S.J., Wright D., Goulding K.W.T., & Jones D.L. (2006). pH regulation of carbon and regulation of carbon and nitrogen dynamics in wo agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 38: 898-911.
- Kim M., Morrison M., & Yu Z. (2011). Evaluation of different partial 16S rRNA gene sequence regions for phylogenetic analysis of microbiomes. *J. Microbiol. Meth.* 84: 81-87.
- Kirchman D.L., Sherr E., Sherr B., Fuhrman J.A., Hagström A., Moran M.A., Béjà O., Suzuki M.T., Worden A.Z., Not F., Nagata T., Del giorgio P.A., Gasol J.M., Robinson C., Church M. J., Jürgens K., Massana R., Breitbart M., Middelboe M., Rohwer F., Zehr J.P., Paerl H.W., Thamdrup B., & Dalsgaard T. (2008). *Microbial Ecol. Ocean.* John Wiley & Sons, Etats-Unis.
- Kiss S., Drăgan-Bularda M., & Rădulescu D. (1975). Biological significance of enzymes accumulated in soil. *Adv. Agron.* 27: 25-87.
- Klimanek E-M. (2000). Die Wirkung von Düngungsänderungen auf die mikrobielle Aktivität von Löss-Schwarzerde nach 96 Jahren differenzierter organischer und mineralischer Düngung im Statischen Düngungsversuch Bad Lauchstädt. *Arch. Acker Pfl. Boden* 45: 381-397.
- Kling J.G. (1991). Morphologie et développement du maïs. In : Guide de phytotechnie de l'IITA, n° 1, 24 p.
- Knapp C.W., & Graham D.W. (2007). Nitrite-oxidizing bacteria guild ecology associated with nitrification failure in a continuous-flow reactor. *Microb. Ecol.* 62: 195-201.
- Konaté Z., Gala Bi T.J., Messoum F.G., Sékou A., Yao- Kouamé A., Camara M., & Keli Z.J. (2012). Les cultures du soja et du niébé, de bons précédents pour la culture du riz pluvial en Côte d'Ivoire. *J. Appl. Biosci.* 60: 4433- 4437.
- Koné W.A. (2009). Qualité des sols en zone de savane humide de Côte d'Ivoire : Utilisation des légumineuses herbacées comme alternative pour une valorisation des terres marginales et une agriculture durable. Thèse unique de Doctorat, n° 46, Université Abobo Adjamé, Côte d'Ivoire.
- Koné A.W., Edoukou E.F., Gonnety J.T., N'Dri A.N.A., Assémien L.F.E., Angui P.K.T., & Tondoh J.E. (2012b). Can the shrub *Chromolaena odorata* (Asteraceae) be considered as improving soil biology and plant nutrient availability? *Agrofor. Syst.* 85: 233-245.
- Koné W.A., Edoukou F.E., Orendo-Smith R., & Tondoh E.J (2012a). Earthworms in *Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson (Asteraceae) fallows along a chronosequence: Changes in community structure and identification of persistent and indicator species. *Pedobiologia* 55: 193-201.

- Koné W.A., Edoukou F.E., Tondoh E.J., Gonnety T.J., Angui K.T.P., & Masse D. (2012b). Comparative study of earthworm communities, microbial biomass, and plant nutrient availability under 1-year *Cajanus cajan* (L.) Mill sp and *Lablab purpureus* (L.) Sweet cultivations versus natural regrowth in a guinea savanna zone. *Biol. Fertil. Soils* 48:337-347.
- Koné W.A., Tondoh E.J., Angui K.T.P., Bernhard-Reversat F., Loranger-Merciris G., Brunet D., & Brédoumi K.T.S (2008a). Is soil quality improvement by legume cover crops a function of the initial soil chemical characteristics? *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 82: 89-105.
- Koné W.A., Tondoh E.J., Bernhard-Reversat F., Loranger-Merciris G., Brunet D., & Tano Y. (2008b). Changes in soil biological quality under legume- and maize-based farming systems in a humid savanna of Côte d'Ivoire. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12: 147-155.
- Kong A.Y.Y., Hristova K., Scow K.M., & Six J. (2010). Impacts of different N management regimes on nitrifier and denitrifier communities and N cycling in soil microenvironments. *Soil Biol. Biochem.* 42: 1523-1533.
- Kouassi N.A. (2000). Utilisation des plantes de couverture comme substitution à la jachère pour la culture de la canne à sucre en Côte d'Ivoire. In: Floret Ch., Pontanier R. (eds). La jachère en Afrique tropicale, Vol. 1, John Libbey Eurotext, Paris, pp 611-615.
- Kouamé N.F.S. (2007). Stratégies de promotion des jachères améliorées pour une gestion durable des sols dans la zone périphérique de la réserve de Lamto (Ahérérou 2). Mémoire de DUT, Université d'Abobo-Adjamé, 32p.
- Koulibaly B., Traoré O., Dakuo D., Zombré P.N., & Bondé D. (2010). Effets de la gestion des résidus de récolte sur les rendements et les bilans culturaux d'une rotation cotonnier-maïs-sorgho au Burkina Faso. *Tropicultura* 28: 184-189.
- Koutika L-S., & Rainey H.J. (2010). *Chromolaena odorata* in different ecosystems: weed or fallow plant? *Appl. Ecol. Environ. Res.* 8: 131-142.
- Koutika L.S., Hauser S., & Henrot J. (2001). Soil organic matter assessment in natural regrowth, *Pueraria phaseoloides* and *Mucuna pruriens* fallow. *Soil Biol. Biochem.* 33: 1095-1101.
- Koutika L.S., Hauser S., Meutem-Kamga G., & Yerima B. (2005b). Comparative study of soil properties under *Chromolaena odorata*, *Pueraria phaseoloides* and *Calliandra calothyrsus*. *Plant Soil* 266: 315-323.
- Koutika L.S., Ndango R., & Hauser S. (2004). Nutrient concentrations and NH₄-N mineralization under different soil and fallow types in southern Cameroon. *Plant Nutr. Soil Sci.* 167: 591-595.
- Koutika L.S., Sanginga N., Vanlauwe B., & Weise S. (2002). Chemical properties and soil organic matter assessment in fallow systems in the forest margins benchmark. *Soil Biol. Biochem.* 34: 757-765.
- Kowalchuk G.A., & Stephen J.R. (2001). Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. *Annu. Rev. Microbiol.* 55: 485-529.

- Kraft B., Strous M., & Tegetmeyer H.E. (2011). Microbial nitrate respiration - genes, enzymes and environmental distribution. *J. Biotechnol.* 155:104-117.
- Krämer S., & Green D.M. (2000). Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland. *Soil Biol. Biochem.* 32: 179-188.
- Krämer S., Marhan S., Haslwimmer H., Ruess L., & Kandeler E. (2013). Temporal variation in surface and subsoil abundance and function of the soil microbial community in an arable soil. *Soil Biol. Biochem.* 61: 76-85.
- Ladd J.N. (1978). Origin and range of enzymes in soil. *In: Soil Enzymes* (R. G. Burns, Ed.), Academic Press, London pp. 51-96.
- Ladd J.N., Foster R.C., Nannipieri P., & Oades M.J. (1996). Soil structure and biological activity. *In: Bollag, J.M., Stotzky, G.(Eds.), Dekker, New York, Soil Biochem.* 9: 23-77.
- Lammel D.R., Feigl B.J., Cerri C.C., & Nüsslein K. (2015). Specific microbial gene abundances and soil parameters contribute to C, N, and greenhouse gas process rates after land use change in Southern Amazonian Soils. *Front. Microbiol.* 6:1057.
- Lamotte M., & Tireford J.L. (1988). La station climatologique de Lamto (Côte d'Ivoire), présentation des résultats de l'année 1987. *In : Lamotte M. et Tireford J.L. (Eds): Le climat de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire) et sa place dans les climats de l'Ouest africain. Travaux des chercheurs de la station de Lamto n° 8, pp. 1-29.*
- Landgraf D., & Klose S. (2002). Mobile and readily available C and N fractions and their relationship to microbial biomass and selected enzyme activities in a sandy soil under different management systems. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 165: 9-16.
- Lawrence D., Radel C., Tully K., Schmoock B., & Schneider L. (2010). Untangling a decline in tropical forest resilience: constraints on the sustainability of shifting cultivation across the globe. *Biotropica* 42: 21-30.
- Le Roux X. (2006). Climate. *In: "Lamto : structure, functioning, and dynamics of a savanna ecosystem."* (Abbadie L. Gignoux J. Le Roux X. and Lepage M. Eds), Springer Verlag, Ecological Studies, 179, New York, pp. 25-44.
- Le Roux X., Poly F., Currey P., Commeaux C., Hai B., Graeme W. Nicol G.W., Prosser J.I., Schloter M., Attard E., & Klumpp K., (2008). Effects of aboveground grazing on coupling among nitrifier activity, abundance and community structure. *ISME J.* 2: 221-232.
- Le Roux X., Nicholas J., Bouskill N., Niboyet A., Barthes L., Dijkstra P., Field C.B., Hungate B.A., Lerondelle C., Pommier T., Tang J., Terada A., Tourna M., & Poly F. (2016). Predicting the responses of soil nitrite-oxidizers to multi-factorial global change: a trait-based modelling approach. *Front. Microbiol.* 7: 1-13.
- Le Roux X., Schmid B., Poly F., Barnard R.L., Niklaus P.A., Guillaumaud N., Habekost M., Oelmann Y., Philippot L., Salles J.F., Schloter M., Steinbeiss S., & Weigelt A. (2013). Soil

environmental conditions and microbial build-up mediate the effect of plant diversity on soil nitrifying and denitrifying enzyme activities in temperate grasslands. *PLoS One* 8: e1069.

Leininger S., Urich T., Schloter M., Schwark L., Qi J., Nicol G.W., Prosser J.L., Schuster S.C., & Schleper C. (2006). Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nat.* 442: 806-809.

Leirós M.C., Trasar-Cepeda C., Seoane S., & Gil-Sotres F. (2000). Biochemical properties of acid soils under climax vegetation (Atlantic oakwood) in an area of the European temperate humid zone (Galicia, NW Spain): general parameters. *Soil Biol. Biochem.* 32: 733-745.

Lenhard G. (1956). The dehydrogenase activity in soil and temperature, soil aeration status and soil as a measure of the activity of soil microorganisms. Z.moisture content and is also often used as a measure Pflanzenernaehr. *Dueng. Bodenkd.* 73: 1-11.

Leriche H., Le Roux X., Desnoyers F., Benest D., Simioni G., & Abbadie L. (2003). Grass response to clipping in an African savanna: testing the grazing optimisation hypothesis. *Ecol. Appl.* 13: 1346-1354.

Li X.Z., & Sarah P. (2003). Enzyme activities along a climatic transect in the Judean Desert. *Catena* 53: 349-363.

Li S.M., Li L., Zhang F.S., & Tang C., (2004). Acid phosphatase role in chickpea/maize intercropping. *Ann Bot* 94: 297-303.

Liu B., Mørkved P.T., Frostegård Å., & Bakken L.R. (2010). Denitrification gene pools, transcription and kinetics of NO, N₂O and N₂ production as affected by soil pH. *FEMS Microbiol. Ecol.* 72: 407-417.

Liu J., Xie J., Chu Y., Sun C., Chen C., & Wang Q. (2008). Combined Effect of Cypermethrin and Copper on Catalase Activity in Soil. *J. Soils Sed.* 8: 327-332.

Lu L., Yin S., Liu X., Zhang W., Gu T., Shen Q., & Qiu H. (2013). Fungal networks in yield-invigorating and -debilitating soils induced by prolonged potato monoculture. *Soil Biol. Biochem.* 65: 186-194.

Ma W., Jiang S., Assémien F., Qin M., Ma B., Xie Z., Liu Y., Feng H., Du G., Ma X., & Le Roux X. (2016). Response of microbial functional groups involved in soil N cycle to N, P and NP fertilization in Tibetan alpine meadows. *Soil Biol. Biochem.* 101: 195-206.

Mackensen J., Hölscher D., Klinge R., & Fölster H. (1996). Nutrient transfer to the atmosphere by burning of debris in eastern Amazonia. *Forest Ecol. Management* 86: 121-128.

Madejón E., Burgos P., López R., & Cabrera F. (2001). Soil enzymatic response to addition of heavy metals with organic residues. *Biol. Fert. Soils* 34: 144-150.

Mahli S.S., McGill W.B., & Hyborg M. (1990). Nitrate losses in soil: effect of temperature, moisture and substrate concentration. *Soil Biol. Biochem.* 22: 773-787.

- Makoi J.H.Jr., & Ndakidemi P.A. (2008). Selected soil enzymes: examples of their potential roles in the ecosystem. *Afric. J. Biotechnol.* 7: 181-191.
- Mangalassery S., Mooney S.J., Sprkes D.L., Fraser W.T., & Sjogersten S. (2015). Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils. *Eur. J. Soil Biol.* 68 : 9-10.
- Manlay R. (2000). Dynamique de la matière organique à l'échelle d'un terroir agro-pastoral de la savane ouest-africaine (Sud-Sénégal). Thèse Doctorat ès sciences de l'environnement. Ecole Nationale du Génie Rural, des Eaux et Forêts. Université de Montpellier, 246 p.
- Marchant H.K., Lavik G., Holtappels M., & Kuypers M.M. (2014). The fate of nitrate in intertidal permeable sediments. *PLoS ONE* 9:e104517.
- Martin G., (1979). Le problème de l'azote dans les eaux. Technique et Documentation, éd France-Agricole.
- Materechera S.A., & Mkhabela T.S. (2001). Influence of land-use on properties of a ferralitic soil under low external input farming in southeastern Swaziland. *Soil Tillage Res.* 62: 15-25.
- Matumoto-Pintro P.T. (1996). Rôle des phosphatases dans l'utilisation du phosphore organique par les champignons ectomycorhiziens et leurs associations avec le pin laricio de Corse. Influence des surfaces adsorbantes sur l'activité des phosphatases. Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier, Montpellier, pp. 57-70.
- McGrath D.A., Smith C.K., Gholz H.L., & Oliveira F.D. (2001). Effects of land-use change on soil nutrient dynamics in Amazonia. *Ecosyst.* 4: 625-645.
- Mendum T.A., Sockette R.E., & Hirsch P.R. (1999). Use of molecular and isotopic techniques to monitor the response of autotrophic ammonia oxidizing populations of β subdivisions of the class proteobacteria in arable soils to nitrogen fertilizer. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4155-4162.
- Mercer D.E., (2004). Adoption of agroforestry innovations in the tropics: a review. *Agroforestry Syst.* 62: 311-328.
- Mirza B.S., Potisap C., Nusslein K., Bohannan B.J.N., & Rodriguesa J.L.M. (2014). Response of free living nitrogen-fixing microorganisms to land use change in amazon rainforest. *Appl Environ. Microbiol.* 80 : 281-288.
- Mishra A., Das D., & Saren S. (2013). Preparation of GPS and GIS based soil fertility maps for Khurda district, Odisha. *Indian Agriculturist* 57: 11-20.
- Mitja D., & Puig D. (1993). Essartage, culture itinérante et reconstitution de la végétation dans les jachères en savanes humides de Côte d'Ivoire. In Floret C. et Serpantier G. (éds.), La jachère en Afrique de l'Ouest. Collection Colloques et Séminaires, ORSTOM, IRD, Paris, p. 377-392.

- Moeskops B., Buchan D., Sleutel S., Herawaty L., Husen E., Saraswati R., Setyorini D., & De Neve S. (2010). Soil microbial communities and activities under intensive organic and conventional vegetable farming In West Java, Indonesia. *Appl. Soil Ecol.* 45: 112-120.
- Monreal C.M., & Bergstrom D.W. (2000). Soil enzymatic factors expressing the influence of land use, tillage system and texture on soil biochemical quality. *Can. J. Soil Sci.* 80: 419-428.
- Moore A.B. (2004). Alien Invasive species: Impacts on Forests and Forestry. Forest Health and Biosecurity Working Papers FAO, 66 p. Rome, Italia.
- Moreno J.L., Garcia C., & Hernandez T. (2003). Toxic effect of cadmium and nickel on soil enzymes and the influence of adding sewage sludge. *European J. Soil Sci.* 54: 377-386.
- Morley N., Baggs E.M., Dörsch P., & Bakken L. (2008). Production of NO, N₂O and N₂ by extracted soil bacteria, regulation by NO₂⁻ and O₂ concentrations. *FEMS Microbiol. Ecol.* 65: 102-112.
- Morimoto S., Hayatsu M., Hoshino Y.T., Nagaoka K., Yamazaki M., Karasawa T., Takenaka M., & Akiyama H. (2011). Quantitative analyses of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) in fields with different soil types. *Microbes Environ.* 26: 248-53.
- Mosier A.C., & Francis C.A. (2008). Relative abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the San Francisco Bay estuary. *Environ. Microbiol.* 10: 3002-3016.
- Mulder A., Graaf A.A., Robertson L.A., & Kuenen J.G. (1995). Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. *FEMS Microbiol. Ecol.* 16: 177-184.
- Mulumba L.N., & Lal (2008). Mulching effects on selected soil physical properties. *Soil tillage Res.* 98: 106-111.
- Müller M.M., Sundman V., & Skujins (1980). Denitrification in low pH spodosols and peats determined with the acetylene inhibition method. *Environ. Microbiol.* 40: 235-239.
- N'Goran A., & Kanga N.A. (2000). Influence d'un précédent de légumineuse herbacée et d'une jachère courte de deux ans sur la productivité du maïs au nord de la Côte d'Ivoire. In : Floret Ch., Pontanier R. (Eds), La jachère en Afrique tropicale, Vol. 1, John Libbey Eurotext, Paris, pp 616-621.
- N'Goran K.E., Kassin K.E., Zohouri G.P., & Yoro G.R. (2012). Gestion améliorée de la jachère dans le système de culture à base d'igname par l'utilisation de légumineuse de couverture. *J. Appl. Biosci.* 52: 3716-3724.
- Nannipieri P., Greco S., & Ceccanti B. (1990). Ecological significance of the biological activity in soil. In: Bollag J.M. & Stotzky G., eds. New York, USA: Marcel Dekker. *Soil Biochem.* 6: 293-355.

- Nannipieri P., Kandeler E., & Ruggiero P. (2002). Enzyme activities and microbiological and biochemical processes in soil. *In*: Burns RG, Dick RP (eds) *Enzymes in the environment: activity ecology and applications*. Marcel Dekker, New York, pp 1-33.
- Nannipieri P., Muccini L., & Ciardi C. (1983). Microbial biomass and enzyme activities: production and persistence. *Soil Biol. Biochem.* 15: 679-685.
- Neill C., Steudler P.A., Garcia-Montiel D.C., Melillo J.M., Feigl B.J., Piccolo M.C., & Cerri C.C. (2005). Rates and controls of nitrous oxide and nitric oxide Emissions following conversion of forest to pasture in Rondônia. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 71: 1-15.
- N'Dayegamiye A., Giroux M., & Gasser M.O. (2007). La contribution en azote du sol reliée à la minéralisation de la MO : facteur climatique et régions agricoles influençant les taux de minéralisation d'azote. CRAAQ – OAQ, Colloque sur l'azote, 28p.
- Newton W.E. (2007). Physiology, biochemistry, and molecular biology of nitrogen fixation: Biology of the nitrogen cycle, edited by: Bothe, H., Ferguson, S. J., and Newton, W. E., Elsevier, 20 Amsterdam, Oxford, 109-130.
- Ngobo M., McDonald M., & Weise S. (2004). Impacts of type of fallow and invasion by *Chromolaena odorata* on weed communities in crop fields in Cameroon. *Ecol. Soc.* 9: 1-15.
- Niboyet A., Le Roux X., Dijkstra P., Hungate B.A., Barthes L., Blankinship J.C., Brown J.R., Field C.B., & Leadley P.W. (2011). Testing interactive effects of global environmental changes on soil nitrogen cycling. *Ecosphere* 2: 1-24.
- Nicol G.W., Leininger S., Schleper C., & Prosser J.I. (2008). The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria. *Environ. Microbiol.* 10: 2966-2978.
- Norgrove L., & Hauser S. (2016). Biophysical criteria used by farmers for fallow selection in West and Central Africa. *Ecol. Indicat.* 61: 141-147.
- Norgrove L., Yonghachea P.F., & Csuzdi C.S. (2008). Earthworm diversity and densities in land invaded by *Imperata cylindrica* and *Chromolaena odorata* in the Western Cameroon Highlands. *Adv. Earthworm Taxon.* 3: 163-173.
- Norton J.M., Alzerreca J.J., Suwa Y., & Klotz M.G., (2002). Diversity of ammonia monooxygenase operon in autotrophic ammonia-oxidizing bacteria Archives of Microbiology 177: 139-149.
- Norton J.M., Klotz M.G., Stein L.Y., Arp D.J., Bottomley P.J., Chain P.S.G., Hauser L.J., Land M.L., Larimer F.W., Shin M.W., & Starkenburg S.R. (2008). Complete Genome Sequence of *Nitrosospora multiformis*, an Ammonia-Oxidizing Bacterium from the Soil Environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 3559-3572.
- Nowka B., Daims H., & Spieck E. (2015). Comparison of oxidation kinetics of nitrite-oxidizing bacteria: nitrite availability as a key factor in niche differentiation. *Appl. Environ. Microbiol.* 81: 745-753.

NRM department of Natural resources and Mines (2005). Moreton draft water resources plan: information report. Department of natural resources Mines Brisbane.

Oh B.C., Choi W.C., Park S., Kim Y.O., & Oh T.K. (2004). Biochemical properties and substrate specificities of alkaline and histidine acid phytases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 63: 362-372.

Ohno T., & Erich M.S. (1990). Effect of wood ash application on soil pH and soil test nutrient levels. *Agric. Ecosystems Environ.* 32: 223-239.

Ohyama T. (2006). Introduction. *In: Biofertilizer Manual.* Japan Atomic Industrial Forum (JAIF), Japan. p.1-2.

Okpamen S.U., Ilori E.G., Agho I., Nkechika A., Maidoh F.U., & Okonjo P.N. (2013). Influence of depths and soil pH on forms of magnesium in soils of four parent materials (Rhodic paleudults, Rhodic tropudalfs, Oxic tropudalfs and Aquic tropossamment). *J. Soil Sci. Environ. Management* 4: 71-76.

Olasantan F.O. (1999). Effect of time of mulching on soil temperature and moisture regime and emergence, growth and yield of white yam in western Nigeria. *Soil Till. Res.* 50: 215-221.

Olsen S.R., & Sommers L.E. (1982). Phosphorus. *In: Page, A.L. and Miller, R.H., Eds., Methods of Soil Analysis, Part 2, 2nd Edition, Agronomy Monograph 9, ASA and SSSA, Madison, pp 403-430.*

Oorts K., Vanluwe B., & Merckx R. (2003). Cation exchange capacity of organic matter in a Ferric Lixisol with different organic matter inputs. *Agric. Ecosyst. Environ.* 100: 161-171.

Op den Camp H.J.M., Jetten M.S.L., & Strous M. (2007). Anammox *In: Biology of the Nitrogen Cycle.* Bothe H. Ferguson S.J. and Newton W.E. (eds). Amsterdam: Elsevier, pp. 245-262.

Orellana L.H., Rodriguez-R L.M., Higgins B.S., Chee-Sanford J.C., Sanford R.A., Ritalahti K. M., Löffler F.E., & Konstantinidis K.T. (2014). Detecting Nitrous Oxide Reductase (nosZ) Genes in Soil Metagenomes: Method Development and Implications for the Nitrogen Cycle. *Res.* 5 e01193-14.

Ogram A., Sayler G.S., & Barkay T. (1987). The extraction and purification of microbial DNA from sediments. *J. Microbiol. Methods* 7: 57-66.

Ouédraogo A., Yombi L., Doumbia S., Eyhorn F., DISCHL R., (2008). Guide de production du coton biologique et équitable (manuel de référence pour l'Afrique de l'Ouest. *Helvetas* 49 p.

Pacific Ecosystem at Risk (PIER). (2003) *Cananga odorata*. Pacific Island Ecosystem at Risk (PIER) «http://www.hear.org/pier/species/cananga_odorata.htm».

Pacific Ecosystem at Risk (PIER). (2004). *Cananga odorata*: Weed Risk Assessment Results. Pacific Island Ecosystems at Risk (PIER). «http://www.hear.org/pier/wra/pacific/cananga_odorata_htmlwra.htm»

- Pagney P. (1988). Le climat de Lamto (Côte d'Ivoire). *In* : Le climat de la savane de Lamto (Côte d'Ivoire) et sa place dans les climats de l'Ouest Africain. Lammolle M. et Tireford J.L. (Eds), Bulletin des Travaux des Chercheurs Lamto (R.C.I.), 8: 31-79.
- Pajares S., & Bohannan B.J.M. (2016) Ecology of Nitrogen Fixing, Nitrifying, and Denitrifying Microorganisms in Tropical Forest Soils. *Front. Microbiol.* 7: 1045.
- Pallo F.J.P., Sawadogo N., Sawadogo L., & Sedogo P.M. (2008). Statut de la matière organique des sols dans la zone sud-soudanienne au Burkina Faso. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 12: 291-301.
- Pan G., Li L., Quan G., Yan J., Ding C., & Luo A. (2010). Adsorption, immobilization, and activity of β -glucosidase on different soil colloids. *J. Colloid Interface Sci.* 348: 565-570.
- Pang P.C.K., & Kolenko H. (1986). Phosphomonoesterase activity in forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 18: 35-40.
- Parham J.A., & Deng S.P. (2000). Detection, quantification and characterization of β -glucosaminidase activity in soil. *Soil Biol. Biochem.* 32: 1183-1190.
- Patra A.K., Abbadie L., Clays-Josserand A., Degrange V., Grayston S.J., Loiseau P., Louault F., Mahmood S., Nazaret S., Philippot L., Poly F., Prosser J.I., Richaume A., & Le Roux X. (2005). Effect of grazing on microbial functional groups involved in soil N dynamics. *Ecol Monographs* 75: 65-80.
- Pattanayak S., Mercer D.E., Sills E., & Yang J.C. (2003). Taking stock of agroforestry adoption studies. *Agrofor. Syst.* 57: 173-186.
- Pavel R., Doyle J., & Steinberger Y. (2004). Seasonal pattern of cellulase concentration in desert soil. *Soil Biol. Biochem.* 36: 549-554.
- Pearson H.E., & Vitousek P.M. (2002). Soil phosphorus fractions and symbiotic nitrogen fixation across a substrate-age gradient in Hawaii. *Ecosystems* 5: 587-596.
- Pedersen, M. W., S. Overballe-Petersen, L. Ermini, C. D. Sarkissian, J. Haile, M. Hellstrom, J. Spens, P. F. Thomsen, K. Bohmann, E. Cappellini, I. B. Schnell, N. A. Wales, C. Carøe, P. F. Campos, A. M. Z. Schmidt, M. T. P. Gilbert, A. J. Hansen, L. Orlando, and E. Willerslev. (2015). Ancient and modern environmental DNA. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 370(1660).
- Perraud (1971). Les sols in le milieu naturel de la Côte d'Ivoire. Mémoire ORSTOM n° 50. Paris.
- Pesek J., Stanford G., & Case N.L. (1971). Nitrogen Production and Use. *In*: R.A. Olson (ed.) Fertilizer Technology and Use, Soil Sci. Soc. Amer. Madison, WI. pp. 217-269.
- Petersen D.G., Blazewicz S.G., Firestone M., Herman D.J., Turetsky M., & Waldrop M. (2012). Abundance of microbial genes associated with nitrogen cycling as indices of biogeochemical process rates across a vegetation gradient in Alaska. *Environ. Microbiol.* 14: 993-1008.

- Pett-Ridge J., Petersen D.G., Nuccio E., & Firestone M.K. (2013). Influence of oxic/anoxic fluctuations on ammonia oxidizers and nitrification potential in a wet tropical soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 85: 179-194.
- Pett-Ridge J., Silver W.L., & Firestone M.K. (2006). Redox fluctuations frame microbial community impacts on N-cycling rates in a humid tropical forest soil. *Biogeochem.* 81: 95-110.
- Philippot L., Andert J., Jones C.M., Bru D., & Hallin S. (2011). Importance of denitrifiers lacking the genes encoding the nitrous oxide reductase for N₂O emissions from soil. *Global Change Biol.* 17: 1497-1504.
- Philippot L., Cuhel J., Saby N.P., Cheneby D., Chronakova A., Bru D., Arrouays D., Martin-Laurent F., & Simek M. (2009). Mapping field-scale spatial patterns of size and activity of the denitrifier community. *Environ. Microbiol.* 11: 1518-1526. OK
- Philippot L., Hallin S., & Schloter M. (2007). Ecology of Denitrifying Prokaryotes in Agricultural Soil. *Adv. Agron.* Volume 96 ISSN 0065-2113. OK
- Phillips C.J., Harris D., Dollhopf S.L., Gross K., Prosser J., & Paul E.A. (2000). Effects of agronomic treatments on structure and function of ammonia-oxidizing communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 5410-5418. OK
- Pietri J.C.A., & Brookes P.C. (2008). Relationships between soil pH and microbial properties in a UK arable soil. *Soil Biol. Biochem.* 40: 1856-1861.
- Piotrowska A., Jacek D., Barbara N.W., & Ryszard Z. (2011). Field-scale variability of topsoil dehydrogenase and cellulase activities as affected by variability of some physico-chemical properties. *Biol. Fertil. Soils* 47: 101-109.
- Pocheville A., (2011). *Les Mondes Darwiniens. L'évolution de l'évolution*, Paris, Matériologiques, 897-933 p. (ISBN 978-2-919694-04-4, lire en ligne [archive]), « La Niche Ecologique : Histoire et Controverses Récentes ».
- Poly F., Wertz S., Brothier E., & Degrange V. (2008). First exploration of Nitrobacter diversity in soils by a PCR cloning-sequencing approach targeting functional gene *nxrA*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 63: 132-140.
- Powlson D.S., Brookes P.C., & Christensen B.T. (1987). Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol. Biochem.* 19: 159-164.
- Preisler A., de Beer D., Lichtslag A., Lavik G., Boetius A., & Jørgensen B.B. (2007). Biological and chemical sulfide oxidation in a Beggiatoa inhabited marine sediment. *ISME J* 1: 314-353.
- Priemé A., Braker G., & Tiedje J.M. (2002). Diversity of Nitrite Reductase (*nirK* and *nirS*) Gene Fragments in Forested Upland and Wetland Soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1893-1900.

- Prince R.C., & George G.N. (1997). The remarkable complexity of hydroxylamine oxidoreductase. *Nat. Struct. Biol.* 4: 247-250.
- Prosser J.I. (1989). Autotrophic nitrification in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* 30: 125-181.
- Prosser J.I., & Nicol G.W. (2012). Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: the quest for niche specialisation and differentiation. *Trends Microbiol.* 20: 523-531.
- Prosser J.L., & Nicol G.W. (2008). Relative contributions of archaea and bacteria to aerobic ammonia oxidation in the environment. *Environ. Microbiol.* 10: 2931-2941.
- Quiquampoix H., & Mousain D. (2005). Enzymatic hydrolysis of organic phosphorus. In: Turner B.L. Frossard E. Baldwin D.S. (eds) *Organic Phosphorus in the Environment*. CABI Publishing, Wallingford, pp 89-112.
- Rabalais N.N., Turner R.E., Wiseman W.J.Jr., & Dortch Q. (1998). Consequences of the 1993 Mississippi River flood in the Gulf of Mexico. *Regul. Rivers Res. Mgmt* 14: 161-177.
- Ramakrishna A., Tam H.M., Wani S.P., & Long T.D. (2006). Effect of mulch on soil temperature, moisture, weed infestation and yield of groundnut in northern Vietnam. *Field Crops Res.* 95: 115-125.
- Ravishankara A.R., Daniel J.S., & Portmann R.W. (2009). Nitrous oxide (N₂O): the dominant ozone-depleting substance emitted in the 21st century. *Sci.* 326: 123-125.
- Reed S.C., Cleveland C.C., & Townsend A.R. (2011). Functional ecology of free living nitrogen fixation: a contemporary perspective. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 42:489-512. ecolsys-102710-145034.
- Reed S.C., Townsend A.R., Cleveland C.C. & Nemergust D.R. (2010). Microbial community shifts influence patterns in tropical forest nitrogen fixation. *Oecologia* 164 : 521-531.
- Reed S.C., Seastedt T.R., Mann C.M., Suding K.N., Townsend A.R., & Cherwin K.E. (2007). Phosphorus fertilization stimulates nitrogen fixation and increases inorganic nitrogen concentrations in a restored Prairie. *Appl. Soil Ecol.* 36: 238-242.
- Reed M.S., Fazey I., Stringer L.C., Raymond C.M., Geeson N., Ioris A., Kruger B., Phillipson J., Prell C., Quinn C.H., Seely M., van der Werff J., Ten Bosch M., Akhtar-Schuster M., & Vergunst P. (2013). Knowledge management for land degradation monitoring and assessment: a conceptual framework. *Land Degradation & Development*. (in press).
- Reid T.W., & Wilson I.B. (1971). E. Coli Alkaline Phosphatase. In: Boyer P.D. (ed.) *The Enzymes*, Vol 4 New York, USA 7 Academic Press
- Reverchon F., Bai S.H., Liu X., & Blumfield T.J. (2015). Tree plantation systems influence nitrogen retention and the abundance of nitrogen functional genes in the solomon islands. *Front. Microbiol.* 6:1439.

- Riah W., Trap J., Cheviron N., Mougin C., Criquet S., Houot S., Legras M., Vian J.F., Bispo A., Grand C., Galsomiès L., Peres G., Laval K., & Trinsoutrot-Gattin I. (2012). Effet des pratiques agricoles sur treize activités enzymatiques du sol. Résultats du programme "Bioindicateurs". 11èmes Journées d'Etude des Sols, Mars, Versailles, France.
- Ribbons R.R., Levy-Booth D.J., Masse J., Grayston S.J., McDonald M.A., Vesterdal L., & Prescott C.E. (2016). Linking microbial communities, functional genes and nitrogen-cycling processes in forest floors under four tree species. *Soil Biol. Biochem.* 103 : 181-191.
- Riou G. (1974). Les sols de la savane de Lamto. In: Analyse d'un écosystème tropical humide : la savane de Lamto (Côte d'Ivoire). Les facteurs physiques du milieu. Publications du laboratoire de Zoologie de l'ENS, Paris, pp. 3-38.
- Robertson G.P., & Tiedje J.M. (1988). Denitrification in a humid tropical rainforest. *Nat.* 336: 756-759.
- Robinson D.W. (1988). Mulches and herbicides in ornamental plantings. *Hort. Sci.* 23: 547-552.
- Rodríguez G., Massol-Dey A., Krishnani K.K., Ritalahti K.M., Nissen S., Konstantinidis K.T., & Leoffler F.E. (2012). Unexpected nondenitrifier nitrous oxide reductase gene diversity and abundance in soils. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 109: 19709-19714.
- Rodriguez H., & Fraga R. (1999). Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotchnol. Adv.* 17: 319-339.
- Roe N.E. (1998). Compost utilization for vegetable and fruit crops. *Hort. Sci.* 33: 934-937.
- Roger P.A., & Garcia J-L. (2001). Introduction à la microbiologie du sol. Polycopié de cours Université de Provence, 192p.
- Rojo M.J., Garcedo S.G., & Mateo M.P. (1990). Distribution et characterization of phosphatase and organic phosphorus in soil fractions. *Soil Biol Biochem* 22: 169-174.
- Rondon M.R., August P.R., Bettermann A.D., Brady S.F., Grossman T.H., Liles M.R., Loiacono K.A., Lynch B.A., MacNeil I.A., Minor C., Tiong C.L., Gilman M., Osburne M.S., Clardy J., Handelsman J., & Goodman R.M. (2000). Cloning the soil metagenome: a strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 2541-2547.
- Rothauwe J.H., Witzel K.P., & Liesack W. (1997). The ammonia monooxygenase structural gene amoA as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 4704-4712.
- Rousseau G.X., Silva P.R.S., & de Carvalho C.J.R. (2010). Earthworms and arthropods as soil health indicators in traditional and no-fire agro-ecosystems from Eastern Amazon. *Acta Zool. Mexicana Esp.* 1: 1-16.

- Rughöft S., Herrmann M., Lazar C.S., Cesarz S., Levick S.R., Trumbore S.E., & Küsel K. (2016). Community composition and abundance of bacterial, archaeal and nitrifying populations in savanna soils on contrasting bedrock material in Kruger National Park, South Africa. *Front. Microbiol.* 7: 1-16.
- Ryoichi D., & Senaratne L.R. (2009). Soil dehydrogenase in a land degradation-rehabilitation gradient: observations from a savanna site with a wet/dry seasonal cycle. *Revista De Biologia Tropical* 57: 223-234.
- Saa A., Trasar-cepeda M.B.F., Gil-Sotres C., & Carballas T. (1993). Changes phosphatase in soil phosphorus and acid activity immediately following forest fires. *Soil Biol. Biochem.* 25: 1223-1230.
- Saddler J.N. (1986). Factors limiting the efficiency of cellulase enzymes. *Microbiol. Sci.* 3: 84-87.
- Saha S., Prakash V., Kundu S., Kumar N., & Mina B.L. (2008). Soil enzymatic activity as affected by long term application of farm yard manure and mineral fertilizer under a rainfed soybean–wheat system in N-W Himalaya. *Eur. J. Soil Biol.* 44: 309-315.
- Sahan E., & Muyzer G (2008). Diversity and spatio-temporal distribution of ammonia-oxidizing Archaea and Bacteria in sediments of the Westerschelde estuary. *FEMS Microbiol Ecol.* 64: 175-186.
- Salazar S., Sanchez L., Alvarez J., Valverde A., Galindo P., Igual J., Peix A., & Santa-Regina I. (2011). Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. *Ecol Engineering* 37: 1123-1131.
- Sanchez P.A., Villachica J.H., & Bandy D.E. (1983). Soil fertility dynamics after clearing a tropical rainforest in Peru. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47: 1171-1178.
- Sanford R.A., Wagner D.D., Wu Q., Chee-Sanford J.C., Thomas S.H., Cruz-García C., Rodríguez G., Massol-Deyá A., Krishnani K.K., Ritalahti K.M., Nissen S., Konstantinidis K.T., & Löffler F.E. (2012). Unexpected non denitrifier nitrous oxide reductase gene diversity and abundance in soils. *Proc.Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109: 19709-19714.
- Santoro A.E., Francis C.A., de Sienes N.R., & Boehm A.B. (2008). Shifts in the relative abundance of ammonia-oxidizing bacteria and archaea across physicochemical gradients in a subterranean estuary. *Environ. Microbiol.* 10: 1068-1079.
- Šarapatka B. (2003). Phosphatase activities (ACP, ALP) in agroecosystem soils. Doctoral thesis of Swedish Acta Universitatis Agriculturae Sueciae in Department of Ecology and Crop Production Science ISSN 1401-6249, ISBN 91-576-6403-X. 113 pp.
- Sardans J., & Peñuelas J. (2005). Drought decreases soil enzyme activity in a Mediterranean Quercus ilex L. forest. *Soil Biol. Biochem.* 37: 455-461.
- Sardans J., & Peñuelas J. (2010). Soil enzyme activity in a Mediterranean forest after six years of drought. *Soc. Soil Sci. Am. J.* 74: 838-851.

- Sastre-Conde I., Cabezas J.G., Guerrero A., Vicente M.A., & Lobo M.C. (2007). Evaluation of the soil biological activity in a remediation soil assay using organic amendments and vegetal cover. *Sci. Total Environ.* 378: 205-208.
- Saxena K.G., & Ramakrishnan P.S. (1983b). Growth and allocation strategies of some perennial weeds of slash and burn agriculture (Jhum) in northeastern India. *Canadian J. Botany* 61:1300-1306.
- Schales F.D., & Sheldrake R.Jr. (1966). Mulch effects on soil conditions and muskmelon response. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 88: 425-430.
- Schloss P.D., Westcott S.L., Ryabin T., Hall J.R., Hartmann M., Hollister E.B., Lesniewski R.A., Oakley B.B., Parks D.H., Robinson C.J., Sahl J.W., Stres B., Thallinger G.G., Van Horn D.J., & Weber C.F. (2009). Introducing mothur: open source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 7537-7541.
- Schmidt G., & Laskowski Sr.M (1961). Phosphate ester cleavage (Survey). In: Boyer PD, Lardy H, Myrback K (eds). *The enzymes*, 2nd edn. Academic Press, New York, pp. 3-35.
- Schramm A., De Beer D., Gieseke A., & Amann R. (2000). Microenvironments and distribution of nitrifying bacteria in a membrane-bound biofilm. *Env. Microbiol.* 2: 680-686.
- Schütz L., Gattinger A., Meier M., Müller A., Boller T., Mäder P., & Mathimaran N. (2018). Improving Crop Yield and Nutrient Use Efficiency via Biofertilization - A Global Meta-analysis. *Front. Plant Sci.* 8: 2204.
- Scopel E., Triomphe B., Affholder F., Coabeels M., Valadares X.J.H., Lahmar R., Recous S., Bernoux M., Blanchard E., Mendes I., & Tourdonnet S. (2012). Conservation agriculture cropping systems in temperate and tropical conditions performance and impacts. A review. *Agron. Sustain. Develop.* 33: 113-130.
- Serpantié G., & Ouattara B. (2001). Fertilité et jachères en Afrique de l'Ouest. In: Floret Ch. Pontanier R. Eurotext J.L. France pp 21-83.
- Seugé C., Rouland C., Fall S., Brauman A., & Mora P. (2000). Importance of earthworms casts and sheetings of some termite species in different fallows (Kolda, Senegal). In: Floret, C., Pontanier, R. (Eds.), *La jachère en Afrique Tropicale*, Vol. II, pp. 141-149.
- Sharma P.K., Kharwara P.C., & Tewatia R.K. (1990). Residual soil moisture and wheat yield in relation to mulching and tillage during preceding rainfed crop. *Soil Till. Res.* 15: 279-284.
- Sharpley A.N., Weld J.L., Beegle D.B., Kleiman P.J.A., Gburek W.J., Moore P.A.J., & Mullins G. (2003). Development of phosphorus indices for nutrient management planning strategies in the United States. *J. Soil Water Conser.* 58: 137-152.
- Shcherbak I., Millar N., & Robertson G.P. (2014). Global metaanalysis of the nonlinear response of soil nitrous oxide (N₂O) emissions to fertilizer nitrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 9199-9204.

- Shipley B. (2002). *Cause and Correlation in Biology: A User's Guide to Path Analysis, Structural Equations and Causal Inference*. Cambridge University Press.
- Shoun H., Kim D.H., Uchiyama H., & Sugiyama J. (1992). Denitrification by fungi. *FEMS Microbiol. Letters* 94: 277-281.
- Sigunga D.O., Janssen B.H., & Oenema O. (2002). Denitrification risks in relation to fertilizer nitrogen losses from vertisols and phaeozems. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.* 33: 561-578.
- Šimek M., Jisova L., & Hopkins D.W. (2002). What is the so-called optimum pH for dénitrification in soil? *Soil Biol. Biochem.* 34: 1227-1234.
- Simonin M., Le Roux X., Poly F., Lerondelle C., Hungate B.A., Nunan N., & Niboyet A., (2015). Coupling between and among ammonia oxidizers and nitrite oxidizers in grassland mesocosms submitted to elevated CO₂ and nitrogen supply. *Microb. Ecol.* 70: 809-818.
- Simonin M., Richaume A., Guyonnet J.P., Dubost A., Martins J.M.F., & Pommier T. (2016). Titanium dioxide nanoparticles strongly impact soil microbial function by affecting archaeal nitrifiers. *Sci reports* 6: 33643.
- Sinsabaugh R.L. (1994). Enzymatic analysis of microbial pattern and process. *Biol. Fertil. Soils* 17: 69-74.
- Sinsabaugh R.L., Antibus R.K., Linkins A.E., McLaugherty C.A., Rayburn L., Repert D., & Weiland T. (1993). Wood decomposition: nitrogen and phosphorus dynamics in relation to extracellular enzyme activity. *Ecol.* 74: 1586-1593.
- Sinsabaugh R.L., Antibus R.K., Linkins A.E., McLaugherty C.A., Rayburn L., Repert D., & Weiland T. (1992). Wood decomposition over a first order watershed: mass loss as a function of exoenzyme activity. *Soil Biol. Biochem.* 24: 743-749.
- Skujins J. (1973). Dehydrogenase: an indicator of biological activities in arid soils. *Bulletins from the Ecological Research Communication (Stockholm)* 17: 235-241.
- Skujins J. (1976). *Extracellular Enzymes in Soil*. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 4: 383-421.
- Slaats J.P.P. (1995). *Chromolaena odorata* fallow in food cropping systems: an assessment in South-West Ivory Coast. Thèse de Doctorat, Université de Wageningen, 175 p.
- Smeets E.M.W., Bouwman L.F., Stehfest E., van Vuuren D.P., & Posthuma A. (2009). Contribution of N₂O to the greenhouse gas balance of first-generation biofuels. *Glob. Change Biol.* 15: 1-23.
- Smith P., Martino D., Cai Z., Gwary D., Janzen H., Kumar P., McCarl B., Ogle S., O'Mara F., Rice C., Scholes B., & Sirotenko O. (2007). Agriculture *In: Climate change 2007 Mitigation*. Contribution of working group III to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. Metz B. Davidson O.R. Bosch P.R. Dave R. and Meyer L.A. (eds): Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, USA p. 497-540.

- Smith S.E., & Read D.J. (2008). Mycorrhizal symbiosis. 3rd edn. Academic Press. London.
- Šnajdr J., Valášková V., Merhautová V., Herinková J., Cajthaml T., & Baldrian P. (2008b). Spatial variability of enzyme activities and microbial biomass in the upper layers of *Quercus petraea* forest soil. *Soil Biol. Biochem.* 40: 2068-2075.
- Söderlund R., & Svensson B.H. (1976). The global nitrogen cycle, in Nitrogen, phosphorus, and Sulphur Global Cycles: SCOPE Report 7, edited by Svensson R. H. and Soderlund R. *Ecol. Bull.* 22: 23-73.
- Soltner D. (2000). Les bases de la production végétale, T I : le sol et son amélioration. 22e Edition, Editions Sciences et techniques agricoles "Le Clos Lorelle"- 49130 Saint-Gemmes-Sur-Loire., 472 p.
- Sommer R., Vlek P.L.G., & Fölster H. (1999). Slash-and-mulch to reduce nutrient losses in shifting cultivation in the Eastern Amazon, Session: Research and Management of Ecosystems and Natural Resources including Forests. *Detuscher tropentag, Berlin.*
- Speir T.W., & Cowling J.C., (1991). Phosphatase activities of pasture plants and soils: Relationships with plant productivity and soil fertility indices. *Biol. Fert. Soils* 12: 189-194.
- Speir T.W., & Ross D.J. (1978). Soil phosphatase and sulphatase. *In: Burns RG (ed) Soil enzymes.* Academic, London, UK, pp 197-250.
- Spiers G.A., & McGill W.B. (1979). Effects of phosphorus addition and energy supply on acid phosphatase production and activity in soils. *Soil Biol. Biochem.* 11: 3-8.
- Spohn M., & Kuzyakov Y. (2013). Phosphorus mineralization can be driven by microbial need for carbon. *Soil Biol. Biochem.* 61: 69-75.
- Srikanthasamy T. (2015). Impact des Graminées et des ligneux sur le cycle de l'azote dans les sols. Rapport de Mémoire de stage de 2ème année du master Biologie Cellulaire et Moléculaire 41p.
- Srikanthasamy T., Leloup J., N'Dri A.B., Barot S., Koné A.W., Koffi K.F., Le Roux X., Raynaud X., & Lata J.C., (2018). Contrasting effects of grasses and trees on microbial N-cycling in an African humid savanna. *Soil Biol. Biochem.* 117: 153-163.
- Staddon W.J., Trevors J.T., Duchesne L.E., & Colombo C.A. (1998). Soil microbial diversity and community structure across a climatic gradient in western Canada. *Biodiv. Conserv.* 7: 1081-1092.
- Stark J.M., & Hart S.C. (1997). High rates of nitrification and nitrate turnover in undisturbed coniferous forests. *Nat.* 385: 61-64.
- Stehfest E., & Bouwman L. (2006). N₂O and NO emission from agricultural fields and soils under natural vegetation: summarizing available measurement data and modeling of global annual emissions. *Nutr. Cycling Agroecosyst.* 74: 207-228.

- Steinweg J.M., Dukes J.S., Paul E.A., & Wallenstein M.D. (2013). Microbial responses to multi-factor climate change: effects on soil enzymes. *Front. Microbiol.* 4: 1-11.
- Stevenson F.J. (1982). Humus Chemistry. Genesis, Composition, Reactions. J Wiley and Sons, New York, NY, USA
- Stewart B.J., & Leatherwood J.M. (1976). Depressed synthesis of cellulase by *Cellulomonas*. *J. Bacteriol.* 128: 609-615.
- Stief P., Fuchs-Ocklenburg S., Kamp A., Manohar C., Houbraken J.B., Teun Dirk de Beer & Stoeck T. (2014). Dissimilatory nitrate reduction by *Aspergillus terreus* isolated from the seasonal oxygen minimum zone in the Arabian Sea. *BMC Microbiol.* 14: 1-10.
- Stone M.M., Kan J., & Plante A.F. (2015). Parent material and vegetation influence bacterial community structure and nitrogen functional genes along deep tropical soil profiles at the Luquillo Critical Zone Observatory. *Soil Biol. Biochem.* 80: 273-282.
- Stopnisek N., Gubry-Rangin C., Höfferle S., Nicol G.W., MandicMulec I., & Prosser J.I. (2010). Thaumarchaeal ammonia oxidation in an acidic forest peat soil is not influenced by ammonium amendment. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 7626-7634.
- Stryer L. (1988). Biochemistry 3rd ed. Freeman, New York: W. H. Freeman and Company.
- Styger E., Rakotondramasy H.M., Pfeffer M., Erick C.M., Fernandes E.C.M., David M., & Bates D. (2007). Influence of slash-and-burn farming practices on fallow succession and land degradation in the rainforest region of Madagascar. *Agric. Ecosyst. Environ.* 119: 257-269.
- Tabatabai M.A. (1994). Soil enzymes. In: Weaver, R.W. (Ed.), Methods of Soil Analysis. Part 2. SSSA Book, Ser. 5. SSSA and ASA, Madison, WI, pp. 775-833.
- Tabatabai M.A., & Bremner J.M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1: 301-307.
- Tabatabai M.A., & Dick W.A. (2002). Enzymes in soil: Research and developments in measuring activities. In: Burns RG, Dick RP (Eds) Enzymes in the Environment: Activity, Ecology and Applications. Marcel Dekker (New York): 567-596 pp.
- Tabatabai M.A., Ekenler M., & Senwo Z.N., (2010). Significance of enzyme activities in soil nitrogen mineralization. *Soil Sci. Plant Anal.* 41: 595-605.
- Tarafdar J.C., & Marschner H. (1994). Phosphatase activity in the rhizosphere and hydrosphere of VA mycorrhizal wheat supplied with inorganic and organic phosphorus. *Soil Biol. Biochem.* 26: 387-395.
- Taberlet P., Coissac E., Pompanon F., Brochmann C., Willerslev E., (2012). Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Molecular Ecol.* 21: 2045-2050.

- Tatti E., Goyer C., Zebarth B.J., Burton D.L., Giovannetti L., & Viti C. (2013). Short-Term Effects of Mineral and Organic Fertilizer on Denitrifiers, Nitrous Oxide Emissions and Denitrification in Long-Term Amended Vineyard Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 77: 113-122.
- Taylor A.E., Zeglin L.H., Wanzek T.A., Myrold D.D., & Bottomley P.J. (2012). Dynamics of ammonia-oxidizing archaea and bacteria populations and contributions to soil nitrification potentials. *ISME J.* 6: 2024-2032.
- Taylor J.P., Wilson B., Mills M.S., & Burns R.G. (2002). Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. *Soil Biol. Biochem.* 34: 387-401.
- Terman G.L. (1979). Volatilization losses of nitrogen as ammonia amendments, and crop residues from surface-applied fertilizers, organic. *Adv. Agron.* 31.
- Terman G.L., & Hunts C.M. (1964). Volatilization Losses of Nitrogen from Surface-Applied Fertilizers, as Measured by Crop Response. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 28: 667-672.
- Thalman A. (1968). Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenase Aktivität in Boden with triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsch.* 21: 249-258.
- Thioulouse J., Chessel G., Dolédec S., & Olivier J.M. (1997). ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Statistics and Computing* 7: 75-83.
- Thompson K.A., Bent E., Abalos D., Wagner-Riddle C., & Dunfield K.E. (2016). Soil microbial communities as potential regulators of in situ N₂O fluxes in annual and perennial cropping systems. *Soil Biol. Biochem.* 103: 262-273.
- Throback I.N., Enwall K., Jarvis A., & Hallin S. (2004). Reassessing PCR primers targeting nirS, nirK and nosZ genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE. *FEMS Microbiol. Ecol.* 49:401-417.
- Tian G., Brussaard L., & Kang B.T. (1993a). Biological effects of plant residues with contrasting chemical under humid tropical conditions: effects on soil fauna. *Soil Biol. Biochem.* 25: 731-737.
- Tian G., Kolawolé G.O., Kang B.T., & Kirchof G. (2000). Nitrogen replacement indexes of legume cover crops in the derived savanna of West Africa. *Plant Soil* 224: 287-296.
- Tian G., Sakalo F.K., & Ishida F. (2001). Replenishment of C, N, and P in a degraded alfisol under humid tropical conditions: effect of fallow species and litter polyphenols. *Soil Sci.* 16609: 614-621.
- Tiedje J.M., Sextone A.J., & Myrold D.D. & Robinson J.A. (1983). Denitrification: Ecological niches, competition and survival. *Antonie van Leeuwenhoek* 48: 569-583.
- Tiedje J.M. (1988). Ecology of denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium. Pages 179-244 in A. J. B. Zehnder, editor. *Biology of anaerobic microorganisms*. John Wiley and Sons, Chichester, UK.

- Tilman D. (1998). The greening of the green revolution. *Nat.* 396: 211-212.
- Tiquia S.M., Lloyd J., Herms D.A., Hoitink H.A.J., & Michel Jr.F.C. (2002). Effects of mulching and fertilization on soil nutrients, microbial activity and rhizosphere bacterial community structure determined by analysis of TRFLPs of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Appl. Soil Ecol.* 21: 31-48.
- Tondoh J.E., Koné A.W., N'Dri J.K., Lulseged T., & Brunet D. (2013). Changes in soil quality after subsequent establishment of *Chromolaena odorata* fallows in humid savannahs, Ivory Coast. *Catena* 101: 99-107.
- Topanou O.L., Okou C., Boko M. (2015). Durabilité agro-écologique des exploitations agricoles dans la commune de Gogounou au Bénin. *Afrique Science* 11 : 129-137.
- Tourna M., Freitag T.E., Nicol G.W., & Prosser J.I. (2008). Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms. *Environ. Microbiol.* 10: 1357-1364.
- Townsend A.R., Asner G.P., & Cleveland C.C. (2008). The biogeochemical heterogeneity of tropical forests. *Trends Ecol. Evol.* 23: 424-431.
- Traoré A.S. (2016). Analyse de la structure spatiale des populations de roniers (*Borassus aethiopum Mart*) de la réserve de Lamto (Côte d'Ivoire). Mémoire de Master, Université Nangui Abrogoua 45p.
- Trasar-Cepeda C., Gil-Sotres F., & Leiros M.C. (2007). Thermodynamic parameters of enzymes in grassland soils from Galicia, NW Spain. *Soil Biol. Biochem.* 39: 311-319.
- Treusch A.H., Leininger S., Schleper C., Kietzin A., Klenk H.P., & Schuster S.C. (2005). Novel genes for nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling. *Environ. Microbiol.* 7: 1985-1995.
- Tukey R.B., & Schoff E.L. (1963). Influence of different mulching materials upon the soil environment. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 82: 68-76.
- Turner B.L. (2010). Variation in pH optima of hydrolytic enzyme activities in tropical rain forest soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 6485-6493.
- Turner B.L., Paphazy M.J., Haygarth P.M., & McKelvie I.D. (2002a). Inositol phosphates in the environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 357: 449-469.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, (UN DESA) Population Division (2017). World Population Prospects: The 2017 Revision, Key Findings and Advance Tables. Working Paper No. ESA/P/WP/248.
- Ulery A., Graham R.C., & Amrhein C. (1993). Wood-ash composition and soil pH following intense burning. *Soil Sci.* 156: 358-364.

- Vale M.M., (2006). Quantification et prédiction de la minéralisation nette de l'azote du sol in situ, sous divers pédoclimats et systèmes de culture français, thèse n° 2367, INRA-France.
- Vanderwoude C., Scanlan J.C., Davis B., & Funkhouser S. (2005). Plan for national delimiting survey for Siam weed. Natural Resources and Mines Land Protection Services: Queensland Government, Queensland, Australia.
- Van Vuuren D.P., Bouwman A.F., & Beusen A.H.W., (2010). Phosphorus demand for the 1970-2100 period: a scenario analysis of resource depletion. *Global Environ. Change* 20: 428-439.
- Venkatesan S., & Senthurpandian V.K. (2006). Enzyme activities of laterite soils as influenced by trace element contamination. *Int. J. Soil Sci.* 1: 20-26.
- Verhamme D.T., Prosser J.I., & Nicol G.W. (2011). Ammonia concentration determines differential growth of ammonia-oxidising archaea and bacteria in soil microcosms. *ISME J.* 5: 1067-1071.
- Vezina K., Bonn F., & Van C.P. (2006). Agricultural land-use patterns and soil erosion vulnerability of watershed units in Vietnam's northern highlands. *Landscape Ecol.* 21: 1311-1325.
- Vielhauer K., Sa T.D.D., & Denich M. (2000). Modification of a Traditional Crop-Fallow System Towards Ecologically and Economically Sound Options in the Eastern Amazon, Session 4: Living Resources Management: Approaches, Techniques, Variability, Hamburg.
- Vitousek P.M., Aber J.D., Howarth R.W., Likens G.E., Matson P.A., Schindler D.W., Schlesinger W.H., & Tilman D.G. (1997). Human alteration of the global nitrogen cycle: sources and consequences. *Ecol. Appl.* 7: 737-750.
- Vitousek P.M., Cassman K., Cleveland C., Crews T., Field C.B., Grimm N.B., Howarth R.W., Marino R., Martinelli L., Rastetter E.B. & Sprent J.I. (2002). Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochem.* 57: 1-45.
- Vitousek P.M., & Howarth R.W. (1991). Nitrogen limitation on land and in the sea-how can it occur. *Biogeochem.* 13: 87-115.
- Waddington S.R. (1998). Organic matter management: From science to practice. *Soil Fertil.* 62: 24-25.
- Wagner M., Loy A., Nogueira R., Purkhold U., Lee N., & Daims H. (2002). Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. *Antonie Van Leeuw* 81: 665-680.
- Walkley A., & Black I.A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37: 29-37.

- Wang Y.F., & Higher G.J.D. (2013). Diversity of ammonia/ammonium-oxidizing prokaryotes in Constructed freshwater wetland than natural coastal marine wetland. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97: 7015-7033.
- Webb E.C. (1984). *Enzyme Nomenclature*, Academic Press, New York.
- Webster G., Embley T.M., & Prosser J.I. (2002). Grassland management regimes reduce small-scale heterogeneity and species diversity of β -proteobacterial ammonia oxidiser populations. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 20-30.
- Weier K.L., Doran J.W., Power J.F., & Walters D.T. (1993). Denitrification and the dinitrogen to nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon and nitrate. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57: 66-72.
- Wertz S., Leigh A.K., & Crayston S.J. (2012). Effect of long term fertiliser of forest soil on potential nitrification and on the abundance and community structure of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers. *FEMS Microbiol. Ecol.* 79: 142-154.
- Wertz S., Poly F., Le Roux X., & Degrange V. (2008). Development and application of a PCR-denaturing gradient gel electrophoresis tool to study the diversity of *Nitrobacter*-like *nxrA* sequences in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 63: 261-271.
- Wessén E., Nyberg K., Jansson J.K., & Hallin S. (2010). Responses of bacterial and archaeal ammonia oxidizers to soil organic and fertilizer amendments under long-term management. *Appl. Soil Ecol.* 45: 193-200.
- Vessey J.K., (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255: 571-586.
- Wolińska A., & Stępniewska Z. (2012). Dehydrogenase activity in the soil environment dehydrogenases, Chapter 8 By book *Biochemistry Genetics and Molecular Biology "Dehydrogenase"* edited by Rosa Angela Canuto, ISBN 978-953-307-019-3, and Published: November 14.
- Wood C.W., Tobert H.A., Rogers H.H., Runion G.B., & Prior S.A. (1994). Free-air CO₂ enrichment effects on soil carbon and nitrogen. *Agric. For Meteorol.* 70: 103-116.
- Wurzburger N., Bellenger J.P., Kraepiel A.M.E., Hedin E.O. (2012). Molybdenum and phosphorus interact to constrain asymbiotic nitrogen fixation in tropical forests. *Plos One* 7:e33710.
- Wyss M., Brugger R., Kroenberger A., Remy R., Fimbel R., Osterhelt G., Lehmann M., & Van Loon A. (1999). Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 367-373.
- Xiang S., Doyle A., Holden P., & Schimel J. (2008). Drying and rewetting effects on C and N mineralization and microbial activity in surface and subsurface California grassland soils. *Soil Biol. Biochem.* 40: 2281-2289.

- Xie Z., Le Roux X., Wang C., Gu Z., An M., Nan H., Chen B., Li F., Liu Y., Du G., Feng H., & Ma X. (2014). Identifying response groups of soil nitrifiers and denitrifiers to grazing and associated soil environmental drivers in Tibetan alpine meadows. *Soil Biol. Biochem.* 77: 89-99.
- Xu Y.B., & Cai Z.C. (2007). Denitrification characteristics of subtropical soils in China affected by soil parent material and land use. *Eur. J. Soil Sci.* 58: 1293-1303.
- Yadav R.S., & Tarafdar J.C. (2001). Influence of organic and inorganic phosphorous supply on the maximum secretion of acid phosphatase by plants. *Biol. Fert. Soils* 34: 140-143.
- Yakovchenko V., Sikora L.J., & Kaufman D.D. (1996). A biologically based indicator of soil quality. *Biol. Fert. Soils* 21: 245-251.
- Yan T., Fields M.W., Wu L., Zu Y., Tiedje J.M., & Zhou J. (2003). Molecular diversity and characterization of nitrite reductase gene fragments (*nirK* and *nirS*) from nitrate-and uranium-contaminated groundwater. *Environ. Microbiol.* 5: 13-24.
- Yao H., Gao Y., Nicol G.W., Campbell C.D., Prosser J.I., Zhang L., Han W., & Singh B.K. (2011). Links between ammonia oxidizer community structure, abundance, and nitrification potential in acidic soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 4618-4625.
- Yao H., Campbell C.D., Chapman S.J., Freitag T.E., Nicol G.W., & Singh B.K. (2013). Multi-factorial drivers of ammonia oxidizer communities: evidence from a national soil survey. *Environ. Microbiol.* 15: 2545-2556.
- Yoshida H., Oikawa S., Ikeda M., & Reese E.T. (1989). A novel acid-phosphatase excreted by penicillium-funiculosum that hydrolyzes both phosphodiester and phosphomonoesters with aryl leaving groups. *J. Biochem.* 105: 794-798.
- Yu D., Chen Y., Chen G., Chen S., Chen B., & Ye Y. (2014). Summer fluxes of atmospheric greenhouse gases from mangrove soils in Jiulongjiang Estuary. *J. Appl. Oceanogr.* 33: 175-82.
- Yuan Q., Liu P., & Lu Y. (2012). Differential responses of nirK- and nirS-carrying bacteria to denitrifying conditions in the anoxic rice field soil. *Environ. Microbiol. Reports* 4: 113-122.
- Yuan Q 2014
- Zaman M., Cameron K.C., Di H.J., & Inubushi K. (2002). Changes in mineral N, microbial biomass and enzyme activities in different soil depths after surface applications of dairy shed effluent and chemical fertilizer. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 63: 275-290.
- Zehr J.P., Jenkins B.D., Short S.M., Steward G.F. (2003). Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. *Environ Microbiol.* 5: 539-554.
- Zehr J.P., Carpenter E.J., & Villareal T. (2000). New perspectives on nitrogen-fixing microorganisms in tropical and subtropical oceans. *Trends Microbiol.* 8: 68-73.

- Zehr J.P., Mellon M.T., & Zani S. (1998). New nitrogen-fixing microorganisms detected in oligotrophic oceans by amplification of nitrogenase (*nifH*) genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 3444-3450.
- Zhang L.M., Wang M., Prosser J.I., Zheng Y.M., & He J.Z. (2009). Altitude ammonia-oxidizing bacteria and archaea in soils of Mount Everest. *FEMS Microbiol. Ecol.* 70: 208-217.
- Zhang N., He X., Gao Y., Li Y., Wang H., Ma D., Zhang R., & Yang S. (2010). Pedogenic Carbonate and Soil Dehydrogenase Activity In Response To Soil Organic Matter in *Artemisia ordosica* Community. *Pedosphere* 20: 229-235.
- Zhang X. Liu W. Schloter M. Zhang G. Chen Q. Huang J. Li L. Elser J.J. & Han X. (2013). Response of the abundance of key soil microbial nitrogen-cycling genes to multi-factorial global changes. *PLoS One*. doi:10.1371/journal.pone.0076500.
- Zhang, J., Yu, Y., Zhu, T., & Cai, Z. (2014). The mechanisms governing low denitrification capacity and high nitrogen oxide gas emissions in subtropical forest soils in China. *J. Geophys. Res. Biogeosci.* 119: 557-566.
- Zhou Z. F., Zheng Y. M., Shen J. P., Zhang L. M., & He J. Z. (2011). Response of denitrification genes *nirS*, *nirK* and *nosZ* to irrigation water quality in a Chinese agricultural soil. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 18 1644-1652.
- Zhou Z. Shiab X. Zheng Y. Qina Z. Xie D. Lia Z. & Guo T. (2014). Abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in purple soil under long-term fertilization. *European J. Soil Biol.* 60: 24-33.
- Zhu G., Wang S., Wang W., Wang Y., Zhou L., Jiang B., Op den Camp Huub J.M., Risgaard-Petersen N., Schwark L., Peng Y., Hefting M.M., Jetten M.S.M., & Yin C. (2013). Hotspots of anaerobic ammonium oxidation at land-freshwater interfaces. *Nat. Geosci.* 6 103–107.
- Zumft W.G. (1997). Cell biology and molecular basis of denitrification. *Microbiol. Molecular Biol. Rev.* 61: 533-552.
- Zodomé G., (2012). Evaluation de la performance du riz *Oryzae sativa* à différentes doses d'engrais chimiques et organiques sur sol sablonneux au centre du Bénin (Rapport de fin de stage, Licence professionnel). Bénin. 42 p.
- Zumft W.G., & Kroneck P.M. (2006). Respiratory transformation of nitrous oxide (N₂O) to dinitrogen by Bacteria and Archaea. *Adv. Microb. Physiol.* 52: 107-227.

Annexe 1

Coordonnées géographiques des parcelles d'études

Parcelles	Nom et Prénoms	Coordonnées GPS		
		Longitude	Latitude	Altitude
JCO 1	Oka Kouakou	06°13'28.6''	004°54'58.9''	89
JCO 2	Yao Kouamé Arsène	06°13'37.6''	004°55'09.5''	98
JCO 3	Kouadio Konan Gérard	06°12'26.3''	004°58'47.5''	113
JCO 4	Kouadio Konan Gérard	06°12'29.5''	004°58'51.0''	113
JCO 5	N'Dri Yao Albert	06°12'10.4''	004°58'21.6''	137
JCO 6	Amani Djè	06°13'37.4''	004°56'01.1''	104
JCO 7	Yao Aya Rosalie	06°13'49.9''	004°57'08.8''	112
JCO 8	Kouassi Kouamé	06°12'42.1''	004°58'30.6''	135
JCO 9	Yao N'Goran	06°12'18.1''	004°58'15.7''	133

Publication issue de cette thèse

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Adaptation of soil nitrifiers to very low nitrogen level jeopardizes the efficiency of chemical fertilization in west african moist savannas

Féline L. Assémien^{1,2}, Thomas Pommier¹, Jean T. Gonnety², Jonathan Gervais¹ & Xavier Le Roux¹

The moist savanna zone covers 0.5×10^6 km² in West Africa and is characterized by very low soil N levels limiting primary production, but the ecology of nitrifiers in these (agro)ecosystems is largely unknown. We compared the effects of six agricultural practices on nitrifier activity, abundance and diversity at nine sites in central Ivory Coast. Treatments, including repeated fertilization with ammonium and urea, had no effect on nitrification and crop N status after 3 to 5 crop cycles. Nitrification was actually higher at low than medium ammonium level. The nitrifying community was always dominated by ammonia oxidizing archaea and *Nitrospira*. However, the abundances of ammonia oxidizing bacteria, AOB, and *Nitrobacter* increased with fertilization after 5 crop cycles. Several AOB populations, some affiliated to *Nitrosospira* strains with urease activity or adapted to fluctuating ammonium levels, emerged in fertilized plots, which was correlated to nitrifying community ability to benefit from fertilization. In these soils, dominant nitrifiers adapted to very low ammonium levels have to be replaced by high-N nitrifiers before fertilization can stimulate nitrification. Our results show that the delay required for this replacement is much longer than ever observed for other terrestrial ecosystems, i.e. > 5 crop cycles, and demonstrate for the first time that nitrifier characteristics jeopardize the efficiency of fertilization in moist savanna soils.

Nitrogen, N, limits primary productivity in many terrestrial ecosystems¹ and its dynamics depends on key microbial activities such as N₂ fixation, mineralisation, nitrification, denitrification and anaerobic ammonium oxidation. Nitrification is particularly important for soil fertility. It consists in the oxidation of ammonia to nitrite by ammonia oxidizing bacteria and archaea (AOB and AOA, respectively)^{2,3}, and the oxidation of nitrite to nitrate by nitrite oxidizing bacteria (NOB)^{4,5}. Nitrification plays a key role in determining how much and which forms of soil inorganic N are available for plants, and consequently in driving N losses from ecosystems through nitrate leaching⁶ and nitrogen oxide emission^{7,8}.

Soil N-availability influences the abundance and the composition of nitrifying groups. Indeed, within soil ammonia-oxidizers, AOA and AOB occupy to some extent different ecological niches^{9–11}. AOA are generally favored by low ammonium levels^{12–14} and different studies reported that N addition does not influence or decrease AOA abundance in grassland soils^{15–19} (but see refs 20, 21). In contrast, AOB exhibit high activity in environments with high ammonium availability^{22, 23}. Besides, two major genera of NOB are present in soil, i.e. *Nitrobacter* and *Nitrospira*^{24, 25}, although NOB are actually more diverse and their ecology is more complex than previously estimated²⁶. Functional diversity exists within each of the two groups, but *Nitrospira* are generally assumed to thrive in low N levels, whereas *Nitrobacter* outcompete *Nitrospira* under high N levels^{27–29}. These ecological traits are consistent with the observed responses of soil NOB to environmental changes and agricultural or forestry practices^{5, 19, 29, 30}. Accordingly, the composition of nitrifying communities can influence the capacity of soil to respond to environmental changes, such as changes in land use or management. For instance, in an experiment mimicking a reversion of grazing regime through urea application and plant clipping in grasslands from central

¹INRA, CNRS, Université Lyon 1, Université de Lyon, Laboratoire d'Ecologie Microbienne, UMR 1418 LEM, UMR 5557 CNRS, 69622, Villeurbanne Cedex, France. ²Université Nangui Abrogoua, Unité de formation et de Recherche des Sciences et Technologies des Aliments, Laboratoire de Biocatalyse et des Bioprocédés, 02 BP 801, Abidjan 02, Ivory Coast. Correspondence and requests for materials should be addressed to X.L.R. (email: xavier.le-roux@univ-lyon1.fr)

France, Le Roux *et al.*³¹ observed a preliminary shift in the community structure of ammonia-oxidizers over a few months before a change in nitrification activity occurred. Similarly, Webster *et al.*³² reported that a change in AOB community structure –which occurred over a few weeks–, was required before enhancement of nitrification following sheep urine application on ungrazed grassland soils from the United Kingdom. This suggests that when the ammonia oxidizing communities are dominated by taxa sensitive to high ammonia concentration, a shift toward ammonia-tolerant populations is needed before nitrification can increase in response to increased N availability. These previous studies reported rather short time lags before high ammonia-tolerant nitrifiers can emerge as dominant community members (i.e. weeks to months), likely because the relatively N-poor soils studied harboured –although at low abundance– nitrifiers adapted to high-N microhabitats. Such time lags may thus have minor effects from an agronomic perspective. However, the time lag could be more important in terrestrial biomes with particularly N-poor soils where high-N microhabitats and nitrifiers adapted to high N are nearly absent. The choice of land management and fertilization practices should then consider the status of soil nitrifying communities, in particular when designing agricultural practices to improve N cycling and availability in very N-poor soils.

The moist savanna zone covers 0.5 10⁶ km² in West Africa³³ and is characterized by soils with particularly low total N concentrations (<0.1% in non cultivated areas under savanna grass cover for decades), and very low mineral N concentrations (<1 µg mineral N g⁻¹ soil^{7,34,35}). Based on field surveys, De Rham³⁶ estimated the annual production of mineral N in moist savanna soils in Ivory Coast to amount 0.2 to 0.5 g N m⁻² y⁻¹, while Abbadie & Lensi³⁷ reported very low ammonification rates (around 0.7 µg N-NH₄⁺ g⁻¹ soil day⁻¹). Field trials in this savanna zone have demonstrated that N strongly limits primary production³⁸. Due to the intense demographic pressure (i.e. 2.7% increase in local human populations between 1998 and 2007³⁹), and given that most suitable areas are cultivated, the pressure on cultivated surfaces is increasing, and farmers strive to choose adequate agricultural practices for obtaining economically viable crop yields on such poor soils. Traditionally, farmers in this area use the slash-and-burn practice, *i.e.* they burn the existing vegetation from savannas or fallows, thus enriching the soil with ashes, cultivate these soils during a few years and then let the plots uncultivated to exploit other areas. However, this traditional practice is damaging soil quality in particular when cultivation cycles become more frequent⁴⁰. Chemical fertilization, *i.e.* the addition of ammonium and/or urea as widely used in this area, has thus been increasingly used to improve N availability and potentially increase crop yield. The use of nitrate as fertilizer is often avoided because it can be leached more easily. An alternative practice is the use of mulching: after harvest during the crop rotation, farmers cut the standing biomass and let it on the ground to create a mulch over the soil. However, the effects of these different post-fallow agricultural practices on nitrification and nitrifiers remain unknown for African savannas. In particular, when cultivating crop varieties that partly or mainly depend on soil nitrate, the efficiency of chemical N fertilization could be jeopardized, at least initially, if the soil nitrifying community is unable to perform well under the higher levels of ammonium and urea induced by chemical fertilization. The mulching technique recently introduced in the moist savanna zone, using crop rotations with or without the insertion of legumes, may allow a more progressive increase in the soil organic matter and N availability levels.

The objective of this study was to compare and understand the effects of 6 different agricultural practices applied over 2.5 years on nitrification and nitrifiers in such N-poor soils: (1) slash-and-burn with continuous maize rotation; (2) chemical fertilization with continuous maize rotation; (3) mulching with continuous maize rotation; (4) mulching with maize-soya rotation; (5) mulching with maize-bean rotation; and (6) bare soil with continuous maize rotation. A same field trial with 6 plots corresponding to these 6 practices was replicated 9 times across a small landscape in central Ivory Coast (see Figs S1 and S2). We measured key soil environmental variables (moisture, ammonium, pH), nitrification, and the abundances of key nitrifying microbial groups (AOB, AOA, *Nitrobacter* and *Nitrospira*) for each of the 54 plots after 3, 4 and 5 crop cycles, we also compared the sensitivity of nitrification to two levels of ammonium (low: 2 µg N-NH₄⁺ g⁻¹ soil; and medium: 10 µg N-NH₄⁺ g⁻¹ soil) and the AOB community composition between the different treatments. We hypothesized that (i) the nitrifying communities in the soils from the moist savanna zone result from an adaptation to very low N levels, so that fertilization can negatively influence nitrification in these soils; (ii) the stimulation of nitrification by chemical fertilization first requires profound changes in the nitrifier community, *i.e.* the replacement of the dominant nitrifiers adapted to very low N levels by nitrifiers adapted to higher N levels; and (iii) the time lag associated to the changes in the nitrifier community after fertilization inception or use of legumes may be so important that it would have agronomic implications (i.e. the time lag would correspond to one or several crop cycles). We also assumed that the mulching technique with legumes inserted in crop rotations may allow a more progressive increase in soil N availability to nitrifiers and a more progressive shift in the soil nitrifier community, which may be less costly to farmers and more adequate than chemical fertilization for these soils. Overall, our results demonstrate for the first time the adaptation of nitrifiers to very low N levels, and how this can jeopardize the efficiency of fertilization in these moist savanna soils

Results

Soil environmental parameters. Sampling date significantly influenced soil moisture ($p < 0.0001$) while the treatment and time X treatment interaction effects were not significant ($p = 0.86$ and 0.97 , respectively). Soil moisture was highest (13–14%) at the second sampling date, intermediate (7–8%) at the first date, and lowest (4–5%) at the third sampling date (Fig. S3). At each sampling date, soil moisture was not significantly influenced by treatments ($p = 0.99, 0.94$ and 0.33 after 3, 4 and 5 crop cycles, respectively). Similarly, sampling date significantly influenced soil pH ($p = 0.002$) while the treatment and time X treatment interaction effects were not significant ($p = 0.82$ and 0.93 , respectively). However, soil pH was always in the range 6.5 to 6.7 (Fig. S4).

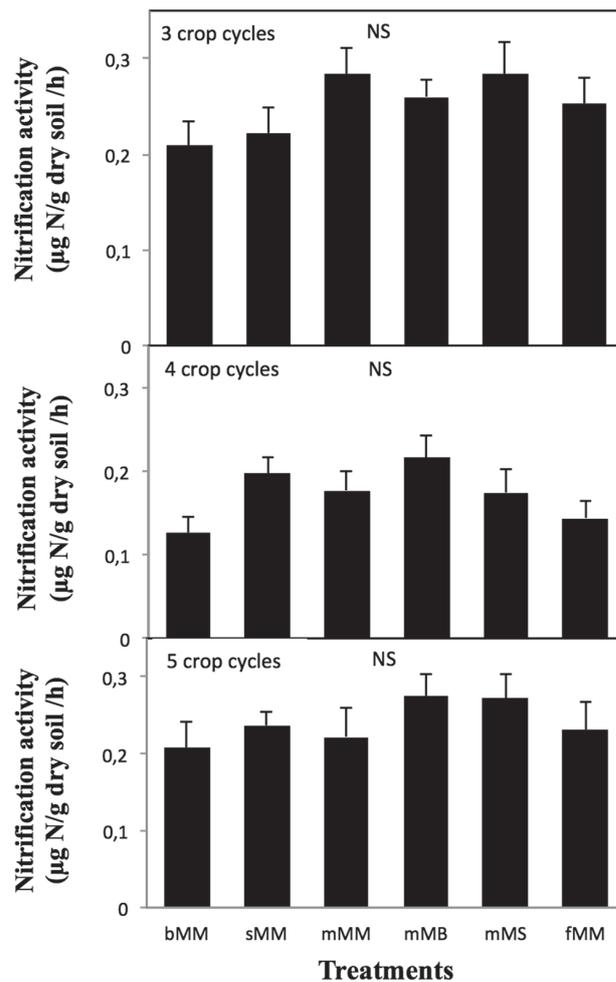


Figure 1. Nitrification activity in soils under the different treatments after 3, 4 and 5 crop cycles. Nitrification was measured at an ammonium concentration of 2 ppm. Six treatments were studied: bMM, maize-maize rotation on bare soil; sMM, maize-maize rotation with the slash-and-burn practice; mMM, maize-maize rotation with mulching; mMB, maize-bean rotation with mulching; mMS, maize-soya rotation with mulching; fMM, maize-maize rotation with chemical fertilization. Error bars are standard errors ($n = 9$). NS indicates a lack of significant difference between treatments.

Sampling date significantly influenced soil ammonium concentration ($p < 0.0001$) while the treatment and time X treatment interaction effects were not significant ($p = 0.60$ and 0.74 , respectively). At each of the three sampling dates, no significant treatment effect was observed on soil ammonium concentration, even for plots receiving ammonium plus urea fertilization (Fig. S5). Ammonium concentration was always lower than 0.8 and $0.4 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ soil at the first and second dates, respectively, and was highest (1.5 to $3.0 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ soil) at the last sampling date (Fig. S5). After 5 crop cycles, treatment effect on soil nitrate concentration was not significant with values ranging from 1.5 to $2.0 \mu\text{g N-NO}_3^- \text{g}^{-1}$ soil for all treatments (Fig. S6).

After 3 and 5 crop cycles, no significant treatment effect was observed on soil organic concentration and the proxy of microbial biomass, i.e. dehydrogenase activity (Fig. S7). In contrast, the effects of sampling date, treatment and time X treatment interaction on total soil nitrogen were all significant ($p < 0.0001$, 0.016 and 0.02 , respectively). Actually total soil nitrogen was not influenced by treatment after 3 crop cycles, but became higher in fertilized plots and plots with mulching and a maize-bean rotation as compared to control plots after 5 crop cycles (Fig. S7).

Nitrification and sensitivity to ammonium concentration. Nitrification ranged from 0.12 to $0.28 \mu\text{g N g}^{-1} \text{soil h}^{-1}$. Sampling date only significantly influenced nitrification ($p < 0.0001$), nitrification being lowest after 4 crop cycles (Fig. 1). Nitrification was not significantly influenced by treatments, whatever the sampling date ($p = 0.27$, 0.09 and 0.71 after 3, 4 and 5 crop cycles, respectively) (Fig. 1). In particular, nitrification remained similar in fertilized plots and in other plots, even after 5 crop cycles – that is 2.5 years after treatment inception (Fig. 1).

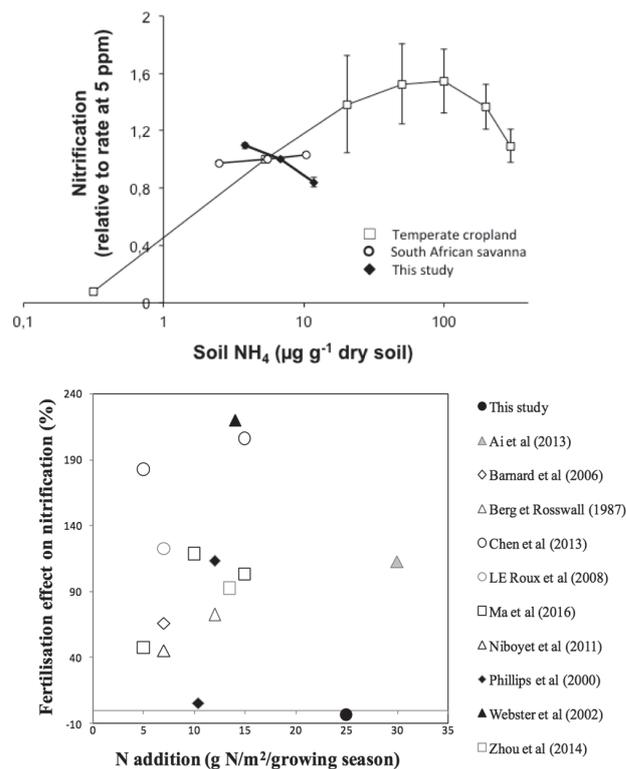


Figure 2. (Top) Comparison of the response of nitrification to soil ammonium concentration between a temperate cropland soil, a south African savanna soil, and the studied soil. For each soil, the nitrification rate is expressed as compared to the rate observed for 5 ppm ammonium (a linear extrapolation between 2 and 10 ppm was used for the studied soil). Error bars are standard errors and are hidden by the symbol for the South African savanna soil. (Bottom) Comparison of N fertilization effect on nitrification reported for different croplands and grasslands. The effect of N fertilization on nitrification observed in the present study is compared with effects reported in the literature for a range of cropping and grassland systems. For each study, the fertilization effect is expressed as the percentage change compared to nitrification in control, unfertilized plots, i.e. $100 * (\text{Nitrif}_{\text{Fertilized}} - \text{Nitrif}_{\text{Unfertilized}}) / \text{Nitrif}_{\text{Unfertilized}}$. Each symbol corresponds to a published study (see Table S1 for details).

The percentage of change of nitrification at medium ($10 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ soil) compared to low ($2 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ soil) levels of ammonium level (i.e. $100 * (\text{Nitrif}_{10} - \text{Nitrif}_2) / \text{Nitrif}_2$), was significantly ($p = 0.050$) influenced by treatments at the last sampling date. It ranged from +3% for fertilized plots (i.e. nitrification similar for both ammonium levels), to -9.3% and -17.8% for plots with mulching and a maize-maize and maize-bean rotation, respectively, down to -22.6%, -25.5% and -26.8% for bMM, sMM and mMS plots, respectively.

We compared the response of nitrification to ammonium level observed here with the response obtained for a temperate and fertilized cropland soil and a South African savanna soil. For the temperate and fertilized cropland soil, nitrification increased with increasing ammonium concentration up to $50\text{--}100 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ soil and decreased only for ammonium concentrations higher than $100 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ soil (Fig. 2). For the South African savanna soil, nitrification weakly increased for increasing ammonium concentration in the range 2 to $10 \mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ soil (Fig. 2).

Comparison with fertilization effects on nitrification reported in previous studies. The result of the literature survey for fertilizer effects on nitrification in cropping and grassland systems (Fig. 2; Table S1) shows that the lack of stimulation of nitrification by fertilization observed in our study (i.e. no effect after 2.5 years, despite inputs equivalent to 25g N m^{-2} growing season⁻¹) is rather unusual. Indeed, nitrification tended to be strongly stimulated by N fertilization in both grassland and cropping systems. The reported stimulation levels ranged from +45% to +182% for fertilizer inputs ranging from 5 to 7g N m^{-2} growing season⁻¹; and from +72% to +220% for fertilizer input from 10 to 30g N m^{-2} growing season⁻¹, except for one of the two values reported by Phillips *et al.* (2000) (Fig. 2; Table S1).

Ammonia- and nitrite-oxidizer abundances. The average abundance of AOA was around 10^8 amoA copies g^{-1} soil. Sampling date significantly influenced AOA abundance ($p < 0.0001$) while the effects of treatment and time X treatment interaction were not significant ($p = 0.23$ and 0.99 , respectively), indicating that treatments had no effect on AOA abundance whatever the sampling date (Fig. 3). The average abundance of AOB was much lower (around 10^6 amoA copies g^{-1} soil). Sampling date and treatments significantly influenced AOB abundance

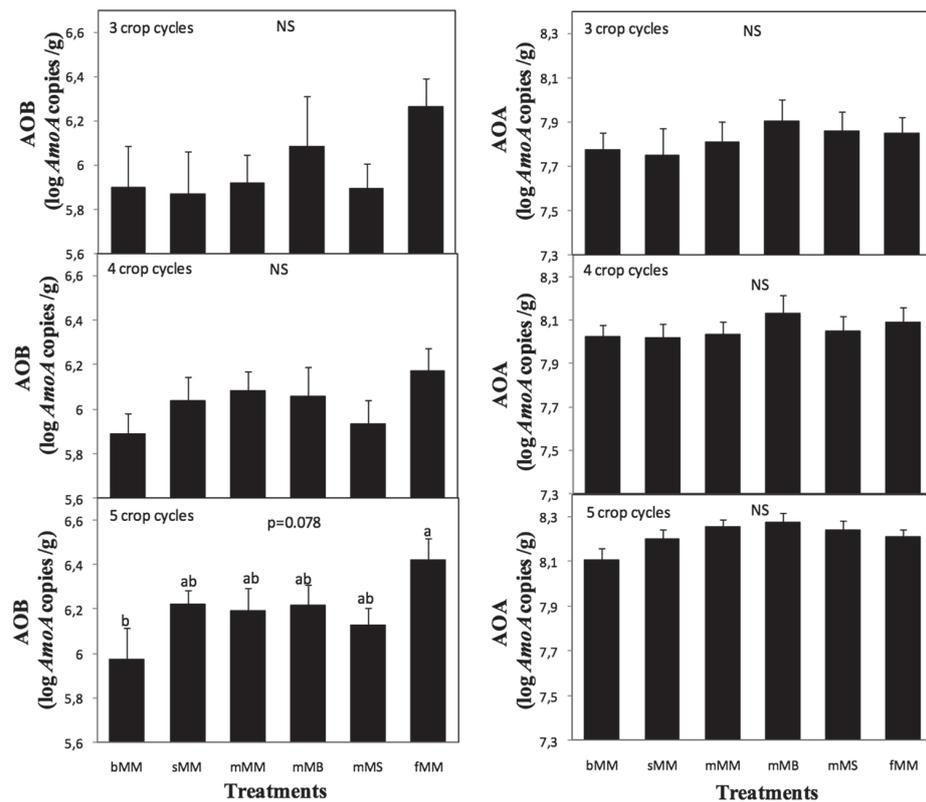


Figure 3. Abundances of ammonia oxidizers according to treatment. Abundances are presented for (Left) ammonia oxidizing bacteria, AOB, and (Right) ammonia oxidizing archaea, AOA, after 3, 4 and 5 crop cycles. Treatment acronyms are as in Fig. 1. Error bars are standard errors ($n = 9$). NS indicates lack of significant difference (p always > 0.1 here) and the marginally significant ($p = 0.078$) treatment effect on AOB after 5 cycles is indicated.

($p = 0.013$ and 0.012 , respectively) while the time X treatment interaction effect was not significant ($p = 0.99$). Focusing on each date however, AOB abundance tended to be highest in fertilized plots ($p = 0.078$) only at the last sampling date (Fig. 3).

The abundance of *Nitrospira* was always around 2×10^7 *16S* copies g^{-1} soil and was not influenced by treatment, sampling time, nor time X treatment interaction ($p = 0.10$, 0.24 and 0.88 , respectively) (Fig. 4). The average abundance of *Nitrobacter* was around 5×10^4 *nxrA* copies g^{-1} soil. Sampling date and treatment significantly influenced *Nitrobacter* abundance ($p < 0.0001$ and 0.019 , respectively) while the time X treatment interaction effect was not significant ($p = 0.84$). However, focusing on each date, *Nitrobacter* abundance was significantly ($p = 0.028$) highest in fertilized plots and lowest in the bare soil plots, only at the last sampling date (Fig. 4).

The correlations between the abundances of the different nitrifier groups changed with time (Fig. S8). Whereas no significant correlation was observed between *Nitrobacter* and AOB abundances after 3 crop cycles, the correlation became significant after 4 cycles and was very strong after 5 cycles (Fig. S8). Similarly, no significant correlation was observed between *Nitrospira* and AOA abundances after 3 and 4 crop cycles, but the correlation became significant after 5 cycles (Fig. S8). In contrast, a strong correlation was observed between *Nitrobacter* and *Nitrospira* abundances after 3 crop cycles, but the correlation became weaker after 4 cycles and was not significant anymore after 5 cycles (Fig. S8). The correlation between AOB and AOA abundances was never significant (not shown).

Diversity and phylogeny of the soil ammonia oxidizing bacteria. The overall AOB community structure quantified after 5 crop cycles was not significantly influenced by treatment ($P = 0.93$; $R = 0.045$; see Fig. S9) and was significantly correlated to soil moisture ($P = 0.006$; $\rho = 0.171$) and marginally correlated to ammonium concentration ($P = 0.088$; $R = 0.102$). The changes in nitrification were correlated to changes in the AOB community structure ($P = 0.001$; $R = 0.182$).

The phylogenetic tree obtained for the AOB *amoA* sequences retrieved from the studied soils is presented in Fig. 5. The relative abundance of *amoA* sequences from 17 sub-clusters increased in response to fertilization (Fig. 5), these OTUs representing over 17% of the AOB community in fertilized plots, and only 5.8% and 6.7% in bare soil and slash-and-burn plots, respectively. *AmoA* sequences from three of these 17 clusters were affiliated to known AOB (Fig. 5): one cluster was affiliated to *Nitrospira multiformis*, one to *Nitrospira briensis*, and one

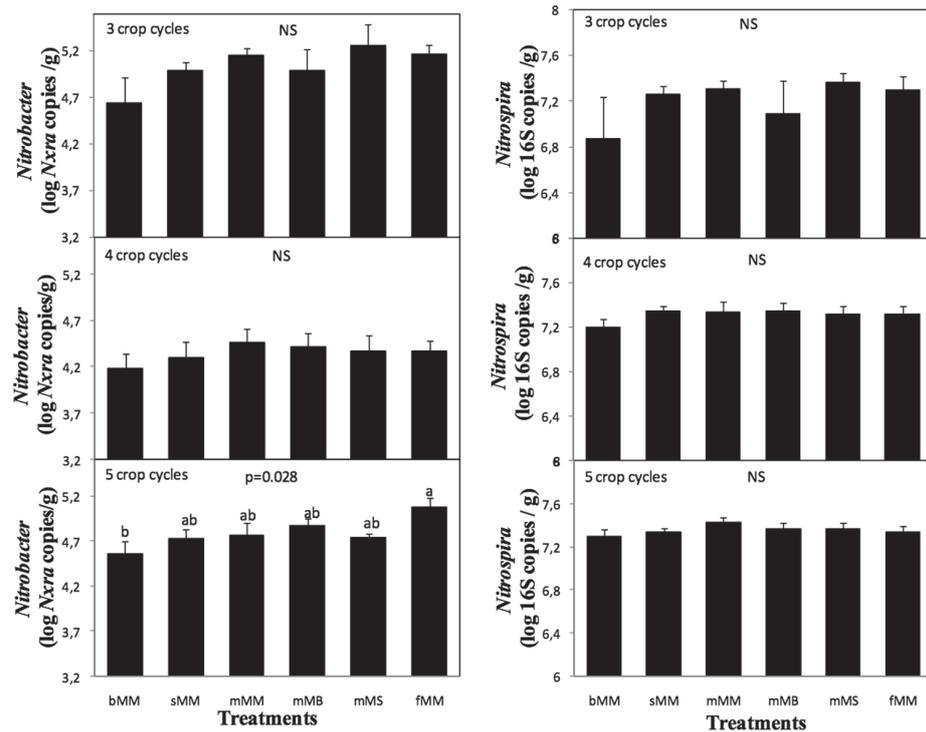


Figure 4. Abundances of nitrite oxidizers according to treatment. Abundances are presented for (Left) *Nitrobacter* and (Right) *Nitrospira* after 3, 4 and 5 crop cycles. Treatment acronyms are as in Fig. 1. Error bars are standard errors (n = 9). Different letters indicate significant differences between treatments; NS indicates lack of significant difference (p always > 0.1 here).

to an uncultivated *Nitrosospira* sp. previously identified by He *et al.*⁴¹ in an agri-udic ferrosol under a subtropical climate in China.

Relationship between the sensitivity of nitrification to ammonium level and the composition of the nitrifying community.

The percentage of change of nitrification at 10 ppm as compared to 2 ppm was significantly ($p = 0.044$) correlated to the AOB/AOA ratio: the higher the AOB/AOA ratio, the better the nitrification at medium as compared to low ammonium (Fig. 6). A significant correlation ($p = 0.018$) was also observed between the percentage of change of nitrification and the *Nitrobacter*/*Nitrospira* ratio (Fig. 6). Moreover, the percentage of change of nitrification measured for 10 ppm as compared to 2 ppm ammonium was highly correlated ($p = 0.0049$, $R^2 = 0.88$) to the sum of the relative abundances of all the *amoA* clusters promoted by fertilization (Fig. 6-Bottom).

Mineral N uptake capacities of the maize cultivar, and N concentration in crop leaves, stems, and roots.

N uptake rate by the maize cultivar was higher at 17 ppm than 6 ppm total mineral N (Fig. S10). At 6 ppm, NO_3^- and NH_4^+ uptake rates were 0.035 and 0.004 $\text{mg N h}^{-1} \text{g}^{-1}$ root, respectively, whereas at 9 ppm these rates were 0.057 and 0.009 $\text{mg N h}^{-1} \text{g}^{-1}$ root, respectively (Fig. S10). The ratio of nitrate-to-ammonium uptake rates was thus 8.7 and 6.1 at the low and medium N concentration, respectively.

After 5 crop cycles, stem and root N concentrations ranged from 0.67 to 1.3%, and 0.95 to 1.4%, respectively, without any significant effect of treatments ($p = 0.30$ and $p = 0.57$, respectively) (Fig. S11). Leaf N concentration ranged from 1.3 to 2.6% and was significantly higher ($p < 0.018$) for beans (mMB treatment) than maize from the bare soil (bMM) and slash-and-burn (sMM) treatments. However, leaf N concentration did not differ between all the treatments with maize plants during the fifth crop cycle, i.e. bMM, sMM, mMM and fMM (Fig. S11).

Discussion

Our results support the view that soils from the moist savanna zone in Ivory Coast have particularly low ammonium levels⁴². Indeed, except during very dry periods as for the last sampling date, the soil ammonium concentration in the cropped systems studied here was always lower than $0.8 \mu\text{g N g}^{-1}$ dry soil. This is consistent with the peculiar N cycling that characterizes soils from the moist savanna zone. First, these soils are very sandy with very low silt and clay contents (typically 14 and 7%, respectively, in the study area) and with very low cation exchange capacity, CEC (ca. 3.0 cmol kg^{-1} for non cultivated savanna soils), which does not favor the retention of nutrients. Although we did not measure soil CEC in the present study, previous studies for the same region of Ivory Coast reported low CEC values for maize crop soils⁴³ (ca. 8 cmol kg^{-1}) and for fallow soils⁴⁴ (ca. 8 cmol kg^{-1}), which can be compared to values ranging from 26 to 34 cmol kg^{-1} for typical silt-loam and clay-loam soils from the USA⁴⁵.

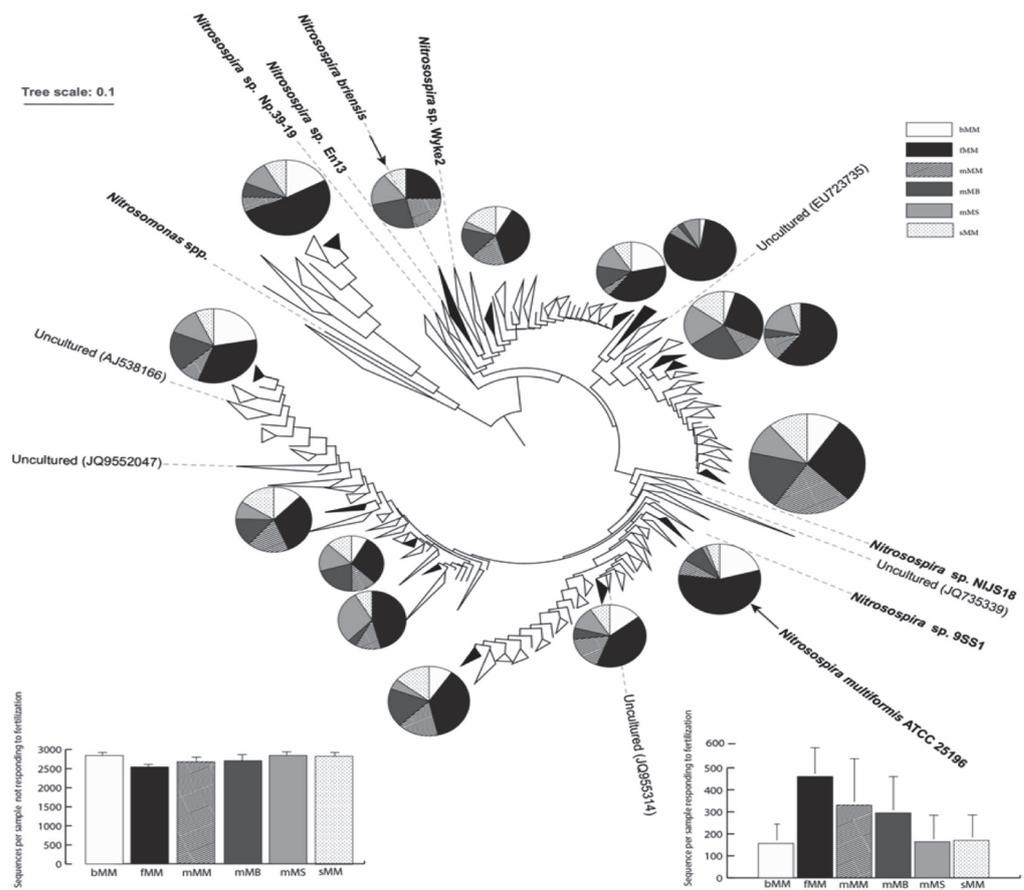


Figure 5. Phylogenetic relationships among AOB *amoA* sequences retrieved from soils under the 6 treatments after 5 crop cycles. Black and white clusters correspond to clusters of OTUs whose relative abundance increased and did not change or decreased in response to fertilization, respectively. Disks indicate the distribution of *amoA* sequences among the six treatments for each black cluster (disk size corresponds to sequence abundance in log scale). Bold and plain names indicate the location of *amoA* sequences of cultivated strains and reference sequences, respectively. The insets present the total number per sample of sequences belonging to (Bottom Left) white clusters, and (Bottom Right) black clusters according to treatment, with mean values and standard errors ($n = 9$).

Second, intense disturbances like annual fires and the sub-equatorial climate favor N losses by biomass burning and N leaching⁴⁶. Third, biological N₂ fixation is extremely low in these soils, reducing the N inputs in the ecosystems⁴⁶. These features explain that these savanna soils are among the vegetated soils with the lowest ammonium levels on earth⁴⁶.

Although soil ammonium concentrations tended to be highest in fertilized and mulching plots, this trend was not significant. At the two first sampling dates (*i.e.* before the end of the crop cycle and during a wet period), ammonium concentrations remained lower than $0.8 \mu\text{g-N g}^{-1}$ soil even in fertilized plots despite the high amount of N fertilizer added at days 0 and 40 of each crop cycle. This can hardly be explained by volatilization of the N amended to the soil, as ammonia volatilization mainly occurs on alkaline soils^{47,48} and the pH of the soils studied here ranged from 6.5 to 6.8. A more likely explanation is that ammonium/urea concentrations increased following each fertilization event but that there was a relatively rapid leaching of amended N due to the particularly low cation exchange capacity of these soils and high rainfall typical of the sub-equatorial climate. Further studies of N leaching from these soils shall be conducted. In addition, part of the added ammonium may have been assimilated and stored in crop roots and in the total microbial biomass, which is consistent with the observed increase in total soil nitrogen in fertilized plots after 5 crop cycles.

Consistently with the very low soil ammonium level, the nitrifying community in these soils was dominated by groups known to be mostly adapted to low N level. In particular, the ammonia oxidizing community was dominated by AOA (*ca.* 100-fold more abundant than AOB). Several eco-physiological studies have showed that AOB often have a greater fitness and greater nitrite production rate at higher ammonium level than AOA⁴⁹ although functional diversity exists within each group. Moreover, *Nitrospira* were 300 to 1000-fold more abundant than *Nitrobacter* in these soils. This is likely explained by the niche differentiation between both groups, mostly regarding N availability²⁹. Indeed, *Nitrospira* and *Nitrobacter* have low and high half-saturation constants for nitrite,

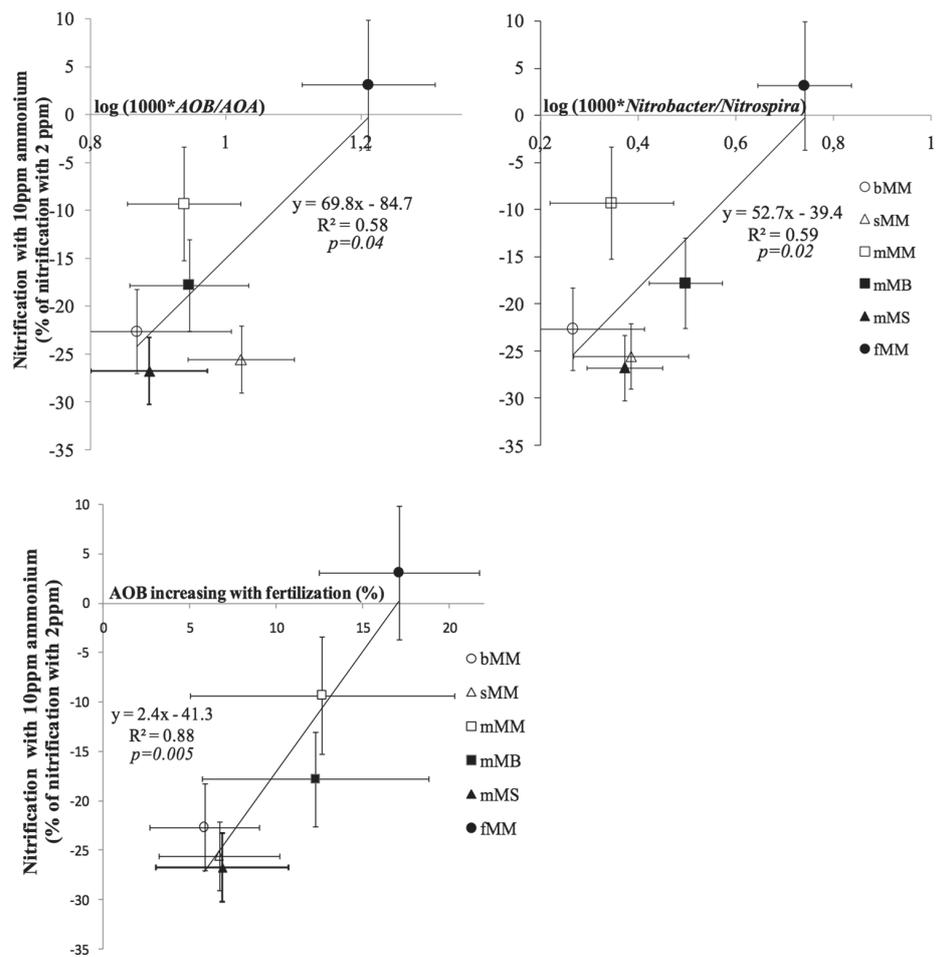


Figure 6. Sensitivity of nitrification to medium as compared to low ammonium levels is related to the composition of the nitrifying community. The percentage of change in nitrification measured under 10 ppm as compared to 2 ppm ammonium is related to (Top-Left) the ratio of the abundances of ammonia oxidizing bacteria to ammonia oxidizing archaea, AOB/AOA, (Top-Right) the *Nitrobacter*-to-*Nitrospira* ratio, and (Bottom-Left) the relative abundance of AOB populations that increased in response to fertilization. Treatment acronyms are as in Fig. 1.

respectively, and *Nitrospira* often outcompete *Nitrobacter* under conditions of low N availability^{27, 50, 51}. This is also supported in studies on NOB dynamics in soils^{5, 30}. The high dominance of the nitrifying community by AOA and *Nitrospira* is thus consistent with the very low ammonium concentrations in these soils, which has also been reported for South African savannas⁵².

Moreover, our results provide strong evidence of the nitrifier adaptation to very low N levels. Indeed, we observed a reduction down to -30% of nitrification measured at the medium (10 ppm) as compared to low (2 ppm) ammonium level for unfertilized plots. Such a strong decrease of the activity of the soil nitrifying community over this range of ammonium levels is clearly particular when compared to the nitrifier response to increased ammonium concentration observed for the temperate fertilized cropped soil (Fig. 2): in this case, the optimal ammonium concentration is 50–100 ppm, highlighting nitrifier adaptation to high N levels. For the mesic savanna soil from South Africa, nitrification only weakly increased when ammonium concentration increased from 2 to 10 ppm, suggesting that nitrifiers in this savanna soil were not adapted to ammonium levels as low as for the soil of central Ivory Coast.

Even after 5 crop cycles, *i.e.* after 2.5 years, nitrification was not influenced by the cropping systems, including mulching and the insertion of legumes in the crop rotation. The lack of response of nitrification to agricultural practices is particularly striking for the fMM treatment that implied the addition of 25 g N m^{-2} per crop cycle as urea and ammonium. This result is not consistent with many previous studies which showed that nitrification is stimulated by chemical fertilization in many cropland and grassland ecosystems^{53, 54} (see the synthesis of previous reports in Fig. 2).

Over the same 2.5 year period, changes in the abundances of some nitrifier groups were observed, particularly at the end of the study period. The abundance of AOB increased in response to fertilization after 5 crop cycles while the abundance of AOA was not influenced by the fMM treatment. This result is consistent with

previous studies reporting an increase of AOB rather than AOA abundance in response to chemical fertilization through the addition of NPK and/or urea to soil^{19,55}. In addition, many studies have observed increased abundance and activity of AOB in response to N fertilization⁵⁶ and other studies have showed that the abundance of AOA remains unaffected or even decreases in response to N addition in grasslands^{17,19} and other temperate ecosystems¹⁸. Recently, Catão *et al.*⁵⁷ reported that the AOB-to-AOA ratio as nitrification increased along different stages of soybean cultivation in a site under restoration from gravel extraction in the Central Brazilian savanna zone. All these results are likely linked to the rough niche partitioning between AOB and AOA regarding N availability in soil¹⁴. In our study, we also observed that *Nitrobacter* and *Nitrospira* abundances increased and were not changed in response to fertilization, respectively. These findings are consistent with some published results for NOB dynamics in agricultural and forest soils^{6,30}. Attard *et al.*⁶ and Le Roux *et al.*²⁹ found that *Nitrobacter* are favored under high N availability while *Nitrospira* are less responsive to N level in agricultural and grassland soils. Overall, our results support the view that AOB and *Nitrobacter* are the nitrifying groups mostly stimulated by an increase in N availability, while AOA and *Nitrospira* abundances are not much responsive to increased N availability, as observed for other grassland soils¹⁹.

The overall AOB community structure was not influenced by treatment and was mainly related to soil moisture, which is likely due to the fact that our experimental design included 9 sites located across a landscape. Despite this fact, several groups of AOB were selected in the different fertilized plots. In particular, we identified 17 clusters of AOB-*amoA* sequences whose relative abundances increased in response to fertilization as compared to control soils. Because soil pH and soil water content were not affected by the different cropping treatments, N fertilization *per se* was likely the main driver of the treatment-induced selection of these AOB populations. Two facts support this view. First, several *amoA* sequences that emerged in fertilized plots were affiliated to *amoA* sequences of *Nitrosospora* strains with urease activity or adapted to fluctuating ammonium levels. In particular, some AOB favoured by fertilization were affiliated to *Nitrosospora multiformis* whose genome includes (i) several copies of both *amo* and *hao* gene clusters and their regulatory elements that extend the flexibility for expression of catabolic inventory under fluctuating ammonia concentrations; (ii) a range of genes allowing ammonia assimilation either by high-affinity systems when ammonium concentration is low, or a low-affinity system used when ammonium levels are high; and (iii) several gene clusters encoding urease and urea-carboxylase, which provides ureolytic capacity adaptative for soils experiencing fluctuating urea concentrations and/or acidic pH⁵⁸. Furthermore, other AOB favoured by fertilization were affiliated to *Nitrosospora briensis* which is known for its survival strategy under fluctuating ammonium availability, involving low decrease of ammonia oxidation activity following inception of N starvation, and fast recovery after N addition following a starvation period⁵⁹. This can be explained by the forms of N fertilizer (ammonium or urea) added to the soil 10 times during the 2.5 years period studied, which has likely induced transient increases of urea and/or ammonium levels in soil and thus strongly selected AOB able to efficiently use these substrates even at relatively high levels and to cope with strong fluctuations of urea/ammonium levels. The likely transient nature of N increases in fertilized plots, explained by the very low cation exchange capacity of these soils and high rainfall amount, could also explain why the shift of the AOB community was slow. Second, considering all the treatments, the relative abundance of AOB populations that emerged in fertilized plots was correlated to the nitrifying community ability to maintain its activity at medium (10 ppm) as compared to low (2 ppm) ammonium levels. This is a further indication that these AOB populations had ecophysiological traits allowing them to withstand increased ammonium levels. Metagenomics analyses could allow better description of the genome content of these populations.

Our results thus suggest that, while populations dominating the AOB community in control soils were adapted to very low N levels, niche differentiation among AOB (possibly NOB as well) linked to their responses to fluctuating N availability and starvation responses (see refs 60, 61) explained the emergence of new dominant populations in fertilized plots. The changes in the composition of the nitrifier community required for adaption to higher –and fluctuating– N levels occurred slowly. In the case of the mulching practice with maize-bean and moreover maize-soya rotation, the changes were even slower than with chemical fertilization. The N-related community composition changes can also explain why the correlations between the abundances of the different nitrifier groups changed with time. After 3 crop cycles, the increase of both AOB and *Nitrobacter* abundances and the selection of nitrifier populations in response to fertilization events were likely still not effective enough and no significant correlation was observed between *Nitrobacter* and AOB abundances. In contrast, after 5 crop cycles, our results show that both the increase in total AOB and *Nitrobacter* abundances and the selection of AOB (and likely *Nitrobacter*) populations were effective; consistently, at this date the correlation between *Nitrobacter* and AOB abundances became significant. Our results thus strongly suggest that the response of the nitrifying community to fertilization is mainly driven by the increased fitness of some AOB, and likely some *Nitrobacter*, able to benefit from fertilization event, while AOA and *Nitrospira* populations are not (or only marginally) responsive to increased N availability.

Conclusion: from the ecology of soil nitrifiers to the choice of economically-sound and sustainable agronomic practices.

In this study, we showed that among the key microbial activities linked to N cycling (such as N₂ fixation, mineralisation, nitrification, denitrification and anaerobic ammonium oxidation⁶²), nitrification plays a crucial role in determining the outcome of agronomic practices. Indeed nitrifiers in soils from the moist savanna zone of Ivory Coast are adapted to very low N level, medium ammonium levels even decreasing soil nitrification rates as compared to low ammonium levels. Dominant nitrifiers in these soils are actually unable to benefit from sudden increases in N availability induced by recurrent fertilization events. Because the maize cultivar used by farmers in the area studied has a strong preference for nitrate over ammonium for its N nutrition, the lock-up of the N cycle by nitrifiers, which restricted the conversion of the added urea and ammonium into nitrate, jeopardized the efficiency of chemical fertilization, at least during 2–3 years. This is witnessed by the lack of improvement of the maize N status in fertilized plots even after 2.5 years. As indicated above, chemical

fertilization likely induced fluctuating N concentrations, with high ammonium and urea levels just after fertilization alternating with periods of low levels. Accordingly, a deep change in the AOB community composition, with the selection of taxa able to cope with fluctuating N levels and/or able to use urea as a N source, was first needed before nitrification could increase in response to N addition. A time lag in nitrification response to fertilization due to inadequate nitrifier community composition has already been reported for other soils, but it is much longer for the moist savanna soils where nitrifiers are adapted to particularly low N level. Our results show that the ecology of nitrifiers and the poor N retention capacity in these soils experiencing a sub-equatorial climate must be taken into account to guide the choice of agricultural practices, explaining why chemical fertilization is not a smart solution for cropping in the moist savanna zone.

Materials and Methods

Study site and experimental design. This study was conducted in the moist savanna zone, in the surroundings of the villages of Aheremou 2 and Pacobo in Ivory Coast (see Fig. S1). The area has a sub-equatorial climate with a mean annual temperature of 27 °C and mean annual precipitation of 1200 mm. In this area, soils are Ferralsol (FAO classification) or Acrisols (World Reference Base - IUSS Working group). They are very sandy (80–90% sand) and characterized by pH from 6 to 7⁶³, with low organic matter (~1%) and nitrogen (< 0.1%) contents in non cultivated areas. Clays are illites and slightly crystallized kaolinites with a low adsorption capacity⁴². The traditional agricultural practice in the area is slash-and-burn, with typically 2 crop cycles per year.

Nine experimental sites (19 m × 12 m) were established in early July 2013 across the landscape (see Figs S1 and S2). All the experimental sites correspond to moist savanna soils used for local agriculture. Before the experiment inception, all sites first experienced a succession of yam, banana and cassava crops without fertilization and were then set aside: they thus were all fallows invaded by *Chromolaena odorata* when the treatments were applied. At each site, 6 plots (4 m × 5 m each) were set up, corresponding to 6 different agricultural practices for maize (M) cultivation: (1) traditional slash-and-burn practice with continuous maize rotation (sMM) where the biomass present on the plot before planting (i.e. *Chromolaena odorata* residues at the beginning of cultivation of fallows; and then aboveground residues of the previous crop) is burned and ashes spread over the plot; (2) use of chemical fertilizer with continuous maize rotation (fMM), with addition of NPK (corresponding to 15g N-ammonium m⁻²) at planting, plus urea application (10g N-urea m⁻²) 40 days after planting (note that we analysed a sample of the fertilizer used to check its nature and concentration); (3) mulching technique with continuous maize rotation (mMM) where the biomass present on the plot before planting is spread at the soil surface over the plot; (4) mulching technique with maize-soya rotation (mMS); (5) mulching technique with maize-bean rotation (mMB); and (6) bare soil with continuous maize rotation (bMM) which was used as a control without any input to soil. All plots were thus planted with maize, except mMS and mMB planted with soya and bean during the second, third and fifth cycles. The plots were weeded prior to sowing. The maize variety used is a cross between the yellow maize type 'Bouake' and the white corn type 'IRAT 8' (EXECO Agriculture, Abidjan, Ivory Coast). It is an open-pollinated variety with a semi-late cycle of 110–130 days, widely used in this area.

Soil sampling. Soil was sampled on the 54 plots (i.e. 9 sites of 19 m × 12 m with 6 treatments per site) 3 times at flowering crop stage: on December 2014, before the end of the third crop cycle at the beginning of dry season (i.e. 18 months after treatment inception); on June 2015, before the end of the fourth crop cycle in the middle of wet season (after 24 months); and on December 2015, before the end of the fifth crop cycle at the beginning of dry season (after 30 months). On each plot, soil sub-samples were collected randomly at 5 distinct points using an auger (0–10 cm; 5 cm diameter) and mixed to obtain a composite sample. Composite samples were packed in plastic bags and transported in an icebox to the laboratory. Each soil sample was sieved (2mm) and a sub-sample was used for measurements of nitrification activity and other environmental variables. Another sub-sample was stored at –20 °C before DNA extraction and measurement of nitrifier abundances and AOB diversity.

Measurements of nitrification activity. Nitrification activity was measured according to Niboyet *et al.*⁶⁴ as the kinetics of production of nitrite plus nitrate measured after 0, 5, 24, 48 and 72 hours of incubation in aerobic conditions at 28 °C. For each of the 54 soil samples at each date, a fresh soil sub-sample (3 g equivalent dry mass of soil) was placed in a 150 mL flask, and 24 ml of a (NH₄)₂SO₄-distilled water solution was added (2 μg N g⁻¹ soil). According to preliminary analyses performed on some soils for different treatments after 3 crop cycles, the amount of added ammonium was identified as that allowing the maximum nitrification rate in control soils.

For the last date only, nitrification activity was also measured for each of the 54 samples at a higher ammonium level. Incubation conditions were similar as above, except that the amount of (NH₄)₂SO₄ added to the soil was 5-fold higher, i.e. 10 μg N-NH₄⁺ g⁻¹ soil.

Comparison of the response of nitrification to soil ammonium concentration for other soils.

The response of nitrification to soil ammonium concentration observed for the soil studied here was compared with the responses observed for a temperate and fertilized cropland soil from central France (4 independent samples collected on Lusignan site; soil characteristics provided in Attard *et al.*⁶⁵) and for a non fertilized and non cropped mesic savanna soil from South Africa (4 independent samples collected on Mona site, Hluhluwe Imfolozi National Park). For each sample of the fertilized cropland soil, seven ammonium levels were used, i.e. addition of 0, 5, 20, 50, 100, 200 or 300 μg N-NH₄⁺ g⁻¹ soil. For each sample of the South African savanna soil, three ammonium levels were used, i.e. 2, 5 or 10 μg N-NH₄⁺ g⁻¹ soil. Nitrification rate was measured as detailed above.

Comparison of N fertilization effects on nitrification reported for cropping and grassland systems.

A literature survey was performed in order to compare our results to the effects of long-term fertilization on nitrification in cropping and grassland systems. We focused on fertilization with mineral N and/or urea

(Table S1), but excluded studies on the effect of other organic fertilizers. For each study (and each fertilizer level when relevant), the fertilization effect on nitrification was expressed as the percentage of change regarding the nitrification level measured in control, unfertilized plots.

DNA extraction and quantification of the abundances of ammonia- and nitrite-oxidizers. DNA was extracted from 0.5 g of frozen sieved soil using the Power Soil TM DNA Isolation Kit (MO BIO laboratories, Carlsbad, CA, USA) following the manufacturer's instructions.

The abundances of ammonia oxidizing archaea and bacteria (AOA and AOB, respectively) were measured by quantitative PCR targeting the *amoA* functional gene encoding for ammonia monooxygenase which is specific of these groups. Amplification was performed using gene primers CrenamoA23f (5'-ATGGTCTGGCTWAGACG-3') and CrenamoA616r (5'-GCCATCCABCKRTANGTCCA-3') for the AOA⁶⁶ and *amoA_1F* (5'-GGGGHTTYTACTGGTGGT-3') and *amoA_2R* (5'-CCCCTCKGSAAAGCCTTCTC-3') for the AOB⁶⁷ (see details about qPCR conditions in Supplementary Text S1).

The abundance of *Nitrobacter*-like NOB was measured by quantitative PCR targeting the functional gene *nxrA* according to Attard *et al.*⁵, this gene encoding for the nitrite oxido-reductase. The amplification was performed using the gene primers F1norA (5'-CAGACCGACGTGTGCGAAAAG-3') and R2norA (5'-TCCACAAGGAACGGAAGGTC-3')⁶⁸ (see details about qPCR conditions in Supplementary Text S1).

The abundance of *Nitrospira* was measured by quantitative PCR targeting the *16S* rRNA gene sequences specific for this group according to Attard *et al.*⁵. The amplification was performed using the gene primers Ns675f (5'-GCGGTGAAATGCGTAGAKATCG-3') and Ns646r (5'-TCAGCGTCAGRWAYGTTCCAGAG-3')⁶⁹.

For all 4 genes, amplification efficiencies were of 85–90%. The R² values of the standard curves for qPCR assays were always over 0.99. All microbial abundances were expressed on a dry soil basis.

Assessment of AOB diversity. High-throughput sequencing of AOB *amoA* genes were performed on an Illumina MiSeq[®] platform by Molecular Research DNA, USA for the 54 samples from the last sampling date (i.e. after 5 crop cycles). A combination of the tools available from the RDP FunGene website⁷⁰ and the open-source software Mothur (v.1.33.3)⁷¹ was used to process and analyze the sequence data.

Sequencing products were first paired in overlapping pair ends. Resulting sequence data were then sorted according to their length, and the quality of the primers (<2 errors) and barcodes (<1 error). The primers and barcodes were trimmed off before searching potential chimeric formation using UCHIME⁷² implemented in Mothur. Putative chimeras were removed from the dataset. *AmoA* nucleotide sequences were translated in amino-acids, and possible frame-reading shifts were detected and corrected using the FRAMEBOT algorithm⁷³. *AmoA* sequences were clustered into operational taxonomic units (OTUs) by setting a 0.05 distance limit⁷⁴. Similarity between the *amoA* sequences retrieved from soils and reference sequences was assessed using 15,212 sequences of AOB *amoA* extracted from the FunGene database. For each sample, rarefaction curves based on identified OTUs and species richness estimator ACE were generated using Mothur.

Measurements of soil environmental variables. For each of the 54 soil samples and at each date, gravimetric soil moisture was determined for 3 g of fresh soil from soil mass loss after drying for 24 h at 105 °C. Ammonium (NH₄⁺) was extracted from soil sub-samples using a solution of calcium chloride (10 mM), 12 ml of CaCl₂ being added to 3 g of equivalent dry mass soil. The soil was shaken at 140 rpm for 2 h at 10 °C. The suspensions were filtered and stored at –20 °C before measurement of the amounts of NH₄⁺ by ionic chromatography (Thermo Scientific™ Dionex™ ICS-900 passeur AS, France). Due to a technical problem, soil nitrate (NO₃⁻) was quantified only for the last sampling date, i.e. after 5 crop cycles, using the same method but with a specific column for the chromatograph. Soil pH was measured at each date in a soil:water (1:2.5) suspension using glass electrodes (sensION⁺ MM 340 HACH, France).

In addition, at the first and last sampling dates (after 3 and 5 crop cycles), soil organic C, total soil nitrogen and microbial biomass were determined. Soil organic carbon was determined by the partial oxidation method⁷⁵ through titration against 1 N (NH₄)₂ Fe (SO₄)₂·6H₂O using diphenylamine indicator. Total soil nitrogen was quantified using the Kjeldahl digestion method⁷⁶. A proxy of soil microbial biomass, dehydrogenase activity, was determined on 1 g eq. dry soil by reduction of Triphenyl Tetrazolium Chloride to Triphenylformazan as described by Thalman⁷⁷.

Characterization of preferred mineral N forms up-taken by the maize variety, and N concentrations in plant compartments. 20 pots (10 cm diameter × 21.5 cm depth) containing 1.8 kg of sand were used. 3 maize seeds were planted per pot, and plants were grown in a climatic chamber (21 °C, 16 hours of sunshine per day). During 5 weeks, the maize seedlings were watered three times per week: 2 times with 80 mL distilled water and once with 80 mL of hydroponic solution containing 6 ppm of ammonium-nitrate (equal amounts of both N forms).

After 5 weeks, the roots of each set of three plants (i.e. from each pot) were gently washed with distilled water and placed in a 0.5 L flask filled with a nutrient solution with a 5:1 nitrate:ammonium ratio. Two concentrations of total mineral N were used: 6 ppm mineral N (5 ppm N-NO₃⁻ and 1 ppm N-NH₄⁺), and 17 ppm mineral N (14.15 ppm N-NO₃⁻ and 2.83 ppm N-NH₄⁺). 5 replicates (pots) were used per treatment. For each flask, the solution was sampled with a syringe (1.5 mL) at the beginning of experiment and after 25, 50, 75 and 100 min. Samples were filtered (25 μm) and stored at –20 °C before analysis by ionic chromatography (Thermo Scientific™ Dionex™ ICS-900, France). The rates of absorption of ammonium and nitrate by roots were computed from the linear decreases of ammonium and nitrate concentrations in the solution with time, and were expressed as mg-N h⁻¹ g⁻¹ dry maize root.

For the last sampling date, N concentrations in plant compartments (roots, stems and leaves) were measured as described in Supplementary Text S2.

Statistical analyses. All statistical analyses were conducted with JMP[®] Pro software (version 12, SAS Institute Inc., Cary, NC, 2007). Two-Way ANOVAs were carried out for evaluating possible effects of time, treatment and time X treatment on environmental variables (soil moisture, pH, ammonium, soil organic C, total soil N and dehydrogenase activity), nitrification activity, and abundances of AOB, AOA, *Nitrobacter* and *Nitrospira*. For each date, One-Way ANOVAs were carried out to test for possible treatment effects on these variables and absorption of ammonium and nitrate by roots, and Tukey HSD tests were applied for mean comparisons between treatment pairs. Significant differences were considered for $p < 0.05$.

The AOB community structure was analysed using the PRIMER software (PRIMER-E Ltd, Plymouth, UK). A rank similarity matrix was computed from the OTU relative abundance data and used to quantify and visualize the dissimilarity of community structures among soil samples by non-metric multidimensional scaling (MDS). Analysis of similarities (ANOSIM) was performed to compare the AOB community structures among each pair of treatments. The correlation between changes in nitrification and changes in the overall AOB community structure was tested by quantifying the correlation between the rank similarity matrices obtained for AOB community structure on the one hand and nitrification on the other hand through the computation of the rank correlation coefficient (Spearman coefficient) and significance level. A similar approach was used to test the relationships between changes in the overall AOB community structure and changes in each of the soil environmental parameters measured. In addition, based on the phylogenetic tree of *amoA* sequences retrieved from all soils, we identified which *amoA* sequence clusters showed an increased relative abundance in fertilized as compared to control plots.

For the last sampling date, the linear correlation between (i) the percentage of change of nitrification measured for 10 ppm as compared to 2 ppm ammonium (i.e. $100 * (\text{Nitrif}_{10} - \text{Nitrif}_2) / \text{Nitrif}_2$) and (ii) the AOB/AOA ratio or the *Nitrobacter/Nitrospira* ratio was tested. In addition, the percentage of change of nitrification measured for 10 ppm as compared to 2 ppm ammonium was correlated to the sum of the relative abundances of these *amoA* OTUs promoted by fertilization.

References

- Vitousek, P. M. & Howarth, R. W. Nitrogen limitation on land and in the sea - how can it occur. *Biogeochemistry* **13**, 87–115 (1991).
- Kowalchuk, G. A. & Stephen, J. R. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology. *Annu. Rev. Microbiol.* **55**, 485–529 (2001).
- Leininger, S. *et al.* Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature* **442**, 806–809 (2006).
- Prosser, J. I. Autotrophic nitrification in bacteria. *Adv. Microb. Physiol.* **30**, 125–181 (1989).
- Attard, E. *et al.* Shifts between *Nitrospira*- and *Nitrobacter*-like nitrite oxidizers underlie the response of soil nitrite oxidizing enzyme activity to changes in tillage practices. *Environ. Microbiol.* **12**, 315–326 (2010).
- Di, H. J. & Cameron, K. C. Inhibition of nitrification to mitigate nitrate leaching and nitrous oxide emissions in grazed grassland: a review. *Front. Soils Sed.* **16**, 1401–1420 (2016).
- Le Roux, X., Abbadie, L., Lensi, R. & Serça, D. Emission of nitrogen monoxide from African tropical ecosystems: Control of emission by soil characteristics in humid and dry savannas of West Africa. *J. Geophys. Res.* **100**, 23133–23142 (1995).
- Bateman, E. J. & Baggs, E. M. Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from soils at different water-filled pore space. *Biol. Fertil. Soils* **41**, 379–388 (2005).
- Hatzenpichler, R. Diversity physiology and niche differentiation of ammonia-oxidizing archaea. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 7501–7510 (2012).
- Prosser, J. I. & Nicol, G. W. Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: the quest for niche specialisation and differentiation. *Trends Microbiol.* **20**, 523–531 (2012).
- Xie, Z. *et al.* Identifying response groups of soil nitrifiers and denitrifiers to grazing and associated soil environmental drivers in Tibetan alpine meadows. *Soil Biol. Biochem.* **77**, 89–99 (2014).
- Erguder, T. H., Boon, N., Wittebolle, L., Marzorati, M. & Verstraete, W. Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea. *FEMS Microbiol. Rev.* **33**, 855–869 (2009).
- Martens-Habbena, W., Berube, P. M., Ura-kawa, H., José, R. & Stahl, D. A. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria. *Nature* **461**, 976–979 (2009).
- Taylor, A. E., Zeglin, L. H., Wanzek, T. A., Myrold, D. D. & Bottomley, P. J. Dynamics of ammonia-oxidizing archaea and bacteria populations and contributions to soil nitrification potentials. *ISME J.* **6**, 2024–2032 (2012).
- Di, H. J. *et al.* Ammonia-oxidizing bacteria and archaea grow under contrasting soil nitrogen conditions. *FEMS Microbiol. Ecol.* **72**, 386–394 (2010).
- Shen, X. Y. *et al.* Nitrogen loading levels affect abundance and composition of soil ammonia oxidizing prokaryotes in semiarid temperate grassland. *J. Soils Sed.* **11**, 1243–1252 (2011).
- Zhang, X. *et al.* Response of the abundance of key soil microbial nitrogen-cycling genes to multi-factorial global changes. *PLoS One*. doi:10.1371/journal.pone.0076500 (2013).
- Chen, Y. L. *et al.* Abundance and community structure of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in response to fertilization and mowing in a temperate steppe in Inner Mongolia. *FEMS Microbiol. Ecol.* **89**, 67–79 (2014).
- Simonin, M. *et al.* Coupling between and among ammonia oxidizers and nitrite oxidizers in grassland mesocosms submitted to elevated CO₂ and nitrogen supply. *Microb. Ecol.* **70**, 809–818 (2015).
- Hartmann, A. A., Barnard, R. L., Marhan, S. & Niklaus, P. A. Effects of drought and N-fertilization on N cycling in two grassland soils. *Oecologia* **171**, 705–717 (2013).
- Tian, X. F. *et al.* Influence of nitrogen fertilization on soil ammonia oxidizer and denitrifier abundance microbial biomass and enzyme activities in an alpine meadow. *Biol. Fertil. Soils* **50**, 703–713 (2013).
- Verhamme, D. T., Prosser, J. I. & Nicol, G. W. Ammonia concentration determines differential growth of ammonia oxidizing archaeal and bacteria in soil microcosms. *ISME J.* **5**, 1067–1071 (2011).
- Ma, W. *et al.* Response of microbial functional groups involved in soil N cycle to N, P and NP fertilization in Tibetan alpine meadows. *Soil. Biol. Biochem.* **101**, 195–206 (2016).
- Freitag, T. E., Chang, L., Clegg, C. D. & Prosser, J. I. Influence of Inorganic Nitrogen Management Regime on the Diversity of Nitrite-Oxidizing Bacteria in Agricultural Grassland Soils. *Appl. and Environ. Microbiol.* **71**, 8323–8334 (2005).
- Pester, M. *et al.* NxrB encoding the beta subunit of nitrite-oxidoreductase as functional and phylogenetic marker for nitrite-oxidizing *Nitrospira*. *Environ. Microbiol.* **16**, 3055–3071 (2014).

26. Daims, H., Lücker, S. & Wagner, M. A new perspective on microbes formerly known as nitrite-oxidizing bacteria. *Trends Microbiol.* **24**, 699–712 (2016).
27. Schramm, A., De Beer, D., Gieseke, A. & Amann, R. Microenvironments and distribution of nitrifying bacteria in a membrane-bound biofilm. *Env. Microbiol.* **2**, 680–686 (2000).
28. Wagner, M. *et al.* Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. *Antonie Van Leeuw* **81**, 665–680 (2002).
29. Le Roux, X. *et al.* Predicting the responses of soil nitrite-oxidizers to multi-factorial global change: a trait-based modelling approach. *Front. Microbiol.* **7**, 628, doi:10.3389/fmicb.2016.00628 (2016).
30. Wertz, S., Leigh, A. K. & Crayston, S. J. Effect of long term fertiliser of forest soil on potential nitrification and on the abundance and community structure of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers. *FEMS Microbiol. Ecol.* **79**, 142–154 (2012).
31. Le Roux, X. *et al.* Effects of aboveground grazing on coupling among nitrifier activity, abundance and community structure. *ISME J.* **2**, 221–232 (2008).
32. Webster, G., Embley, T. M., Freitag, T., Smith, Z. & Prosser, J. I. Links between ammonia oxidizer species composition, functional diversity and nitrification kinetics in grassland soils. *Env. Microbiol.* **7**, 676–684 (2005).
33. White, F. La végétation de l'Afrique. Map ORSTOM-UNESCO, UNESCO, Paris (1986).
34. Delmas, J. Recherches écologiques dans la savane de Lamto: premier aperçu sur les sols et leur valeur agronomique. *La Terre et la Vie* **3**, 216–227 (1967).
35. Koné, W. A. *et al.* Is soil quality improvement by legume cover crops a function of the initial soil chemical characteristics? *Nutr. Cycl. Agrosyst.* **82**, 89–105 (2008).
36. De Rham, P. Recherches sur la minéralisation de l'azote dans les sols de la savane de Lamto. *Revue. d'Ecologie et de Biologie. du Sol* **2**, 169–196 (1973).
37. Abbadie, L. & Lensi, R. Carbon and nitrogen mineralization and denitrification in a humid savanna of West Africa (Lamto, Côte d'Ivoire). *Acta Oecol.* **11**, 717–728 (1990).
38. Leriche, H. *et al.* Grass response to clipping in an African savanna: testing the grazing optimisation hypothesis. *Ecol. Appl.* **13**, 1346–1354 (2003).
39. Ivorian Press Agency (IPA) <http://news.abidjan.net/h/482233.html>
40. Styger, E. *et al.* Influence of slash-and-burn farming practices on fallow succession and land degradation in the rainforest region of Madagascar. *Agric. Ecos. Environ.* **119**, 257–269 (2007).
41. He, J. Z. *et al.* Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices. *Environ. Microbiol.* **9**, 2364–2374 (2007).
42. Riou, G. Les sols de la savane de Lamto. *Bulletin de Liaison des Chercheurs de Lamto* **1**, 3–45 (1974).
43. Gonnet, J. T. *et al.* Effect of land-use types on soil enzymatic activities and chemical properties in semi-deciduous forest areas of Central-West Côte d'Ivoire. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **16**, 478–485 (2012).
44. Koné, W. A. *et al.* Can the shrub *Chromolaena odorata* (Asteraceae) be considered as improving soil biology and plant nutrient availability? *Agrofor. Syst.* **85**, 233–245 (2012).
45. Donahue, R. L. Soils: an introduction to soils and plant growth. Prentice-Hall, USA, pp. 115–116 (1977).
46. Abbadie, L., Lepage, M. & Menaut, J. C. Paradoxes d'une savane africaine. *La Recherche* **186**, 8–9 (1996).
47. Terman, G. L. & Hunts, C. M. Volatilization Losses of Nitrogen from Surface-Applied Fertilizers, as Measured by Crop Response. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **28**, 667–672 (1964).
48. Terman, G. L. Volatilization losses of nitrogen as ammonia amendments, and crop residues from surface-applied fertilizers, organic. *Adv. in agron.* **31** (1979).
49. De la Torre, J. R., Walker, C. B., Ingalls, A. E., Konneke, M. & Stahl, D. A. Cultivation of thermophilic ammonia oxidizing archaea on synthesizing crenarchaeal. *Environ. Microbiol.* **10**, 810–818 (2008).
50. Blackburne, R., Vadivelu, V. M., Yuan, Z. G. & Keller, J. Kinetic characterisation of an enriched Nitrospira culture with comparison to Nitrobacter. *Water. Res.* **41**, 3033–3042 (2007).
51. Nowka, B., Daims, H. & Spieck, E. Comparison of oxidation kinetics of nitrite-oxidizing bacteria: nitrite availability as a key factor in niche differentiation. *Appl. Environ. Microbiol.* **81**, 745–753 (2015).
52. Rughöft, S. *et al.* Community composition and abundance of bacterial, archaeal and nitrifying populations in savanna soils on contrasting bedrock material in Kruger National Park, South Africa. *Front. Microbiol.* **7**, 1–16 (2016).
53. Ai, C. *et al.* Different roles of rhizosphere effect and long-term fertilization in the activity and community structure of ammonia oxidizers in a calcareous fluvo-aquic soil. *Soil Biol. and Biochem.* **57**, 30–42 (2013).
54. Zhou, Z. *et al.* Abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in purple soil under long-term fertilization. *European J. of Soil Biol.* **60**, 24–33 (2014).
55. Docherty, K. M., Balsler, T. C., Bohannan, B. M. & Gutknecht, L. M. Soil microbial responses to fire and interacting global change factors in a California annual grassland. *Biogeochemistry* **109**, 63–83 (2012).
56. Phillips, C. J. *et al.* Effects of agronomic treatments on structure and function of ammonia-oxidizing communities. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 5410–5418 (2000).
57. Catão, E. C. P. *et al.* Short-term impact of soybean management on ammonia oxidizers in a Brazilian savanna under restoration as revealed by coupling different techniques. *Biol. Fertil. Soils* **52**, 1–12 (2016).
58. Norton, J. M. *et al.* Complete Genome Sequence of *Nitrosospora multiformis*, an Ammonia-Oxidizing Bacterium from the Soil Environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **74**, 3559–3572 (2008).
59. Bollmann, A., Schmidt, I., Saunders, A. M. & Nicolaisen, M. H. Influence of starvation on potential ammonia-oxidizing activity and amoA mRNA levels of *Nitrosospora briensis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 1276–1282 (2005).
60. Bollmann, A., Bär-Gilissen, M. J. & Laanbroek, H. J. Growth at low ammonium concentrations and starvation response as potential factors involved in niche differentiation among ammonia-oxidizing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 4751–4757 (2002).
61. Geets, J., Boon, N. & Verstraete, W. Strategies of aerobic ammonia-oxidizing bacteria for coping with nutrient and oxygen fluctuations. *FEMS Microbiol. Ecol.* **58**, 1–13 (2006).
62. Hou, L. *et al.* Anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacterial diversity, abundance, and activity in marsh sediments of the Yangtze Estuary. *J. Geophys. Res. - Biogeosciences* **118**, 1237–1246.
63. Abbadie, L., Mariotti, A. & Menaut, J.-C. Independence of savanna grasses from soil organic matter for their nitrogen supply. *Ecology* **73**, 608–613 (1992).
64. Niboyet, A. *et al.* Testing interactive effects of global environmental changes on soil nitrogen cycling. *Ecosphere* **2**, 1–24 (2011).
65. Attard, E. *et al.* Soil environmental conditions rather than denitrifier abundance and diversity drive potential denitrification after changes in land-uses. *Global Change Biol.* **17**, 1975–1989 (2011).
66. Tournay, M., Freitag, T. E., Nicol, G. W. & Prosser, J. I. Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms. *Environ. Microbiol.* **10**, 1357–1364 (2008).
67. Rotthauwe, J. H., Witzel, K. P. & Liesack, W. The ammonia monooxygenase structural gene amoA as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 4704–4712 (1997).
68. Wertz, S., Poly, F., Le Roux, X. & Degrange, V. Development and application of a PCR-DGGE tool to study the diversity of *Nitrobacter*-like nxrA sequences in soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* **63**, 261–271 (2008).
69. Graham, D. W. *et al.* Experimental demonstration of chaotic instability in biological nitrification. *ISME J.* **1**, 385–393 (2007).

70. Fish, J. A. *et al.* FunGene: the functional gene pipeline and repository. *Front. Microbiol.* **4**, 291 (2013).
71. Schloss, P. D. *et al.* Introducing mothur: open source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 7537–7541 (2009).
72. Edgar, R. C., Haas, B. J., Clemente, J. C., Quince, C. & Knight, R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics* **27**, 2194–2200 (2011).
73. Wang, Y. F. & Gu, J. D. Higher diversity of ammonia/ammonium-oxidizing prokaryotes in Constructed freshwater wetland than natural coastal marine wetland. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**, 7015–7033 (2013).
74. Kim, M., Morrison, M. & Yu, Z. Evaluation of different partial 16S rRNA gene sequence regions for phylogenetic analysis of microbiomes. *J. of Microbiol. Meth.* **84**, 81–87 (2011).
75. Walkley, A. & Black, I. A. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* **37**, 29–37 (1934).
76. Anderson, J. M. & Ingram J. I. Tropical soil biology and fertility. *A handbook of methods*. 130 pp (1996).
77. Thalmann, A. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenase Aktivität in Boden with triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsch.* **21**, 249–258 (1968).

Acknowledgements

Nitrification and mineral nitrogen analyses were performed at the AME platform of UMR 1418 in Villeurbanne. Bioinformatics were conducted on the local Linux Server of the iBio platform of UMR 1418 in Villeurbanne. We especially thank F. Poly for contributing to the quantification of the nitrification-to-ammonium responses for the temperate and south African soils, L. Simon (isotopic ecology platform, UMR LEHNA, Villeurbanne) for the measurements of the N concentration of the plant compartments, and the farmers from the villages Aheremou-2 and Pacobo for their active participation to field trials. This research project was supported by the PAES UEMOA program N°P- Z1 – IAD – 002, and INRA-EFPA funding. F. Assémien was supported by a PhD fellowship of the CAMPUS France program (AMRUGE-CI/SCAC).

Author Contributions

X.L.R. and T.J.G. designed and led the study. Field sampling and lab measurements were made by F.A. with T.J.G., and F.A. with J.G., respectively. Diversity analyses were made by T.P., F.A. and X.L.R. F.A. and X.L.R. analysed the data and wrote the first draft of the paper. All authors discussed the results and commented on the manuscript.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at doi:10.1038/s41598-017-10185-5

Competing Interests: The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2017

RESUME

En Afrique de l'Ouest, les sols de savanes humides se caractérisent par des concentrations relativement basses de matières organiques, d'azote minéral, de phosphore et de cations basiques, ce qui limite la production primaire. Ce travail a analysé comment des changements particuliers dans les utilisations des terres peuvent influencer le fonctionnement et la fertilité des sols, pour in fine soutenir la production des agroécosystèmes dans cette zone de savane. Six différents types d'utilisation des terres sur 9 parcelles expérimentales répartis à l'échelle du paysage du centre-sud de la Côte d'Ivoire ont été comparé : (i) le brûlis comme pratique traditionnelle ; (ii) la fertilisation chimique comme pratique conventionnelle ; et le mulching comme pratique innovante, testée (iii) sans insertion de légumineuses ou (iv et v) avec insertion de niébé ou soja vert dans des cycles de rotations culturales ; (vi) le sol nu était considéré comme une situation de référence (le témoin). Le sol a été prélevé dans 54 sous-parcelles, avant et 3 fois après la mise en place des traitements. Sept activités enzymatiques (activités dénitrifiante, nitrifiante, β glucosidase, N-acétyl- β -D-glucosaminidase, phosphatase acide et alcaline, déshydrogénase) du sol, les principales variables édaphiques du sol (humidité, carbone organique, azote total, pH et Phosphore assimilable), l'abondance et la diversité des communautés microbiennes impliquées dans le cycle de l'azote (archées et bactéries oxydatrices de l'ammonium ; les genres *Nitrobacter* et *Nitrospira* qui jouent un rôle clé dans la production de nitrate ; les bactéries réductrices du nitrite porteuses des gènes *nirS* ou *nirK* ; et les bactéries réductrices du N₂O porteuses de gènes *nosZI* ou *nosZII*) ont été mesurées. Les résultats ont montré que (i) le C. org, le K, le Mg et les activités enzymatiques du sol ont diminué avec la profondeur du sol, indiquant un faible taux d'accumulation d'éléments nutritifs dans les profondeurs les plus importantes du sol. Par ailleurs, les durées de jachère (0 à 10 ans) n'ont pas significativement affecté la majorité des propriétés du sol, à l'exception de l' N_{tot} et du K du sol qui étaient élevés dans les vieilles jachères. De plus, le C.org a diminué lorsque la durée de la jachère augmentait tandis que le Mg a suivi une tendance inverse ; (ii) le type d'utilisation des terres a affecté fortement la plupart des activités enzymatiques du sol et les communautés microbiennes impliquées dans le cycle de l'azote ; (iii) les pratiques de mulching pourraient avoir un impact positif sur les caractéristiques du sol et les communautés microbiennes, avec pour conséquence le renforcement de la fertilité des sols et la durabilité de la production agricole à long terme. D'après les résultats obtenus, la pratique de paillage, possiblement avec insertion de légumineuses, pourrait être plus adaptée et moins onéreuse pour augmenter progressivement et de façon durable la disponibilité en azote dans ces agroécosystèmes.

Mots clés : savanes humides, *Chromolaena odorata*, microorganismes du sol, enzymes du sol, légumineuses, paillis

Abstract

In West Africa, humid savanna soils are characterized by extremely low concentrations of organic matter, mineral nitrogen, phosphorus and basic cations, which limit primary production. We analyzed how particular changes in land-uses can influence the functioning and fertility of soils, to support the production of agroecosystems in this savanna zone. We compared six land-use types at 9 experimental plots across a landscape: traditional slash-and-burn; conventional chemical fertilization; and innovative use of mulching (tested with or without inserting legumes in the crop rotation). Bare soil was also considered as a reference situation. Soil was sampled on the 54 sub-plots, before and 3 times after treatment inception. We surveyed seven soil enzyme activities (denitrification, nitrification, β -glucosidase, N-acetyl- β -D-glucosaminidase, acid and alkaline phosphatase, dehydrogenase), key soil variables (moisture, organic C, mineral and total N, pH, and available P) and the abundances and diversity of microbial communities involved in the N cycle (archaeal and bacterial ammonia oxidizers; *Nitrobacter*; *Nitrospira*; and *nirS*-, *nirK*- and *nosZ*-like denitrifiers). Our results showed that (i) Soil Organic C, K, Mg and soil enzymes activities decreased with soil depth, reflecting a low rate of nutrient accumulation in soil depth. In contrast, fallow periods (0 to 10 years) did not significantly affect the majority of soil properties, excepted soil N_{tot} and K, which were high in old fallows. In addition, Soil Organic C decreased as a function of the fallow period, but Mg follow-up an inverse trend; (ii) the land use type strongly affects most soil enzymatic activities and the microbial communities involved in nutrient cycling; (iii) innovative mulching practices have a positive impact on soil characteristics and microbial communities, thereby maintaining the maintenance of soil fertility and the sustainability of agricultural production in the long term. According to our results, the practice of mulching, possibly with the insertion of legumes, could be more appropriate to progressively and sustainably increase nitrogen availability in these agro-ecosystems.

Keywords: humid savana, *Chromolaena odorata*, soil microorganisms, soil enzymes, leguminous, mulch